

Maria Gabriela de Lucca Oliveira

Ocorrência de Infecções de Corrente
Sanguínea por *Pichia anomala* em Hospital
Terciário de São José do Rio Preto-SP

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto para
obtenção do título de Mestre no Curso de
Pós-graduação em Ciências da Saúde,
Eixo Temático: Medicina Interna

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mara C. Lelles Nogueira

São José do Rio Preto

2015

Oliveira, Maria Gabriela de Lucca
Ocorrência de infecções de corrente sanguínea por
Pichia anomala em Hospital Terciário de São José do
Rio Preto – SP / Maria Gabriela de Lucca Oliveira
São José do Rio Preto, 2015
46p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de São
José do Rio Preto – FAMERP
Eixo Temático: Medicina Interna

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mara C. L. Nogueira
1. *Pichia anomala*; 2. Infecção de corrente
sanguínea; 3. Pediatria 4. Sensibilidade.

MARIA GABRIELA DE LUCCA OLIVEIRA

Ocorrência de Infecções de Corrente
Sanguínea por *Pichia anomala* em Hospital
Terciário de São José do Rio Preto-SP

BANCA EXAMINADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE GRAU
DE MESTRE

Presidente e Orientador: Mara C. L. Nogueira

2º Examinador: Margarete T. G. de Almeida

3º Examinador: Milena Polotto

Suplentes: Suzana A. Lobo

Maurício L. Nogueira

São José do Rio Preto, 25/03/2015.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	i
Agradecimentos	ii
Epígrafe	iii
Lista de Figuras.....	iv
Lista de Tabelas e Quadros.....	v
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	vi
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Introdução.....	1
Objetivos	8
Casuística e Método	9
1. Casuística	9
2. Metodologia	9
Resultados.....	13
Discussão	26
Conclusões.....	28
Referências Bibliográficas.....	29

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo.

Ao meu esposo e filhos pela paciência nos períodos de minha ausência.

AGRADECIMENTOS

- ✓ **À Deus**, pela força e determinação.
- ✓ À minha orientadora, **Profa. Dra. Mara C. Lelles Nogueira** pela sua orientação.
- ✓ **À Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP**, pela possibilidade de realização deste trabalho.
- ✓ Ao **Prof. Dr. Arnaldo Lopes Colombo** do Laboratório Especial de Micologia, da Universidade Federal de São Paulo, pela sua colaboração.
- ✓ Aos **funcionários da pós-graduação**, que possibilitaram e apoiaram uma melhor realização deste trabalho.

EPÍGRAFE

*“Podemos escolher o que plantar, mas somos obrigados a colher o que
semeamos”*

Provérbio Chinês

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Resultados dos testes de susceptibilidade antifúngica para as 38 cepas de <i>Pichia anomala</i> isoladas no período de outubro de 2003 a dezembro de 2004.....	22
---	----

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Dados demográficos.....	14
Tabela 2 – Dados de hospitalização.....	15
Tabela 3 – Dados clínicos dos casos.....	16
Tabela 4 – Dados dos casos neonatais.....	19
Tabela 5 – Dados de medicações concomitantes.....	20
Tabela 6 – Interpretação dos testes de susceptibilidade antifúngica.....	24

LISTA DE ABREVIADURAS E SÍMBOLOS

L – litro

% - porcentagem

HB – Hospital de Base de São José do Rio Preto

FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

µg/mL – microgramas por mililitro

M – molar

mL – mililitro

≤ - menor ou igual

≥ - maior ou igual

CIM – concentração inibitória mínima

RESUMO

Introdução: Infecções de corrente sanguínea por *Pichia anomala* são consideradas raras, e geralmente acometem pacientes imunossuprimidos admitidos em unidades de terapia intensiva. De outubro de 2003 a dezembro de 2004 foram identificados 29 casos de fungemia por *Pichia anomala* em Hospital Terciário de São José do Rio Preto – São Paulo.

Objetivo: Avaliar os aspectos clínicos e epidemiológicos dos casos de fungemia por *Pichia anomala* identificados em pacientes pediátricos desta Instituição.

Casuística e Método: Foram identificados 29 casos de infecção de corrente sanguínea por *Pichia anomala* e os mesmos foram avaliados através da revisão sistemática dos prontuários dos pacientes, sendo coletadas informações demográficas, condições clínicas básicas, medicações concomitantes, tratamentos antifúngicos anteriores. As informações clínicas sobre a evolução dos pacientes até o final da hospitalização ou óbito também foram analisadas. A identificação das leveduras e os testes de suscetibilidade aos antifúngicos pelo método da microdiluição em caldo foram realizadas no Laboratório Especial de Micologia da Universidade Federal de São Paulo.

Resultados: A incidência dos casos de fungemia por *Pichia anomala* foi de 6,46 casos por 1000 admissões. A média de idade dos pacientes foi de 1,7 anos, considerando 13 casos neonatais. A média de dias de internação foi de 12,7 dias, sendo que 25 casos (86,2%) estavam internados em unidades de terapia intensiva. Em relação aos casos neonatais, os prematuros foram a

grande maioria (81,8%) e o peso ao nascimento foi de 1788,6g. Várias outras características dos pacientes podem ser consideradas como fatores de risco para o aparecimento de fungemia por *Pichia anomala* como a estadia hospitalar prolongada, presença de doença neoplásica, cirurgia, ventilação mecânica, uso de nutrição parenteral, presença de cateter venoso central, uso de antibioticoterapia e uso de corticóides. Vinte e três pacientes (79,3%) foram tratados com antifúngicos e dezenove (65%) morreram até trinta dias após o primeiro episódio de fungemia. Não houve nenhuma cepa resistente ou com sensibilidade intermediária aos agentes testados. Foram encontradas quatorze cepas (36,8%) com sensibilidade dose-dependente ao itraconazol e uma cepa (2,6%) com sensibilidade dose-dependente a ambos, fluconazol e itraconazol.

Conclusões: Pacientes pediátricos que desenvolvem infecção de corrente sanguínea por *Pichia anomala* tem alta morbi-mortalidade.

ABSTRACT

Introduction: Bloodstream Infections caused by *Pichia anomala* are rare.

From October 2003 to December 2004, 29 cases of fungemia by *Pichia anomala* were identified in a Tertiary Hospital, Hospital de Base de São José do Rio Preto - São Paulo.

Objective: To evaluate cases of *Pichia anomala* fungemia in pediatric patients of this Institution.

Methods: 29 cases of bloodstream infections were identified by *Pichia anomala* and they were evaluated by systematically reviewing the medical patients records. There were collected demographic information, basic clinical conditions, concomitant medications, previous antifungal treatments. Clinical information on the evolution of patients by the end of hospitalization or death were also analyzed. Species identification and antifungal susceptibility tests was done in the Laboratório Especial de Micologia of the Universidade Federal de São Paulo by the broth microdilution method.

Results: The incidence of fungemia by *Pichia anomala* was 6.46 cases per 1000 admissions. The average age of the patients was 1.7 years, with 13 neonatal cases. The average length of hospital stay was 12.7 days, 25 cases (86.2%) were admitted to intensive care units. Regarding neonatal cases, premature were the vast majority (81.8%) and birth weight was 1788,6g. Several other patient characteristics may be considered as risk factors for the onset of fungemia by *Pichia anomala* as prolonged hospital stay, presence of neoplastic disease, surgery, mechanical ventilation, use of parenteral nutrition,

presence of central venous catheters, use of antibiotics and use of corticosteroids. Twenty-three patients (79.3%) were treated with antifungals and nineteen patients (65%) died within thirty days after the first episode of fungemia. There was no strain resistant or with intermediate sensitivity to agents tested. Fourteen strains (36.8%) with dose-dependent sensitivity to itraconazole and one strain (2.6%) with dose-dependent sensitivity to both fluconazole and itraconazole were found.

Conclusions: Pediatric patients who develop bloodstream infection by *Pichia anomala* has high morbidity and mortality.

INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, a incidência e a gravidade das infecções fúngicas invasivas aumentou progressivamente,^(1, 2) resultando em um alto índice de mortalidade.⁽³⁾ Neste contexto, as infecções de corrente sanguínea por diferentes espécies de *Candida* tornaram-se um importante problema em hospitais de atendimento terciário,⁽⁴⁻⁷⁾ e *Candida albicans* tem sido considerada a espécie de levedura mais frequentemente associada à infecção em humanos. Contudo, com a evolução dos métodos terapêuticos e a melhora das técnicas para detecção e identificação de leveduras, muitas outras espécies têm ganhado destaque, e sua importância clínica cresce em decorrência do risco de aumento da mortalidade e de desenvolvimento de resistência aos antifúngicos.^(5,8,9)

Neste contexto, destaca-se a levedura *Pichia anomala* (fase anamórfica da *Candida pelliculosa*),⁽¹⁰⁾ que na última década foi reconhecida como um patógeno oportunista associado a um amplo espectro de doenças invasivas, tais como infecções pulmonares,^(11,12) endocardites,⁽¹³⁾ ventriculites,⁽¹⁴⁾ infecções de trato urinário,⁽¹⁵⁾ infecções relacionadas a catéter^(16,17) e fungemia.^(14,18-27) As fungemias são os tipos de infecções mais frequentes^(10,24) e geralmente acometem recém-nascidos e crianças imunocomprometidas.⁽¹⁹⁻²⁷⁾

Pichia anomala foi inicialmente descrita por Hansen em 1891.⁽²⁶⁾ Em 2011, foi reclassificada e denominada *Wickerhamomyces anomalus* de acordo com análises filogenéticas e em métodos baseados em seqüenciamento de genes.⁽²⁸⁾ Entretanto, em estudos clínicos permanece a descrição da levedura

como *Pichia anomala*. É uma levedura ascosporângea, que pertence ao grupo dos ascomicetos, de vida livre e ocorrência ambiental. Cresce bem em meios contendo alto teor de açúcar e tem sido isolada de plantas, frutas, solo e outros materiais orgânicos. Também pode ser encontrada como parte da microbiota da pele, garganta e do aparelho digestivo.⁽²³⁻²⁶⁾

A infecção causada por *Pichia anomala* foi descrita pela primeira vez por Csillag e cols. em 1953⁽¹¹⁾ que publicou o relato de uma criança de 2,5 meses que faleceu devido à pneumonia intersticial. EM 1958, foi relatado a detecção de *Pichia anomala* nos pulmões deste paciente.⁽¹²⁾ Em 1988, Klein e cols. reportaram dois casos e revisaram seis casos da literatura relacionados à infecção em adultos por este microrganismo.⁽¹⁷⁾

O primeiro caso de fungemia por *Pichia anomala* foi descrita em neonatos por Murphy e colaboradores em 1986,⁽¹⁴⁾ em uma unidade de terapia intensiva neonatal de um Hospital Maternidade em Liverpool, cidade do condado de Merseyside, localizado no noroeste da Inglaterra, Reino Unido. Durante um período de 13 meses (junho de 1984 a julho de 1985), 52 neonatos colonizados foram identificados (10% das admissões naquela unidade) através da coleta de swabs de 526 pacientes durante o surto de fungemia. Os locais mais comuns de isolamento da levedura foram o reto (88%) e a orofaringe (84%); somente 18% dos pacientes tinham colonização de pele. O reservatório não foi encontrado. De todos os pacientes colonizados, 8 neonatos desenvolveram infecção por *Pichia anomala*, sendo que 7 apresentavam muito baixo peso (menos do que 1500g) e todos apresentavam complicações clínicas associadas à prematuridade e ao baixo peso ao nascimento. O tratamento dos

pacientes consistiu na combinação de flucitosina e anfotericina B. A taxa total de mortalidade foi de 25%.

Em 1997, no Instituto Nacional do Câncer no Rio de Janeiro, foi descrito um surto de 24 casos de infecção por *Pichia anomala*.⁽¹⁹⁾ Durante 22 meses, entre julho de 1994 a abril de 1996, *Pichia anomala* foi identificada em 90 amostras de sangue obtidas de 24 pacientes. A idade dos pacientes variou de 2 a 76 anos, com média de idade de 11 anos, e 13 casos (54,2%) ocorreram no sexo feminino. Quase todos os casos de fungemia (22 ou 91,7%) ocorreram em pacientes admitidos na unidade hematológica. O diagnóstico primário de 62,5% dos casos foi de leucemia, seguidos por linfoma (25%). Entre os pacientes acometidos, 13 (54,2%) apresentaram infecção de corrente sanguínea prévia ou concomitante causada por: *Candida parapsilosis* (4 casos), *Staphylococcus epidermidis* (4 casos), *Candida guilliermondii* (2 casos), *Enterobacter cloacae* (2 casos), *Klebsiella sp.* (2 casos) e *Trichosporon beigelii*, *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter sp.*, *Geotrichum sp.*, *Rhodotorola sp.*, *Staphylococcus aureus* (1 caso cada). Todos os indivíduos infectados eram portadores de catéter venoso central ou catéter venoso periférico e tinham sido tratados previamente com antibióticos de amplo espectro. Fatores de risco tais como o uso prévio de esteróides, quimioterapia, radioterapia e neutropenia foram observados. Antifúngicos profiláticos foram usados em 33% dos pacientes. Todas as *Pichia anomala* apresentaram sensibilidade a Anfotericina B e 5-fluocitosina. Neste estudo, 66,7% dos pacientes foram tratados com Anfotericina B, enquanto 33,3% se recuperaram sem nenhum tratamento específico. Nenhum óbito foi atribuído a infecção por

Pichia anomala durante o período do estudo. Contudo, demonstrou-se que pacientes com neoplasias são susceptíveis à infecções fúngicas e que *Pichia anomala* é um patógeno emergente em pacientes imunocomprometidos.

Em uma unidade de terapia intensiva do Hospital das Clínicas de São Paulo, entre 26 de janeiro a 4 de maio de 1998 também foi descrito um surto de fungemia por *Pichia anomala*, que acometeu 8 pacientes.⁽²⁰⁾ Os casos foram relacionados ao uso de antibióticos, catéter venoso central, nutrição parenteral total e outros procedimentos invasivos, e o surto foi controlado com medidas estabelecendo protocolos adequados para a realização destes procedimentos. Todos os pacientes foram tratados com anfotericina B e em 2 pacientes foi acrescentado flucitosina ao tratamento. As infecções de corrente sanguínea foram resolvidas em todos os pacientes e nenhum óbito ocorreu. O perfil genômico das cepas de *P. anomala* foi investigado pela análise por eletroforese em campo pulsado (Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE) e foram encontrados 3 perfis distintos, sugerindo que cepas diferentes poderiam estar colonizando as mãos de profissionais da saúde, o ambiente ou os bebês. Em 2 casos o mesmo perfil de PFGE foi identificado, sugerindo infecção cruzada ou a disseminação de uma cepa à partir da mesma fonte de infecção.

Em 2001, em um serviço pediátrico terciário na Índia,⁽²¹⁾ 379 bebês foram infectados em um período de 23 meses (de abril de 1996 a fevereiro de 1998). O surto somente foi controlado após uma campanha para melhoria de práticas de lavagem das mãos e instituição de profilaxia com nistatina-fluconazol para todos os neonatos prematuros. Os fatores de risco para infecção por *Pichia anomala* encontrados neste estudo foram baixa idade

gestacional, muito baixo peso ao nascimento (< 1.500g) e longa duração da internação hospitalar. Neste estudo, 40 cepas de *Pichia anomala*, incluindo isolados de pacientes e profissionais da saúde, foram submetidas à tipagem usando-se a técnica de “multilocus enzyme electrophoresis” e os resultados mostraram que as cepas eram idênticas, indicando que a causa provável de disseminação do fungo foi através das mãos dos profissionais da saúde.

Em 2005 foi descrito um surto ocorrido, de outubro de 2002 a janeiro de 2004, na Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica da Santa Casa Complexo Hospitalar, em Porto Alegre, Brasil.⁽²²⁾ Durante este período, 17 crianças admitidas na Unidade de Terapia Intensiva pediátrica desenvolveram fungemia por *Pichia anomala*. A idade média destas crianças foi de 1,1 anos e a principal condição de base foram malformações congênitas (35,3%), seguida por doenças neoplásicas (11,8%). A taxa de mortalidade geral foi de 41,2%. Dos 17 pacientes, 2 não receberam tratamento antifúngico, porém todos os outros 15 foram tratados com Anfotericina B. A presença de catéter venoso central foi significativamente associada à fungemia por *Pichia anomala*. A levedura não foi encontrada nas mãos dos profissionais da saúde nem no ambiente, mas os dados de tipagem molecular mostraram que o surto foi causado por uma única cepa.

Em 2006 foi publicado um relato de dois casos de recém-nascidos com infecção nosocomial por *Pichia anomala*, ocorridos na unidade de terapia intensiva do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Brasil, diagnosticados em novembro de 2004.⁽²⁶⁾ Ambas as cepas apresentaram sensibilidade aos agentes antifúngicos testados (fluconazol,

cetoconazol, anfotericina B e voriconazol). Estes dois casos tiveram sérias complicações e evoluíram a óbito apesar do tratamento utilizado, o que demonstra a seriedade desta infecção.

Em 2010, na Unidade de Terapia Intensiva pediátrica de um Hospital Universitário da Turquia, ocorreu um surto de fungemia que acometeu 4 neonatos.⁽²³⁾ A transmissão horizontal de *Pichia anomala* foi identificada. Os pacientes foram tratados e se recuperaram da infecção. Todas as cepas foram sensíveis aos antifúngicos testados, incluindo anfotericina B, flucitosina, fluconazol, miconazol, micafungina, itraconazol e voriconazol.

Em 2012 foi descrito um surto de fungemia por *Pichia anomala* em 5 pacientes internados na unidade de terapia intensiva neonatal de um Hospital Público Brasileiro de abril a setembro de 2010.⁽²⁴⁾ Todos os pacientes adquiriram a infecção após a admissão na UTI. A transmissão não perinatal nosocomial sugere que a rota de transmissão pode ser através das mãos dos profissionais da saúde, ar do ambiente hospitalar (propagação do fungo), e procedimentos invasivos como nutrição parenteral. As análises genéticas dos isolados sanguíneos sugeriram que 4 dos 5 isolados provavelmente tinham a mesma origem clonal. Quatro bebês eram prematuros, sendo que um tinha peso ao nascimento inferior a 2500g e três tinham peso ao nascimento inferior a 1500g. Todos os 5 isolados apresentaram sensibilidade a Anfotericina B, Fluconazol e anidulafungina, mas eram resistentes a voriconazol. Nos 5 casos Anfotericina e Fluconazol promoveram a recuperação dos pacientes.

Em 2013 foi reportado um surto envolvendo seis crianças na unidade de terapia intensiva neonatal do China Medical University Hospital,⁽²⁷⁾ um hospital

universitário de 1700 leitos em Taiwan. Dois pacientes apresentaram cepas que resistentes a anfotericina B. Fluconazol, voriconazol e micafungina mostraram boa atividade antifúngica, mas observou-se reduzida suscetibilidade ao itraconazol. O achado laboratorial mais precocemente encontrado foi trombocitopenia (plaquetas $< 100 \times 10^9/L$). As culturas do ambiente e das mãos dos profissionais da saúde foram negativas. Os dados de tipagem molecular mostraram que o surto foi causado por uma única cepa. O estabelecimento de medidas para a lavagem rigorosa das mãos, isolamento dos pacientes infectados, restrição de médicos e enfermeiras nos cuidados aos pacientes, uso de fluconazol profilático nos neonatos não-infectados e manejo apropriado do leite humano permitiu o controle do surto. Os pacientes foram tratados com anfotericina B e somente um dos seis pacientes morreu, perfazendo mortalidade geral de 17%.

Neste estudo, descrevemos 29 casos de infecção por *Pichia anomala* em pacientes pediátricos admitidos no Hospital de Base de São José do Rio Preto – SP (HB). Estes casos foram identificados durante a análise retrospectiva dos dados de um estudo realizado entre 2003 e 2004, para a avaliação epidemiológica de candidemia na instituição.⁽²⁹⁾ A avaliação destes casos é importante para se conhecer o perfil clínico-epidemiológico das infecções por *Pichia anomala* na instituição, e poderão ser usadas no delineamento das estratégias de prevenção e tratamento, de forma a reduzir as taxas de morbidade e mortalidade.

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Avaliar 29 casos de fungemia por *Pichia anomala* identificados em pacientes pediátricos admitidos em hospital terciário de São José do Rio Preto, São Paulo entre outubro de 2003 a dezembro de 2004.

Objetivos Específicos

- a) Avaliar a epidemiologia e os aspectos clínicos das infecções por *Pichia anomala* no Hospital de Base de São José do Rio Preto – SP (HB).
- b) Identificar o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos anfotericina, flucitosina, itraconazol, fluconazol e voriconazol apresentado pelos isolados de *Pichia anomala*.

CASUÍSTICA E MÉTODO

1. Casuística

Os casos de infecção por *Pichia anomala* foram identificados durante um estudo multicêntrico de vigilância de candidemia denominado Candidemia Brasil, do qual o Hospital de Base de São José do Rio Preto participou no período de outubro de 2003 a dezembro de 2004. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – (FAMERP) com número de protocolo 4925/2003 e parecer 129/2003 em 08 de setembro de 2003.

2. Metodologia

Cenário

Hospital de Base de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil, um hospital terciário de 712 leitos, com atendimento adulto e pediátrico, com média de 49000 admissões anuais. São José do Rio Preto é uma cidade localizada a noroeste no Estado de São Paulo (Brasil) e distante aproximadamente 440 quilômetros da Capital São Paulo.

Definição de caso

Um caso incidente de fungemia foi definido pelo primeiro isolamento de *Pichia anomala* de uma cultura de sangue de um paciente internado nesta Instituição.

Coleta de Informações clínicas e epidemiológicas

Os isolados de *Pichia anomala* relacionados aos eventos de infecção de corrente sangüínea foram coletados no período de outubro de 2003 a dezembro de 2004.

Os prontuários dos pacientes foram sistematicamente revisados sendo coletadas informações demográficas, condições clínicas básicas, medicações concomitantes, tratamentos antifúngicos anteriores, evolução e respectivos resultados, registrados num impresso padronizado de coleta de dados. As informações clínicas sobre a evolução dos pacientes até o final da hospitalização, ou óbito foram analisadas. Foram considerados dados de denominadores sobre o número total anual de hospitalizações, dias de hospitalização e número total de pacientes com culturas de sangue positivas para crescimento de microorganismos durante todo o período de estudo, e sobre os padrões de uso das drogas antifúngicas. Neonatos foram definidos como os pacientes com 28 dias de vida ou menos da data da fungemia incidente. Recém-nascidos pré-termo foram definidos como os nascidos antes de 37 semanas de gestação.

Investigação Microbiológica

O Laboratório Central do Hospital de Base de São José do Rio Preto, usou o sistema automatizado de hemocultura Bactec 9240 (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Maryland, USA) para a realização dos exames de hemocultura. Todas as espécies de leveduras recuperadas foram enviadas ao Laboratório Especial de Micologia da Universidade Federal de São Paulo para identificação das espécies e realização dos testes de

suscetibilidade antifúngica. As cepas foram identificadas de acordo com sua morfologia microscópica e por testes bioquímicos usando o ID 32C System (BioMérieux AS, Marcy l'Etoile, France).

Testes de Susceptibilidade Antifúngica

Os testes de susceptibilidade antifúngica foram realizados utilizando-se o método da microdiluição de acordo com a metodologia recomendada pelo CLSI, documento M27-A2 ⁽¹⁸⁾. Os antifúngicos foram testados nas seguintes concentrações: Anfotericina B, 0.015 a 8 µg/mL; flucitosina, 0.125 a 64 µg/mL (Sigma Chemical Corporation. St.Louis, MO); itraconazol, 0,03 a 16 µg/mL (Jansen Pharmaceutical, Titusville, NJ); fluconazol, 0.125 a 64 µg/mL; e voriconazol, 0.03 a 16 µg/mL (Pfizer Incorporated, New York, N.Y.).

O meio para o teste de susceptibilidade utilizado foi o RPMI-1640 suplementado com L-glutamina, sem bicarbonato, tamponado em pH 7,0 com ácido 0,165 M morfolinepropanesulfônico. O inóculo de suspensão de leveduras foi preparado utilizando-se um espectrofotômetro para obter uma concentração final de 0.5×10^3 a 2.5×10^3 células/mL em cada poço da microplaca.

As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Cepas com concentrações inibitórias mínimas (CIMs) ≤ 8 µg/mL para fluconazol, ≤ 0.125 µg/mL para itraconazol, ≤ 1 µg/mL para voriconazol, ≤ 4 µg/mL para flucitosina, e ≤ 1 para anfotericina B foram considerados sensíveis.

Cepas com CIMs entre 16 a 32 µg/mL para fluconazol, 0.25 e 0.5 µg/mL para itraconazol, e 2 µg/mL para voriconazol foram consideradas susceptíveis dose-dependente.

Cepas com CIMs entre 8 e 16 µg/mL para flucitosina foram consideradas intermediárias. Cepas com CIMs \geq 64 µg/mL para fluconazol, \geq 1 µg/mL para itraconazol, \geq 4 µg/mL para voriconazol, \geq 32 µg/mL para flucitosina, e \geq 2 µg/mL para anfotericina B foram consideradas resistentes.

RESULTADOS

No presente estudo foram detectados 29 casos de infecções de corrente sanguínea por *Pichia anomala*, no período de outubro de 2003 a dezembro de 2004. Esses pacientes foram avaliados quanto a informações demográficas, informações microbiológicas, condições clínicas, dados de hospitalização, dados de procedimentos médicos invasivos, dados de medicações, assim como tratamentos antifúngicos e evolução clínica até o final da hospitalização.

Incidência

No Hospital de Base de São José do Rio Preto, no período de outubro de 2003 a dezembro de 2004, o número de internações em unidades pediátricas e neonatais foi de 4491, desta forma, o total de 29 casos de fungemia por *Candida pelliculosa* mostrou incidência de 6,46 casos por 1000 admissões.

Dados Demográficos

O sexo masculino compreendeu 14 casos (48,3%), enquanto o sexo feminino compreendeu 15 (51,7%) dos 29 casos identificados.

A idade média dos pacientes foi de 1,7 anos, variando de 04 dias a 12 anos. Entre os recém-nascidos (0 a 28 dias; 13 casos), a média da idade foi 8,5 dias; entre as crianças (29 dias a 12 anos; 16 casos), a média da idade foi de 3,0 anos.

Quanto à raça, 100% eram brancos.

Tabela 1 - Dados demográficos

Sexo	
Masculino	14 (48,3%)
Feminino	15 (51,7%)
Média da idade	
	1,7 anos
RN (13 casos)	8,5 dias
29 dias a 12 anos (16 casos)	3 anos
Raça	
Branços	100%

Dados de Hospitalização

No momento do diagnóstico da fungemia, todos os pacientes estavam internados e a média de dias de internação foi de 12,7 dias, variando de 4 a 40 dias.

Vinte e cinco pacientes (86,2%) estavam internados em unidades de terapia intensiva, incluindo unidade de terapia intensiva neonatal (52%) e pediátrica (48%). Três (10,3%) estavam internados em enfermaria pediátrica e 1 (3,4%) na unidade de transplante de medula óssea.

Tabela 2 - Dados de hospitalização

Pacientes internados	29 (100%)
Média de internação prévia à fungemia	12,7 dias (4 a 40 dias)
Unidades de internação	

Unidade de Terapia Intensiva	25
UTI Neonatal	13
UTI Pediátrica	12
Enfermaria de Pediatria	3
Unidade de Transplante de	1
Medula	

Dados clínicos

Quatorze pacientes (48,3%) apresentaram pelo menos uma entre as doenças de base pesquisadas. As neoplasias malignas estavam presentes em 4 pacientes (13,8%), sendo 2 (50%) com neoplasias hematológicas malignas e 2 (50%) com neoplasias de órgãos sólidos. Dos pacientes com neoplasias hematológicas, somente um havia sido submetido há transplante de medula óssea. O total de 6 pacientes (20,7%) apresentaram doença cardíaca prévia, 2 (6,7%) doença pulmonar prévia, 4 (13,8%) doença neurológica prévia. Um paciente (3,4%) portava insuficiência renal não dialítica. Um paciente (3,4%) era portador de doença hepática

Um total de sete pacientes (24,1%) foram submetidos a procedimentos cirúrgicos nos últimos 30 dias antes da fungemia, sendo 3 (42,8%) submetidos a cirurgia cardiotorácica, 2 neurológica (28,6%), 1 abdominal (14,3) e 1 (14,3%) proctológica.

Neutropenia estava presente em apenas 1 paciente (3,4%), porém esta informação não está disponível para 2 pacientes.

Os pacientes em ventilação mecânica no momento da fungemia totalizaram 20 (69%), em um paciente a informação sobre ventilação mecânica não estava disponível. Para os pacientes que estavam recebendo ventilação mecânica no momento da fungemia, a média de dias em uso da mesma foi de 11 dias, variando de 1 a 60 dias.

Três pacientes (10,3%) estavam recebendo nutrição parenteral, não estava disponível a informação sobre nutrição parenteral naquele mesmo paciente. Um total de quinze pacientes (51,7%) portava cateter venoso central no momento da fungemia.

Sorologia para HIV não foi solicitado para nenhum paciente.

Tabela 3 - Dados clínicos dos casos

Variável	Total de casos
Pacientes com alguma doença de base	14 (48,3%)
Neoplasia maligna	4 (13,8%)
Neoplasia maligna hematológica	2 (6,9%)
Transplante de medula óssea	1 (3,4%)
Neoplasia maligna de órgão sólido	2 (6,9%)
Doença cardíaca	6 (20,7%)
Doença pulmonar	2 (6,9%)
Doença neurológica	4 (13,8%)
Insuficiência renal	1 (3,4%)
Diálise	0
Doença hepática	1 (3,4%)
Pacientes com outras características	

Cirurgia prévia	7 (24,1%)
Cirurgia cardíaco-torácica	3
Cirurgia neurológica	2
Cirurgia abdominal	1
Cirurgia proctológica	1
Neutropenia	1 (3,4%)
Ventilação mecânica	20 (69%)
Média de dias	11 dias (1 a 60 dias)
<hr/>	
Nutrição parenteral	3 (10,3%)
<hr/>	
Cateter venoso central	15 (51,7%)
<hr/>	

Dados dos casos neonatais

Entre os pacientes com 28 dias de idade ou menos, que totalizaram 13 casos, foram investigadas as variáveis descritas a seguir: tipo de parto, idade gestacional e peso ao nascimento.

Em relação ao tipo de parto, dos 13 pacientes, 10 (77%) nasceram de parto cesárea e 3 (23%) nasceram de parto vaginal.

Quanto à idade gestacional, a média desta variável foi de 32 semanas e 2 dias, variando de 24 semanas e 2 dias a 42 semanas. Não foram encontradas informações sobre a idade gestacional ao nascimento de dois neonatos. Levando em conta que a idade gestacional para nascimento a termo é considerada acima de 37 semanas, nossos casos tiveram em média bebês prematuros. Foram identificados apenas 2 neonatos (18,2%) com idade

gestacional acima de 37 semanas (um neonato de 42 semanas e um outro nascido de 39 semanas), todos os 9 outros neonatos (81,8%) tinham idade gestacional inferior a 34 semanas ao nascimento e idade gestacional mínima de 24 semanas e 2 dias.

Em relação ao peso ao nascimento, a média foi de 1788,6g, variando de 645g a 4960g. Não foram encontradas informações sobre o peso ao nascimento de dois neonatos. Foram identificados 6 recém-nascidos com peso entre 645g e 1450g (54,5%) classificados como de muito baixo peso, levando-se em conta o critério para classificação de neonatos de muito baixo peso (peso inferior a 1500g). Todos os 5 outros neonatos (45,5%) apresentaram peso entre 1800g e 4960g ao nascimento.

Tabela 4 - Dados dos Casos Neonatais

Tipo de parto	
Cesárea	10 (77%)
Vaginal	3 (23%)
Idade Gestacional Média	32 semanas e 2 dias
Pré-termo (< 37 semanas)	9 (81,8%)
Termo (> 37 semanas)	2 (18,2%)
Peso ao nascimento médio	1788,6g
Muito baixo peso (<1500g)	6 (54,5%)

Acima de 1500g	5 (45,5%)
-----------------------	------------------

Dados sobre Medicacões Concomitantes

Os antibióticos foram a medicação mais freqüente usada pelos pacientes que apresentaram fungemia. Do total de vinte e nove casos, 27 (93,1%) fizeram uso de, pelo menos 1 antibiótico nos 14 dias precedentes à fungemia. Dos pacientes que fizeram uso de antibióticos, 16 (59,2%) pacientes fizeram uso de um a dois antibióticos e dez (37%) usaram de 3 a 4 antibióticos nos 14 dias antes da fungemia, somente um paciente (3,7%) fez uso de 5 a 6 antibióticos nos 14 dias precedentes à fungemia.

Os bloqueadores H2 foram a segunda medicação mais usada por estes pacientes, ocorrendo em doze deles (41,4%); seguido pelos corticóides, administrados em 11 pacientes (38%), quimioterápicos contra o câncer, usados em três pacientes (10,3%) e imunossupressores usados em 1 caso (3,4%).

De todos os casos com fungemia, nenhum estava em uso de anti-retroviral.

Tabela 5 - Dados de medicações concomitantes

Medicação	Número de pacientes
Antibióticos	27 (93,1%)
1 a 2 antibióticos	16 (59,2%)
3 a 4 antibióticos	10 (37%)
5 a 6 antibióticos	1 (3,7%)
Bloqueador H2	12 (41,4%)

Corticoides	11 (38%)
Quimioterápicos	3 (10,3%)
Imunossupressores	1 (3,4%)

Dados de Terapia e Evolução

No momento do diagnóstico da fungemia, seis pacientes (20,7%) recebiam terapia antifúngica prévia, de caráter profilático e/ou empírico. Destes, três pacientes (50%) estavam recebendo fluconazol e três pacientes (50%) estavam recebendo anfotericina B.

O total de 23 pacientes (79,3%) recebeu terapia antifúngica como tratamento. O tratamento de escolha para a maioria dos casos foi a anfotericina B (22 casos, 95,7%), seguido pelo fluconazol (1 caso, 4,3%), sendo que este caso migrou para anfotericina B após 4 dias. O tratamento com agentes antifúngicos iniciou em média, 3,3 dias após a data da coleta da hemocultura (fungemia), e variou de 0 a 11 dias. Nenhum outro antifúngico foi usado nestes casos no período.

Seis pacientes não receberam tratamento específico para a fungemia. Um motivo para este fato foi o óbito precoce de três pacientes (um deles morreu no mesmo dia da fungemia e os outros dois morreram após 2 dias), não dando tempo para instalar a terapia antifúngica. Os outros três pacientes sobreviveram mais de trinta dias e não há descrição do motivo pelo qual não foi administrado antifúngico.

Testes de sensibilidade aos antifúngicos

O crescimento de *Pichia anomala* em uma segunda amostra de sangue colhida após o tratamento com antifúngicos foi observado para nove pacientes. Assim, os isolados foram analisados quanto ao perfil de susceptibilidade aos antifúngicos. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) de cinco antifúngicos são mostrados na Tabela 5. Nenhum isolado apresentou resistência ou sensibilidade intermediária aos agentes testados. Foram encontradas quatorze cepas (36,8%) com sensibilidade dose-dependente ao itraconazol e uma cepa (2,6%) com sensibilidade dose-dependente a ambos, Fluconazol e itraconazol.

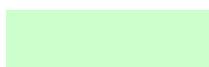
Figura 1 - Resultados dos testes de susceptibilidade antifúngica para as 38 cepas de Pichia anomala isoladas no período de outubro de 2003 a dezembro de 2004.

Número	Coleta	Anfotericina B	Fluconazol	Itraconazol	5-Flucitosina	Voriconazol
2	23/10/2003	0,25	4	0,06	0,125	0,06
2	28/10/2003	0,25	4	0,5	0,125	0,25
12	22/11/2003	0,25	8	0,06	0,125	0,125
14	24/12/2003	0,25	8	0,25	0,125	0,25
18	28/01/2004	0,25	16	0,25	0,125	0,125
18	04/02/2004	0,5	8	0,5	0,125	0,25
19	03/02/2004	0,25	8	0,25	0,125	0,125
22	22/02/2004	0,125	4	0,06	0,125	0,125
28	16/03/2004	0,25	2	0,06	0,125	0,06
28	19/03/2004	0,5	4	0,25	0,125	0,25
32	31/03/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,06
34	25/04/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,06
34	27/04/2004	0,5	4	0,5	0,125	0,25

37	02/05/2004	0,25	4	0,125	0,125	0,125
38	05/05/2004	0,5	4	0,25	0,125	0,06
42	10/06/2004	0,25	4	0,25	0,125	0,06
46	21/06/2004	0,25	0,5	0,25	0,125	0,06
46	23/06/2004	0,5	8	0,25	0,125	0,25
49	29/06/2004	0,5	4	0,25	0,125	0,125
50	30/06/2004	0,25	4	0,125	0,125	0,125
51	30/06/2004	0,25	4	0,125	0,125	0,125
53	04/07/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,06
53	06/07/2004	0,5	8	0,5	0,125	0,5
54	08/07/2004	0,25	4	0,125	0,125	0,06
55	16/07/2004	0,125	4	0,125	0,125	0,06
57	20/07/2004	1	0,125	0,03	0,125	0,03
57	03/08/2004	0,5	4	0,25	0,125	0,25
58	22/07/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,06
59	29/07/2004	0,125	8	0,06	0,125	0,25
61	09/08/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,06
61	12/08/2004	0,5	4	0,25	0,125	0,25
64	07/09/2004	1	2	0,06	0,125	0,03
65	12/09/2004	1	1	0,06	0,125	0,03
65	17/09/2004	0,5	2	0,25	0,125	0,25
66	03/10/2004	0,5	2	0,125	0,125	0,06
67	04/10/2004	0,5	1	0,125	0,125	0,03
74	23/11/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,06
75	15/12/2004	0,25	2	0,125	0,125	0,25



suscetível



sensibilidade dose-dependente

Tabela 6- Interpretação dos Testes de Susceptibilidade Antifúngica

Agente antifúngico	Variação dos CIMs (µg/mL)	Nº Sensibilidade Dose-dependente (%) (intermediária)	Nº Resistente (0%)
Anfotericina B	0,125 – 1,0	0	0
Fluconazol	0,125 – 16	0	0
Itraconazol	0,03 – 0,5	14 (36,8%)	0
Fluconazol + Itraconazol		1 (2,6%)	0
5-Flucitosina	0,125	0	0
Voriconazol	0,03 – 0,25	0	0

Evolução dos pacientes

Dos 29 pacientes que evoluíram com fungemia por crescimento de *Pichia anomala* na internação, 19 (65%) morreram até trinta dias após o primeiro episódio de fungemia.

DISCUSSÃO

Pichia anomala, levedura ascosporângea, pertencente ao grupo dos ascomicetos, de vida livre e ocorrência ambiental (isolada de plantas, frutas, solo e outros materiais orgânicos), também pode ser encontrada como parte da microbiota da pele, garganta e do aparelho digestivo,⁽²³⁻²⁶⁾ é considerada uma levedura patogênica oportunista emergente que pode causar vários tipos de infecções invasivas em humanos, principalmente em crianças e pacientes imunodeprimidos.^(10,17,23,26)

Infecções de corrente sanguínea causadas por *Pichia anomala* não são frequentes, porém é a forma de apresentação mais comum de infecção invasiva por esta levedura^(10,22,26) e somente alguns surtos foram descritos na literatura. Há descrições de surtos tanto em crianças^(19,21,22,23) como em neonatos.^(14,20,21,22,24,26,27)

A média de idade de 1,7 anos encontrada neste estudo foi baixa devido ao grande número de neonatos infectados (13 casos), sugerindo o baixo peso ao nascimento (<1500g), prematuridade e como conseqüência a necessidade de estadia em unidade de terapia intensiva, fatores de risco para a ocorrência de fungemia por *Pichia anomala*.^(14,24) Portanto, os fatores de risco acima relacionados: baixo peso ao nascimento e baixa idade gestacional podem ser caracterizados como estado imunossupressor, devido à imaturidade de seu sistema imune.

O intervalo médio de dias entre a admissão e a primeira hemocultura positiva para *Pichia anomala* foi de 12,7 dias, sendo esta estadia hospitalar

prolongada outra característica de fator de risco destes pacientes, como descrito por Chakrabarti em 2001.⁽²¹⁾ Como consequência de internações prolongadas o indivíduo terá maior possibilidade de entrar em contato com a diversidade de microbiota existente no nosocômio, além de ser submetido a vários procedimentos médicos, de enfermagem e nutricionais, invasivos ou não.

Quase a metade (48,3%) dos pacientes diagnosticados com infecção de corrente sanguínea por *Pichia anomala* tinham alguma doença de base. Sabe-se que procedimentos cirúrgicos e imunossupressão tanto por doença neoplásica⁽²⁰⁾ quanto secundária a medicações são também fatores de risco importantes para o desenvolvimento de infecções oportunistas e não é diferente para fungemia por *Pichia anomala*. Em nosso estudo, 24,1% dos pacientes tinham sido submetidos a algum procedimento cirúrgico invasivo e 13,8% estavam imunodeprimidos por doença neoplásica maligna, 38% estavam em uso de corticóide, 10,3% em uso de droga quimioterápica e 3,4% em uso de imunossupressor, o que favorece muito uma infecção oportunista, pois a imunidade tanto celular como humoral do indivíduo está comprometida.

Além destes, um importante fator de risco é o uso de catéter venoso central,⁽¹⁹⁾ por desencadear quebra da integridade da barreira cutânea, permitindo o acesso de microorganismos para o interior de vasos sanguíneos.⁽²⁰⁾ Neste estudo, mais da metade dos pacientes, 51,7% estavam em uso de algum tipo de cateter.

Outro fator associado à fungemia foi o uso de antimicrobianos, sendo que a grande maioria dos pacientes (93,1%) estava em uso de pelo menos um

antibiótico no momento da fungemia. Este é um fator predisponente para infecção por *Pichia anomala*⁽²⁶⁾ devido à eliminação da microbiota residente (caráter protetor para o indivíduo) e sua substituição por agentes oportunistas.

A respeito das cepas identificadas, os isolados apresentaram sensibilidade aos cinco antifúngicos testados (anfotericina B, fluconazol, itraconazol, 5-flucitosina e voriconazol). Nenhum isolado apresentou resistência aos agentes testados, o mesmo descrito por Pasqualotto em 2005.⁽²²⁾ Já as quinze cepas com sensibilidade dose-dependente (sensibilidade intermediária), quatorze somente ao itraconazol e uma cepa a ambos, fluconazol e itraconazol exibem propriedades de eliminação da levedura a depender da concentração do antifúngico.

Apesar da *Pichia anomala* ser considerada uma levedura oportunista, a evolução benigna dos pacientes pode ser comprometida pelo seu estado clínico debilitado e pelo tipo de doença ou condição de base. No nosso trabalho a maioria dos pacientes evoluiu a óbito até 30 dias após a primeira hemocultura positiva para *Pichia anomala*.

CONCLUSÕES

Nosso estudo mostrou que pacientes que desenvolveram infecções de corrente sanguínea por *Pichia anomala* tiveram os mesmos fatores de risco dos pacientes descritos na literatura. Nossos pacientes apresentam uma combinação de vários fatores de risco e gravidade de doença de base, ou seja, os pacientes que desenvolvem infecção de corrente sanguínea por *Pichia anomala* apresentam alta morbidade e mortalidade.

Também foi observado que o risco em desenvolver infecções de corrente sanguínea por *Pichia anomala* é muito alto entre pacientes pediátricos e recém-nascidos.

Felizmente as cepas de *Pichia anomala* foram sensíveis aos antifúngicos estudados, porém a taxa de mortalidade foi elevada devido à gravidade das doenças, condições de base e complicações que os pacientes apresentavam.

Em relação ao microrganismo, maiores investigações se fazem necessárias para conhecer melhor a epidemiologia da *Pichia anomala* e prevenir seu aparecimento como agente infeccioso nosocomial.

Em relação aos pacientes, muito já se conhece a respeito dos múltiplos fatores de risco, desta forma, deve-se utilizar medidas que os minimizem o que ajudará a prevenir a doença.

Este estudo enfatiza a necessidade de novos agentes microbianos serem considerados como infecciosos (emergentes e oportunistas), como a

Pichia anomala. Desta forma, é importante que a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar mostre a importância da lavagem de mãos e os cuidados intensivos aos indivíduos que apresentem os fatores de risco aqui descritos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almirante B, Rodriguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2005; 43:1829-35.
2. Asmundsdóttir LR, Erlendsdóttir H, Gottfredsson M. Increasing Incidence of Candidemia: Results from a 20-Year Nationwide Study in Iceland. *J Clin Microbiol* 2002; 3489-92.
3. Colombo AL, Nucci M, Salomão R, Branchini ML, Richtmann R, Derossi A, et al. High rate of non-albicans candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34:281-86.
4. Luzzati R, Amalfitano G, Lazzarini L, Soldani F, Bellino S, Solbiati M, et al. Nosocomial candidemia in non-neutropenic patients at an Italian tertiary care hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:602-07.
5. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, Eggimann P, Ruef C, Garbino J, et al. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin Infect Dis* 2004; 38:311-20.
6. Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powdserly W, et al. A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clin Infect Dis* 2003; 37:634-43.
7. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European

Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23:317-22.

8. Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JG, Spanjaard L, Vandenbroucke-Grauls CM, Verbrugh HA, et al. Occurrence of yeasts bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996; 15:909-12.
9. Garbino J, Kolarova L, Rohner P, Lew D, Pichna P, Pittet D. Secular trends of candidemia over 12 years in adult patients at a tertiary care hospital. Medicine (Baltimore) 2002; 81:425-33.
10. Matta VL, Melhem MS, Colombo AL, Moretti ML, Rodero L, Almeida GM, et al. antifungal drug susceptibility profile of *Pichia anomala* isolates from patients presenting with nosocomial fungemia. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:1573-6.
11. Csillag A, Brandstein L, Faber V, Maczo JN. On the pathogenesis of interstitial pneumonia in the newborn. Orv Hetil 1953;94(47):1303-4.
12. Wang CJ, Schwarz J. The etiology of interstitial pneumonia identification as *Hansenula anomala* of a yeast isolated from the lungs of infants. Mycopath Mycol Appl 1958; 9(4): 299-306.
13. Nohinek B, Zee-Cheng CS, Barnes WG, Dall L, Gibbs HR. Infective endocarditis of a bicuspid aortic valve caused by *Hansenula anomala*. Am J Med 1987;82:165-8.
14. Murphy N, Buchanan CR, Damjanovic V, Whitaker R, Hart CA, Cooke RW. Infection and colonization of neonates by *Hansenula anomala*. Lancet 1986; 2: 291-3.

15. Quadri SM, Al Dayel F, Strampfer MJ, Cunha BA. Urinary tract infection caused by *Hansenula anomala*. *Mycopathologia* 1988;104(2): 99-101.
16. Muñoz P, Leoni ME, Berenguer J, Quiros JC, Bouza E. Catheter-related fungemia by *Hansenula anomala*. *Arch Intern Med* 1989;149(3):709-13.
17. Klein AS, Tortora GT, Malowitz R, Greene WH. *Hansenula anomala*: A new fungal pathogen. Two case reports and a review of the literature. *Arch Intern Med* 1988;148(5):1210-3.
18. Milstoc M, Siddiqui NA. Fungemia due to *Hansenula anomala*. *N Y State J Med* 1986;86(10): 541-2.
19. Thuler LC, Faivichenco S, Velasco E, Martins CA, Nascimento RG, Castilho IA. Fungaemia caused by *Hansenula anomala* – an outbreak in a cancer hospital. *Mycoses* 1997;40:193-6.
20. Aragão PA, Oshiro IC, Manrique EI, Gomes CC, Matsuo LL, Leone C, et al. *Pichia anomala* outbreak in a nursery: exogenous source?. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:843-8.
21. Chakrabarti A, Singh K, Narang A, Singhi S, Batra R, Rao KL, et al. Outbreak of *Pichia anomala* infection in the pediatric service of a tertiary-care center in Northern India. *J Clin Microbiol.* 2001;39(5):1702-6.
22. Pasqualotto AC, Sukiennik TC, Severo LC, Amorim CS, Colombo AL. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:553-8.
23. Kalkanci A, Dizbay M, Turan O, Fidan I, Yalçın B, Hirfanoglu I, et al. Nosocomial transmission of *Candida pelliculosa* fungemia in a pediatric intensive care unit and review of the literature. *Turkish J Pediatr* 2010;52:42-9.

24. Silva CM, Parahym AM, Leão MP, Oliveira NT, Amorim RJ, Neves RP. Mycopathologia 2013;175:175-9.
25. Kalenic S, Jandrljic M, Vegar V, Zuech N, Sekulic A, Mlinaric-Missoni E. Hansenula anomala outbreak at a surgical intensive care unit: A search for risk factors. Eur J Epidemiol 2001;17:491-6.
26. Paula CR, Krebs VL, Auler ME, Ruiz LS, Matsumoto FE, Silva EH, et al. Nosocomial infection in newborns by Pichia anomala in a Brazilian intensive care unit. Med Mycol. 2006;44(5):479-84.
27. Lin HC, Lin HY, Su BH, Ho MW, Ho CM, Lee CY, et al. Reporting an outbreak of Candida pelliculosa fungemia in a neonatal intensive care unit. J Microbiol Immunol Infect 2013; 46:456-62.
28. Kurtzman CP. Phylogeny of the ascomycetous yeasts and the renaming of Pichia anomala to Wickerhamomyces anomalus. Antonie Van Leeuwenhoek 2011;99(1):13-23.
29. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér S A, Arthington-Skaggs B, Matta DA, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. J Clin Microbiol 2006; 2816-23.