

Caracterização e Identificação de Fungos Causadores de Infecções Nosocomiais em Pacientes Transplantados de Medula Óssea

Murilo dos Santos Silva¹

Maria do Rosário Rodrigues Silva²

Hildene Menezes e Silva³

Miton Camplesi Júnior⁴

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 74605-050, Brasil

murilo_silv@hotmail.com, rosario@iptsp.ufg.br

PALAVRAS-CHAVE: infecção nosocomial, fungos, transplante

1 INTRODUÇÃO

Por definição do Ministério da Saúde do Brasil (1998), infecção nosocomial (ou hospitalar) é aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares.

No Brasil, por volta da década de 1950, já se observava uma pequena demanda por um maior entendimento das infecções nosocomiais. Somente a partir da década de 1980, com a crise do setor saúde e as inúmeras denúncias veiculadas pela mídia, as infecções hospitalares ganharam maior evidência. Nesse contexto, em 1983, o governo federal realiza a primeira ação governamental efetiva para controle das infecções hospitalares (Lacerda et al. 1996).

Não apenas no Brasil, mas em outros países, as infecções hospitalares também receberam maior importância em decorrência de seu alto risco de morbidade e mortalidade (Lacerda & Egry, 1997). Nos Estados Unidos estima-se que em 2002 tenha havido 1,7 milhão de casos de infecções hospitalares, que resultaram em mais de 98 mil mortes (Klevens et al. 2007).

Revisado pelo orientador

¹ Orientando

² Orientador

³ Mestranda deste Projeto

⁴ Doutorando deste Projeto

Entre as infecções hospitalares, merecem destaque aquelas causadas por fungos, nas quais tem sido verificado um aumento considerável. Septicemia causada por *Candida* é a infecção fúngica mais freqüente em pacientes críticos e muitas vezes é indistinguível da septicemia bacteriana. Outras micoses causadas por fungos filamentosos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Scedosporium*, *Fusarium*, *Pneumocystis*, *Acremonium* ou zigomicetos também tem aumentado nestes pacientes. Atualmente, candidíase invasiva representa a quarta causa de infecção nosocomial na Europa e Estados Unidos, sendo que dependendo da casuística estudada representa o terceiro microrganismo mais isolado e sua mortalidade chegando a ser de 25-38% (Tortorano et al. 2004).

A aspergilose invasiva é observada em aproximadamente 1,25% dos pacientes ingressos em UTI's, atingindo principalmente aqueles com broncopatia crônica tratados com glicocorticóides (Garnacho-Montero et al. 2005). Em pacientes imunocomprometidos, como os transplantados de medula óssea, a aspergilose pode ser a causa de elevada taxa de mortalidade, chegando a 90% segundo Palácio et al. 2003.

Em relação ao transplante, esse é o processo de coleta e infusão de células tronco hematopoiéticas obtidas da medula óssea (transplante de medula óssea) ou sangue periférico. O uso de altas doses de quimioterapia seguida de transplante de células tronco tem sido aplicado para o tratamento de muitas doenças hematológicas, imunológicas e neoplásicas. células-tronco hematopoiéticas podem ser diretamente obtidas da medula óssea por múltiplas aspirações dos ossos pélvicos. Alternativamente, células-tronco hematopoiéticas podem ser obtidas de sangue periférico após estimulação com fatores de crescimento, seguido por leucoaférese. Quanto á origem, o transplante pode ser classificado em alogênico, quando as células-tronco são provenientes de um doador; ou autólogo, quando são infundidas células hematopoiéticas do próprio paciente.(Vose & Pavletic, 2007).

Em vista da suscetibilidade a infecções fúngicas potencialmente fatais, torna-se necessário o estudo mais detalhado destes fungos na busca de seu isolamento e identificação, além da determinação dos fatores de risco envolvidos a estes pacientes.

2 OBJETIVOS

Verificar a freqüência das principais micoses e identificar fungos causadores de infecções nos pacientes transplantados de medula óssea e portadores de transtorno hematológico grave com comprometimento imune procedentes do Hospital Araújo Jorge da

cidade de Goiânia-GO; bem como determinar os possíveis fatores de risco envolvidos nas infecções fúngicas nesses pacientes

3 METODOLOGIA

Amostras de materiais biológicos de pacientes transplantados de medula óssea ou portadores de transtorno hematológico grave com comprometimento imune, internados no Hospital Araujo Jorge em Goiânia-GO foram coletadas entre dezembro de 2008 e maio de 2011.

Dados de cada paciente com ficha de identificação, considerando informações de doença de base, uso de cateter venoso central, sexo, tipo de transplante realizado e contagem de neutrófilos na data da coleta, foram catalogados.

Todos os pacientes com diagnóstico prévio de transtorno hematológico grave com comprometimento imune ou submetidos a transplante autólogo ou alogênico de medula óssea concordaram em participar da pesquisa por meio de termo de consentimento livre e esclarecido, sendo que este trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética do Hospital Araújo Jorge, conforme protocolo número 055/08.

3.1 Coleta e Processamento

Todo material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Micologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da UFG na Cidade de Goiânia-GO, para processamento de diagnóstico micológico.

3.1.1 Sangue

As amostras de sangue foram coletadas e submetidas a cultivo segundo Telles Filho (1997). Uma quantidade de 15-20 mL de sangue periférico foi coletada com seringa heparinizada (ou com anticoagulante polianetol sulfato de sódio – SPS), e semeado em frascos de 50 mL, contendo meio bifásico: fase sólida de ágar BHI, inclinado e fase líquida de caldo BHI. Os frascos foram incubados a 30°C examinados diariamente, para verificação de crescimento do microrganismo no meio sólido ou turvação da fase líquida. Para a identificação dos fungos usou-se o crescimento em meios contendo ágar Brain Heart Infusion (BHI) e ágar Sabouraud dextrose.

3.1.2 Outras Amostras

Amostras de urina (2), lavado broncoalveolar (3) biopsia pulmonar (1), raspado de pele (3) e secreção de lesão cutânea (1) foram coletadas seguindo o padrão da ANVISA (2004) e enviadas ao laboratório de Micologia por no máximo 2h após a sua colheita para seu processamento.

A urina, secreções e fluídos corporais, foram concentrados por centrifugação a 1500 a 2000 rpm por 10 minutos e o sedimento obtido foi usado para cultivo em meio de ágar Sabouraud dextrose, mantido a temperatura ambiente e a 37°C. Raspado de pele e de biopsia foram submetidos ao exame microscópico direto com hidróxido de potássio a 20% e cultivados em meios de agar Sabouraud dextrose e agar BHI mantidos a temperatura ambiente e a 37°C. Amostras de novos materiais clínicos do mesmo paciente foram novamente cultivados após 7 dias da primeira coleta.

3.2 Identificação de Espécies *Candida* spp.

As colônias úmidas, cremosas de coloração branca amarelada características de leveduras foram identificadas segundo Kurtzman & Fell, 1998

3.2.1 Teste de Reynold Braude

A produção de tubo germinativo foi realizada adicionando-se uma pequena quantidade de colônia da levedura em 0,5mL de soro fetal bovino, incubada à 37°C por até 3 horas.

3.2.2 Produção de Clamidoconídios

As leveduras crescidas em agar Sabouraud dextrose foram semeadas em ágar cormmeal (Merck) acrescido de tween 80 (1,2%) distribuído em lâminas em um volume de 3 ml. As colônias foram inoculadas através de estrias e recobertas com lamínula. A leitura foi realizada após 5 dias, com incubação a temperatura ambiente.

3.2.3 Auxanograma

A assimilação de hidratos de carbono foi realizada em meio de YNB usando-se os seguintes açúcares: maltose, sacarose, glicose, galactose, lactose, rafinose e celobiose. As colônias de leveduras isoladas foram suspensas em solução fisiológica a 0,85%, correspondentes a escala McFarland nº 5, colocadas em placas de Petri e em seguida, vertidos 18mL de ágar Yeast Nitrogen Base. Após solidificação do meio na placa, foram distribuídos os açúcares em pontos equidistantes com incubação a temperatura ambiente por 48 a 72 horas.

3.3 Identificação de Fungos Filamentosos.

Os fungos filamentosos foram identificados através de características macroscópicas e microscópicas das colônias. Quando não possível a sua identificação realizava-se a técnica de microcultivo em lâmina que foi feita semeando-se uma pequena quantidade de ágar batata dextrose, o qual permitiu o desenvolvimento dos elementos de frutificação assexuada, permitindo a identificação destes microrganismos filamentosos.

4 RESULTADOS

No período proposto foram coletadas amostras de 100 pacientes, sendo 54 do gênero masculino e 46 do gênero feminino.

4.1 Isolados

Dos 100 pacientes estudados, verificou-se o isolamento de fungos em 22 pacientes, sendo isolados 18 fungos filamentosos e 7 leveduras do gênero *Candida*. (Em 3 pacientes houve o isolamento de mais de um fungo). A tabela 1 mostra as diferentes espécies identificadas.

Tabela 1. Isolamento de fungos em amostras de sangue e outros materiais clínicos obtidos de 100 pacientes

Espécie	Sangue (n)	Outras Amostras Clínicas (n)
<i>Candida sp</i>	1	
<i>Candida parapsilosis</i>	3	

<i>Candida albicans</i>	1	1
<i>Candida tropicalis</i>	1	
<i>Aspergillus sp.</i>	4	1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5	
<i>Aspergillus flavus</i>	3	
<i>Acremonium sp</i>	1	
<i>Cladosporium sp</i>	1	
<i>Fusarium sp</i>		2
<i>Scytalidium dimidiatum</i>		1
Total	20	5

4.2 Patologias de Base

Dentre os 100 pacientes estudados, as patologias mais frequentes foram: leucemias, linfomas e mieloma múltiplo, representando 77% dos casos. Outras patologia hematológicas foram observadas em 6 pacientes e em 17 casos não foi especificado transtorno hematológico (Tabela 2)

Tabela 2. Transtornos hematológicos e número de casos.

Patologia de Base	Número de Casos
LMA	19
LMC	3
LLA	14
LH	14
LNH	14
MM	13
AM	2
AA	2
SMD	1
HPN	1
NE	17

LMA: leucemia mielóide aguda; LMC: leucemia mielóide crônica; LLA: leucemia linfóide aguda; LH: linfoma de Hodgkin; LNH: linfoma não Hodgkin; MM: mieloma múltiplo; AM: aplasia de medula; AA: anemia aplástica; SMD: síndrome mielodisplásica; HPN:

4.3 Uso de Cateter Venoso Central

76 pacientes estavam em uso de cateter venoso central quando ocorreu a coleta do material biológico.

4.4 Transplante de Medula Óssea

Em 70% dos casos, a coleta do material se deu após a realização de algum tipo de transplante. Os mais frequentes foram os tipos autólogo de células progenitoras de sangue periférico (25 casos) e alogênico de células progenitoras de sangue periférico (22 casos). Outros tipos menos frequentes foram os do tipo autólogo e alogênico de medula óssea (Tabela 3)

Tabela 3. Tipos de Transplantes de Medula Óssea

Tipo	Numero de casos
Alo CPSP	22
Alo MO	10
Auto CPSP	25
Auto MO	11
Auto CPSP/MO	2

Alo: alogênico; Auto: autólogo; CPSP: células progenitoras de sangue periférico; MO: medula óssea.

4.5 Neutropenia

64 pacientes tinham exame de hemograma com contagem de neutrófilos inferior a 1500/dl quando ocorreu a coleta da amostra.

5 DISCUSSÃO

Infecções hospitalares representam uma causa importante de morbidade e mortalidade em pacientes portadores de câncer em razão da maior suscetibilidade desses pacientes (Gopal

Katherason et al. 2010). Os tipos mais frequentes são as infecções do trato urinário, sítio cirúrgico, corrente sanguínea e trato respiratório; sendo as duas primeiras as mais frequentes na população em geral e as demais em ordem variável de incidência a depender da fonte pesquisada (WHO 2009, Mathai et al. 2010). Os fatores de risco mais citados incluem uso de equipamentos invasivos (como cateter venoso central, sonda vesical e tubos de ventilação), imunossupressão, internação em unidades de terapia intensiva por longos períodos e uso de antibióticos (WHO 2009, Gopal Katherason et al. 2010). Para os pacientes com câncer hematológico, merece destaque a neutropenia por tempo prolongado, intensificação dos protocolos de quimioterapia e o transplante de medula óssea, principalmente os do tipo alogênico (Palácio et al. 2003, Badiee & Alborzi 2010, Gómez et al 2010, Sayed et al. 2009).

Em nosso trabalho, dos 100 pacientes estudados, 76 fizeram uso de cateter venoso central, 70 foram submetidos a algum tipo de transplante (32 deles do tipo alogênico) e, obrigatoriamente, a algum tipo de protocolo quimioterápico, e 64 possuíam comprovação laboratorial de baixa contagem de neutrófilos; o que chama atenção para a importância do controle rigoroso das medidas de combate à infecção hospitalar nessa população.

Os patógenos mais frequentemente isolados em amostras de sangue de pacientes internados são bactérias, com espécies de maior incidência variando de acordo com características da população estudada. Entre as infecções fúngicas, destacam-se pela maior incidência aquelas causada por espécies do gênero *Candida*, principalmente *Candida albicans* (Lee et al 2010, Olaechea et al 2011, Dogru et al. 2010, Taneja et al. 2010, Prabhash et al. 2010). Em pacientes portadores de transtorno hematológico grave, no entanto, a maior incidência de fungemia se deve às infecções por *Aspergillus spp.*, principalmente *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus* (Marques et al. 2011, Tuon 2007, Palácio et al. 2003, Badiee & Alborzi 2010, Sayed et al. 2009). Fungos emergentes entre populações de imunocomprometidos têm sido relatados. Os mais citados são *Fusarium spp.*, *Acremonium spp.*, *Mucorales spp.* e espécies de demáceos (como as pertencentes aos gêneros *Cladosporium*, *Exophiala* e *Phialophora*), os quais estão, geralmente associados a um pior prognóstico (Álvez et al. 2010, Marques et al. 2011). *Scytalidium dimidiatum* é responsável por um tipo de dermatomicose rara que pode afetar pele e unhas, podendo se apresentar sob forma invasiva. Alguns relatos de caso fazem sua associação com quadros de imunossupressão. Porém são poucos os trabalhos que tratam da infecção por *Scytalidium*, sendo reduzidas as informações a seu respeito (Xavier et al. 2010, Marriott et al. 1997, Dunn et al. 2003). Dentre os 100 pacientes estudados neste trabalho, 22 apresentaram algum tipo de infecção fúngica, em três deles houve o isolamento de mais de uma espécie. A maior

incidência de fungos filamentosos com predominância de *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus* reproduz os achados da literatura.

Dependendo da presença de fatores de risco, as taxas de infecção por fungos oportunistas está entre 10 e 25%, com letalidade variando de 35 a 50% dos casos de candidíases invasiva e de 65 a 90% para aspergilose invasiva e outros fungos filamentosos (Groll et al. 2010).

Entre as leveduras isoladas dos 100 pacientes estudados, verificou-se que *C. parapsilosis* foi identificada em três isolados, *C. albicans* em dois e *C. tropicalis* em um, mostrando que houve nos últimos anos uma inversão de etiologia de candidíase. Espécies não-*albicans*, têm sido responsáveis por um aumento progressivo do número de casos de fungemia em portadores de malignidade hematológica ou transplantados de medula óssea, especialmente *Candida parapsilosis* (Sipsas et al. 2009).

6 CONCLUSÃO

Infecções nosocomiais representam um importante problema de saúde, sobretudo em pacientes com comprometimento imunológico. Em transplantados de medula óssea e portadores de doença hematológica grave isso se torna ainda mais evidente em razão do grande número de fatores de risco associados. Nessa população, as infecções fúngicas ganham destaque pela alta letalidade.

A epidemiologia dos quadros de micoses oportunistas identificadas em pacientes transplantados foi semelhante aos encontrados em outros trabalhos, com predomínio de fungos do gênero *Aspergillus* seguido por espécies de *Candida*.

7 REFERÊNCIAS

ÁLVEZ, F.; FIGUERAS, C.; ROSELLO, E. Infecciones Fúngicas Invasivas Emergentes. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v.73 n.1, p.52-52, 2010.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e identificação dos Fungos de importância Médica.

BADIEE, P.; ALBORZI, A. Detection of *Aspergillus* species in bone marrow transplant patients. **Journal of Infection in Developing Countries**, Itália, v.4, n.8, p.511-516, 2010.

BRASIL. Portaria nº 2616, de 12 de maio de 1998. **Diário Oficial da União**, Ministério da Saúde, Brasília, DF, 14 de maio de 1998, p.133-135.

DOGRU, A.; SARGIN, F.; CELIK, M.; SAGIROGLU, A.E.; GOKSEL, M.M.; SAYHAN, H. The Rate of Device-Associated Nosocomial Infections in a Medical Surgical Intensive Care Unit of a Training and Research Hospital in Turkey: One-Year Outcomes. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, Japão, v.63, p.95-98, 2010.

DUNN, J.J.; WOLFE, M.J.; TRACHTENBERG, J.; KRIESEL, J.D.; ORLANDI, R.R.; CARROLL, K.C. Invasive Fungal Sinusitis Caused by *Scytalidium dimidiatum* in a Lung Transplant Recipient. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v.41, n.12, p.5817-5819, 2003.

GARNACHO-MONTERO, J.; AMAYA-VILLAR, R.; ORTIZ-LEYBA, C.; LEON, C.; ALVAREZ- LERMA, F.; NOLLA-SALAS, J.; IRURETAGOYENA, J.R.; BARCENILLA, F. Isolation of *Aspergillus* spp. from the Respiratory Tract in Critically Ill Patients: Risk Factors, Clinical Presentation and Outcome. **Critical Care**, Lôndres, v.9, n3, p. 191-199, 2005.

GÓMEZ, J.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E.; HERNÁNDEZ, A.; ESPINOSA, C.; RUIZ, J. Candidemias Nosocomiales: Nuevos Retos de um Problema Emergente. **Revista Española de Quimioterapia**, Espanha, v.23, n4, p.158-168, 2010.

GOPAL KATHERASON, S.; NAING, L.; JAALAM, K.; KAMARUL IMRAN MUSA, K.; NIK ABDULLAH, N.M.; AIYAR, S.; BHOJWANI, K.; HARUSSANI, N.; ABDUL RAHMAN, A.; ISMAIL, A. Prospective surveillance of nosocomial device-associated bacteremia in three adult intensive units in Malaysia. **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, v.27 n.2, p. 308–316, 2010.

GROLL, A.H.; SILLING, G.; YOUNG, C.; SCHWERDTFEGER, R.; HELMUT OSTERMANN, H.; HEINZ, W.J.; GERSS, J.; KOLVE, H.; LANVERS-KAMINSKY, C.; PINHEIRO, J.P.V.; GAMMELIN, S.; CORNELLY, O.A.; WUERTHWEIN, G. Randomized Comparison of Safety and Pharmacokinetics of Caspofungin, Liposomal Amphotericin B, and

the Combination of Both in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Recipients. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington DC, v.54, n.10, p. 4143–4149, 2010.

KLEVENS, R.M.; EDWARDS, J.R.; RICHARDS, C.L.; HORAN, T.C.; GAYNES, R.P.; POLLOCK, D.A.; CARDO, D.M. Estimating Health Care-Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals, 2002. **Public Health Reports**, Estados Unidos, v.122, p.160-166, mar-abr. 2007.

KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. **The Yeast's: a Taxonomic Study**, 4th Ed. Elsevier, New York, 1998. p. 919-925

LACERDA, R.A.; EGRY, E.Y. As infecções hospitalares e sua relação com o desenvolvimento da assistência hospitalar: reflexões para análise de suas práticas atuais de controle. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 5, n. 4, 1997.

LACERDA, R.A.; JOUCLAS, V.M.G.; EGRY, E.Y. Infecções hospitalares no Brasil. Ações governamentais para o seu controle enquanto expressão de políticas sociais na área de saúde. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v.30, n.1, p.93-115, 1996.

LEE, M. C.; SAXINGER, L.; FORGIE, S.E.; TAYLOR, G. Trends in Nosocomial Bloodstream Infections Following Health Care Restructuring in Alberta Between 1999 and 2005. **The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, Oakville, v.21, n.1, p.1-5, 2010.

MARQUES, D.S.; VAZ, C.P.; BRANCA, R.; CAMPILHO, F.; LAMELAS, C.; AFONSO, L.P.; JACOME, M.; BREDA, E.; MONTEIRO, E.; CAMPOS JÚNIOR, A. Rhizomucor and Scedosporium Infection Post Hematopoietic Stem-Cell Transplant. **Case Reports in Medicine**, Cairo, v.2011, p.1-6, 2011.

MARRIOTT, D.J.E.; WONG, K. H.; AZNAR, E.; HARKNESS, J.L.; COOPER, D.A.; MUIR, D. *Scytalidium dimidiatum* and *Lecythophora hoffmannii*: Unusual Causes of Fungal Infections in a Patient with AIDS. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v.35, n.11, p.2949-2952, 1997.

MATHAI, E.; ALLEGRANZI, B.; KILPATRICK, C.; PITTET, D. Prevention and control of health care-associated infections through improved hand hygiene. **Indian Journal of Medical Microbiology**, India, v.28 n.2, p.100-106, 2010.

OLAECHEA, P.M.; ÁLVAREZ-LERMA, F.; PALOMAR, M.; INSAUSTI, J; LÓPEZ-PUEYO, M.J.; MARTÍNEZ-PELLÚS, A.; CANTÓNG, M.L. Impacto de la Bacteriemia Primaria y Relacionada con Cateter Intravascular Causada por Staphylococcus Coagulasa Negativo en Pacientes Críticos. **Medicina Intensiva**. Espanha, v.35, n.4, p.217-225, 2011.

PALÁCIO, M.; CUÉTARA, M.S.; PONTÓN, J. El diagnóstico de laboratorio de La aspergilosis invasora. **Revista Iberoamericana de Micología**, Bilbao, v.20, n.2, p.90-98, 2003.

PRABHASH, K.; MEDHEKAR, A.; GHADYALPATIL, N.; NORONHA, V.; BISWAS, S.; KURKURE, P.; NAIR, R.; KELKAR, R. Blood Stream Infections in Cancer Patients: A Single Center Experience of Isolates and Sensitivity Pattern. **Indian Journal of Cancer**, India, v.47, n.2, p.184-188, 2010.

SAYED, H.A.; EL-MAHALLAWY, H.A.; KADDAH, A.M.; ISMAEL, H.T.; TALAAT, S.M. Profile of Infections in Newly Diagnosed Patients with Acute Leukemia During the Induction Phase of Treatment. **Journal of the Egyptian National Cancer Institute**, Cairo, v.21, n.4, p.315-322, 2009.

SIPSAS, N.V.; LEWIS, R.E.; TARRAND, J.; HACHEM, R.; ROLSTON, K.V.; RAAD, I.I.; KONTOYIANNIS, D.P. Candidemia in Patients With Hematologic Malignancies in the Era of New Antifungal Agents (2001-2007). **Cancer**, Hoboken, v. 115, n.20, p.4745-4752, 2009.

TANEJA, J.; MISHRA, B.; THAKUR, A.; DOGRA, V.; LOOMBA, P. Nosocomial blood-stream infections from extended-spectrum-beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumonia from GB Pant Hospital, New Delhi. **Journal of Infection in Developing Countries**, Itália, v.4, n.8, p.517-520, 2010.

TELLES FILHO FQ. Infecções causadas por fungos. In: Rodrigues EAC. **Infecções Hospitalares, Prevenção e Controle**, Sarvier. 6:639-40, 1997.

TORTORANO, A.M.; PEMAN, J.; BERNHARDT, H. Epidemiology of candidemia in Europe: results of 28 month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-Based Surveillance Study. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Berlin, v.23, n.4, p.317-22. 2004.

TUON, F.F. A Systematic Literature Review on the Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using Polymerase Chain Reaction (PCR) from Bronchoalveolar Lavage Clinical Samples. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Espanha, v.24, n.2, p.89-94, 2007.

VOSE, J.M.; PAVLETIC, S.Z. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: **Cecil Medicine**, 23rd Ed. Saunders, Philadelphia, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **First Global Patient Safety Challenge - Clean Care is Safer Care**, Genebra, p.14-15, 2009.

XAVIER, A.P.M.; OLIVEIRA, J.C.; RIBEIRO, V.L.S.; SOUZA, M.A.J. Epidemiological Aspects of Patients with Ungual and Cutaneous Lesions Caused by *Scytalidium spp.* **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Brasil, v.85, n.6, p.805-10, 2010.