VOLUME 6
01/RPDI
Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas
Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica
Janeiro > Abril 2010
ISSN 1646-3633

Prevalência da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em profissionais de saúde – caso do Hospital de Aveiro

/14



/07 Caracterização genética da nova variante do vírus influenza A(H1N1) 2009 em circulação em Portugal

/23 Sífilis Congénita

/31 Doença Pneumocócica invasiva e resistência à penicilina e Cefotaxime

/38 Doença da arranhadela do gato – um diagnóstico a ter em conta

www.spdi.org
Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica

RPDI

Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas

Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica

Volume 6, N.º 1, Janeiro > Abril de 2010 | Publicação Quadrimestral | 3.ª Série

Ficha Técnica

/ Propriedade, Edição e Publicidade
Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica
Largo Fernandes Costa, 5 Cave, Dta
1700-187 Lisboa
Tel. / Fax: 217 950 462
E-mail: spdimc@gmail.com

/ Director
Prof. Doutor António Meliço-Silvestre

/ Paginação
Menta Design

/ Revisão
Dra. Ângela Barroqueiro

/ Impressão
Papelmunde – SMG, Lda

/ Créditos fotográficos

/ Depósito legal
246017/06

/ Tiragem
1000 exemplares

/ Distribuição
CTT

/ Número Avulso
8,75 euros

/ Assinatura Anual
Portugal – 25 euros
Outros países – 45 euros

/ ISSN 1646-3633

A revista Portuguesa de Doenças Infecciosas é uma revista médica quadrimestral (publicam-se os números de: Janeiro/Abril, Maio/Agosto e Setembro/Dezembro) excluída do registo no ICS de acordo com a alínea a) do art. 12.º do DR n.º8/99 de Junho de 1999.

Reservados todos os direitos, de acordo com a lei.
Copyright SPDI.

Corpos Sociais da SPDIMC

/ Direcção
Presidente - Prof. Dr. Kamal Mansinho
Vice-Presidente - Prof. Doutora Teresa Marques
Secretário - Dr. Fernando Maltez
Tesoureiro - Dr. Fernando Borges
Vogal - Prof. Doutor Francisco Antunes

/ Assembleia-Geral
Presidente - Prof. Doutor Henrique Lecour
Vice-Presidente - Dra. Helena Coelho
Secretário - Dra. Valquíria Alves

/ Conselho Fiscal
Presidente - Prof. Doutor António Meliço-Silvestre
Vice-Presidente - Prof. Doutor Saraiva da Cunha
Vogal - Dra. Maria da Graça Carvalho Ribeiro

Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas

/ Director
Prof. Doutor António Meliço-Silvestre

/ Director Honorário
Prof. Doutor Carvalho Araújo

/ Editor
Prof. Doutor Saraiva da Cunha

/ Conselho Científico
Prof. Doutor António Sarmento
Prof. Doutora Cidália Pina Vaz
Dr. Fernando Maltez
Prof. Doutor Francisco Antunes
Dr. Germano do Carmo
Prof. Dra. Helena Ramos
Prof. Doutor Henrique Lecour
Prof. Dr. Kamal Mansinho
Prof. Doutor Rui Sarmento e Castro
Prof. Doutora Teresa Marques

/ Comissão de Honra Nacional
Dr. Abílio Morgado (Lisboa)
Dr. Alves Pereira (Porto)
Dr. A. Rocha Marques (Porto)
Dr. António Vieira (Coimbra)
Dr. António Malhado (Lisboa)
Prof. Doutor A. Torres Pereira (Lisboa)
Prof. Doutor Armando Porto (Coimbra)
Prof. Doutor Armindo Filipe (Lisboa)
Dr. Carlos Araújo (Lisboa)
Prof. Doutor Cerqueira Magro (Porto)
Prof. Doutor David Morais (Évora)
Prof. Dr. J. Mello Vieira (Lisboa)
Prof. Doutor Melo Cristino (Lisboa)
Dr. Jorge Nóbrega Araújo (Funchal)
Dr. José Poças (Setúbal)
Dr. José Neves (Lisboa)
Dra. Leonor Carvalho (Lisboa)
Dr. Nogueira de Lemos (Coimbra)
Dra. Maria João Águas (Almada)
Prof. Doutor Mota Miranda (Porto)
Dr. Pita Groz Dias (Lisboa)
Dr. Rui Côrte-Real (Coimbra)
Dr. Rui Proença (Lisboa)

/ Comissão de Honra Internacional
Prof. Dr. André Villela Lomar (Brasil)
Prof. Dr. Evelio Perea (Espanha)
Prof. Dr. J. Pedreira Andrade (Espanha)
Prof. Dr. José Ángel García-Rodríguez (Espanha)
Prof. Dr. José Prieto (Espanha)
Prof. Dr. Juan Gestal Otero (Espanha)
Prof. Dr. Juan González-Lahoz (Espanha)
Prof. Dr. Juan Picazo (Espanha)
Prof. Dr. Luis Enrique Morano Amado (Espanha)
Prof. Dr. Roberto Focaccia (Brasil)
Prof. Dr. Rogério Pedro (Brasil)
Prof. Dr. Sérgio Cimerman (Brasil)
Prof. Dr. Vicent Soriano (Espanha)

ÍNDICE / *INDEX*

03/RPDI
Janeiro > Abril de 2010 / Vol. 6 > N.º 1



EDITORIAL / *EDITORIAL*

05 / António Sarmento

ARTIGOS ORIGINAIS / *ORIGINALS ARTICLES*

07 Caracterização genética da nova variante do vírus influenza A(H1N1) 2009 em circulação em Portugal: resultados preliminares
/ L. A. Santos / V. Correia / S. Pedro / E. Alverca / M. M. Santos / M. J. Silvestre / H. Rebelo-de-Andrade

14 Prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em profissionais de saúde – caso do Hospital de Aveiro
/ H. S. F. Silva / E. Ramalheira / M. I. P. de Sousa / B. M. P. Duarte

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

23 Sífilis Congénita
/ M. Ferreira / P. Janeiro / T. Aguiar / R. Barroso / M. J. Brito

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

31 Doença Pneumocócica invasiva e resistência à penicilina e Cefotaxime
/ G. Carvalheiras / D. Anjo / V. Dias / R. Sousa / T. Mendonça / F. Farinha

38 Doença da arranhadela do gato – um diagnóstico a ter em conta
/ M. Diogo / H. Fernandes / T. Pimentel / A. Ferreira / E. Serra

INFORMAÇÃO AOS LEITORES / *INFORMATION TO THE READERS*

43 Informação da Sociedade Ibero-Americana de Infecciologia (SIAI)

44 Agenda / *Notebook*

45 Fórum

46 Checklist

EDITORIAL / *EDITORIAL*



/ Prof. Doutor António Sarmento

Presidente do Colégio da Especialidade de Doenças Infecciosas da Ordem dos Médicos

Começo por agradecer ao Editor da Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas, o Professor Saraiva da Cunha, a oportunidade que deu à Direcção do Colégio de Doenças Infecciosas da Ordem dos Médicos de novamente se dirigir a todos os Colegas, através da nossa tão querida Revista.

Não era nossa intenção permanecer na Direcção do Colégio para além do mandato de três anos para o qual fomos eleitos. A razão para não continuarmos não era falta de motivação, cansaço ou indisponibilidade por qualquer outro motivo, mas apenas por entendermos que deve haver uma alternância, ao fim de cada três anos, na constituição da Direcção do Colégio.

Nesse sentido, abordamos outros Colegas, propondo-lhes que formalizassem uma candidatura. Por motivos alheios à nossa vontade, esta não se concretizou. Coerentemente, não nos candidatamos a novo mandato.

Não tendo surgido nenhuma lista, a actual Direcção foi nomeada pelo Senhor Bastonário da Ordem dos Médicos.

Apesar destas circunstâncias particulares, partimos para um novo mandato com a mesma motivação com que começámos o primeiro.

O novo regulamento do Colégio por nós elaborado e aprovado pelo CNE, permitiu alargar a idoneidade formativa na Especialidade de Doenças Infecciosas a mais hospitais que, embora não apresentassem os Serviços clássicos de Doenças Infecciosas, dispunham de pelo menos três Infecciologistas com provas dadas de um trabalho com grande valor. Assim há, presentemente, em Portugal, dez hospitais com idoneidade para formação de especialistas em Doenças Infecciosas, o que é, para a nossa especialidade, muito estimulante. A curto prazo, esta nova realidade, permitirá que mais Infecciologistas possam ser colocados em hospitais fora dos grandes centros, permitindo melhores cuidados na área da Infecciologia e um maior desenvolvimento e afirmação da nossa especialidade.

Tivemos, muito recentemente, a informação oficial, vinda do Senhor Bastonário da Ordem dos Médicos, que o novo programa de formação na especialidade, por nós elaborado há mais de dois anos foi, finalmente, enviado para publicação em Diário da República.

Temos, também, tido a preocupação de que os júris de exame das duas épocas, em cada ano, sejam praticamente os mesmos, variando o Presidente, pois este deverá ser o Director do Serviço onde se realizam as provas. A escolha deste local, não é uma atribuição da Direcção do Colégio.

Temos pela frente um novo desafio: a elaboração de uma proposta de grelha para avaliação no exame final do internato. Se o conseguirmos fazer, os internos passarão a ter muito maior facilidade na organização do seu currículo.

Terminamos este Editorial manifestando a nossa satisfação pelo facto de constatarmos a virtual ausência de queixas dirigidas à Ordem, envolvendo Médicos Infecciologistas.
A conflitualidade é prejudicial a todos: doentes e médicos. No que estiver ao nosso alcance, tudo faremos para manter este clima de paz em que, felizmente, temos vivido.

ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Caracterização genética da nova variante pandémica do vírus influenza A(H1N1) 2009 em circulação em Portugal: resultados preliminares

Genetic characterization of the new pandemic influenza virus A(H1N1) 2009 variant in Portugal: preliminary results

/ L. A. Santos[1] / V. Correia[1]
/ S. Pedro[2] / E. Alverca[3] / M. M. Santos[4]
/ M. J. Silvestre[4] / H. Rebelo-de-Andrade[1, 5]

[1] Laboratório Nacional de Referência de Resistência aos Antimicrobianos e Unidade de Investigação e Desenvolvimento, Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
[2] Unidade de Tecnologia e Inovação, Departamento de Genética, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
[3] Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia, Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
[4] Serviço de Patologia Clínica, Virologia/Biologia Molecular, Hospital de Curry Cabral
[5] SCPM-URIA, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Patrocínios:

Trabalho desenvolvido no âmbito dos projectos financiados pela Fundação Calouste Gulbenkian *Vigilância e monitorização da susceptibilidade aos antivirais específicos para a gripe e Avaliação e caracterização da emergência das resistências aos antivirais específicos para a gripe no contexto da infecção respiratória aguda*, o primeiro submetido e aprovado pela comissão de ética e o segundo submetido para aprovação.

Correspondência:

Professora Doutora Helena Rebelo-de-Andrade
Laboratório Nacional de Referência de Resistência aos Antimicrobianos e Unidade de Investigação e Desenvolvimento, Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
Av. Padre Cruz
1649-016 Lisboa
Portugal

Telefone: +351 217508159
e-mails: h.rebelo.andrade@insa.min-saude.pt
hlnrebelodeandrade@gmail.com

/ Resumo

Introdução: Os vírus influenza são caracterizados por uma contínua variação antigénica e, consequentemente, por uma rápida evolução molecular. Esta evolução é consequência de mutações e/ou rearranjo dos segmentos no genoma viral e contribui para a emergência de novas estirpes com diferente patogenicidade, virulência e perfil antivírico.
Objectivos: Descrever a morfologia e caracterizar o perfil genético de vírus influenza da nova variante A(H1N1) circulantes no nosso país.
Métodos: Estirpes da nova variante do vírus influenza A(H1N1) foram caracterizadas morfologicamente por microscopia electrónica de transmissão, e geneticamente por sequenciação, análise de mutações e análise filogenética.
Resultados: Foram detectadas as mutações P100S, S220T e I338V na hemaglutinina, as mutações V106I e N248D na neuraminidase e duas mutações sinónimas no gene da matriz, comparativamente com a sequência da estirpe vacinal A/California/07/2009.
Discussão: As mutações identificadas classificam as estirpes no cluster 2 definido por Fereidouni *et. al.*, 2009 (estirpe vacinal incluída no cluster 1). No gene da hemaglutinina, foram identificadas mutações em sítios antigénicos, num local de ligação aos receptores celulares, e uma mutação provavelmente associada a um novo local de N-glicosilação. As estirpes apresentam um perfil antivírico resistente aos inibidores da proteína M2. O perfil para os inibidores da neuraminidase só poderá ser determinado em associação com a informação dos estudos fenotípicos em curso no nosso grupo de investigação.

Palavras-chave: Vírus influenza A(H1N1)v, caracterização genética, pandemia de gripe

/ Abstract

Introduction: Influenza viruses are characterised by a continuous antigenic variation which is reflected in a rapid molecular evolution. This evolution is a consequence of mutations and/or reassortments of the viral genome segments and contributes for the emergence of new strains of different pathogenicity, virulence and antiviral drug profile.

Objectives: Describe the morphology and characterise the genetic profile of the new influenza A(H1N1)v 2009 viruses circulating in Portugal
Methodology: Strains of the new influenza A(H1N1) variant were characterised morphologically by transmission electron microscopy and genetically by sequencing, analysis of mutations and phylogenetic analysis.
Results: The mutations P100S, S220T and I338V on the hemagglutinin, V106I and N248D on the neuraminidase and two synonymous mutations on the matrix gene were detected, when comparing with the sequence of the vaccine strain A/California/07/2009.
Discussion: The mutations found place the strains analysed within cluster 2 defined by Fereidouni et al, 2009 (vaccine strain is classified on cluster 1). In the hemagglutinnin gene were found mutations on antigenic sites, on a site of connection to cellular receptors and one mutation is probably associated with a new N-glycosilation site. The strains exhibit an antiviral drug profile of resistance to the M2 protein inhibitors. The profile to neuraminidase inhibitors will only be able to be determined in association with information generated by phenotypic studies which are already in course by our research group.

Key-words: Influenza virus A(H1N1)v, genetic characterisation, influenza pandemic.

/ Introdução

Os vírus influenza são caracterizados por uma contínua variação antigénica e consequentemente por uma rápida evolução molecular, que tornam imprevisíveis a extensão e a gravidade da doença e das epidemias que provocam. Estas variações antigénicas ocorrem essencialmente nas suas duas glicoproteínas de superfície – hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA), e, consoante o mecanismo que está na sua origem, são classificadas como variação antigénica *minor* (*drift* antigénico) ou variação antigénica *major* (*shift* antigénico) [1,2]. A variação antigénica *minor* resulta da ocorrência de mutações pontuais na sequência de bases que codificam os aminoácidos que constituem as glicoproteínas de superfície (HA e/ou NA), possibilitando ao vírus escapar aos mecanismos de defesa imunológica do hospedeiro. Este é o processo de evolução dos vírus influenza que lhes permite reemergir todos os anos, numa base sazonal (geralmente durante o Inverno), podendo ocorrer tanto nos vírus do tipo A como nos vírus do tipo B [2]. Por sua vez, a variação antigénica *major* pode resultar quer da recombinação de segmentos do genoma de vírus de diferentes espécies ou linhagens, em que ocorre a substituição integral de um ou mais segmentos, quer da ocorrência de mutações adaptativas sucessivas [2,3]. Este segundo processo evolutivo ocorre unicamente nos vírus influenza do tipo A e conduz à emergência de vírus novos para os quais a população humana tem pouca ou nenhuma memória imunológica e que, deste modo, possuem a capacidade de se transmitirem rapidamente na população e causarem epidemias mundiais ou pandemias [4].

As pandemias de gripe tendem a ocorrer, a nível temporal, de forma pouco frequente e em intervalos irregulares. De acordo com os registos históricos, nos últimos 500 anos ocorreram 10 pandemias de gripe, das quais se destacam as 3 epidemias mundiais que emergiram no século XX: (1) a gripe pneumónica, em 1918/1919, causada pelo subtipo A(H1N1); (2) a pandemia de 1957/1958 que ficou conhecida como gripe Asiática, causada pelo subtipo A(H2N2); e, (3) a gripe de Hong-Kong, em 1968/1969, que resultou da emergência do subtipo A(H3N2) na população humana [5]. Nos últimos anos, particularmente desde 2003, verificaram-se epizootias provocadas por vírus influenza A(H5N1), em aves domésticas e selvagens, de grande dispersão geográfica e associadas a casos esporádicos e *clusters* de

doença grave no homem. Apesar do seu potencial zoonótico e do facto de terem conseguido ultrapassar a barreira da espécie, estes vírus não adquiriram a capacidade de se transmitirem eficazmente de pessoa-a-pessoa [5]. Esta capacidade foi, no entanto, demonstrada pela nova variante de vírus influenza A(H1N1) de origem suína que emergiu na população humana no início de 2009 e que, desta forma, se tornou responsável pela ocorrência da 1.ª pandemia de gripe no século XXI, declarada oficialmente a 11 de Junho de 2009 [6].

A variante pandémica de vírus influenza A(H1N1) foi inicialmente identificada, pelo *United Stated Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), em 17 de Abril de 2009 em amostras do tracto respiratório de duas crianças residentes no Estado da Califórnia. No entanto, a infecção por esta nova variante esteve também na origem dos casos não usuais de síndroma gripal observados anteriormente a esta data, em meados de Março, no México mas dos quais apenas foi possível obter confirmação laboratorial a 23 de Abril [7]. Esta nova variante A(H1N1) estabeleceu-se rapidamente na população e é actualmente a estirpe de vírus influenza que predomina em várias regiões a nível mundial. Os dados mais recentes, relativos a 23 de Abril de 2010, revelam a detecção de infecções por esta nova variante em mais de 214 países e a ocorrência de mais de 17853 mortes associadas [8].

A nível nacional, o 1.º caso de infecção por esta nova variante A(H1N1) foi confirmado a 4 de Maio de 2009. A maioria dos casos identificados até à data não têm apresentado gravidade do ponto de vista clínico, tendo sido confirmada a ocorrência de 122 mortes associadas a esta infecção até 26 de Março de 2010 (informação disponível em www.dgs.pt).

Neste artigo são apresentados os primeiros resultados obtidos no nosso país sobre o estudo evolutivo e caracterização do genoma das estirpes da variante pandémica de vírus influenza A(H1N1).

/ Material e Métodos

As estirpes da nova variante pandémica do vírus influenza A(H1N1), analisadas durante este trabalho, foram isoladas a partir de exsudados do tracto respiratório, recebidos no âmbito dos projectos de investigação *Vigilância e monitorização da susceptibilidade aos antivirais específicos para a gripe* e *Avaliação e caracterização da emergência das resistências aos antivirais específicos para a gripe no contexto da infecção respiratória aguda*, e através de uma parceria estabelecida com o Hospital de Curry Cabral.

Os exsudados foram colhidos a indivíduos que constituíram casos confirmados de infecção por vírus influenza A(H1N1)v. Estes produtos biológicos foram inoculados em células MDCK-SIAT1, resultando no isolamento das estirpes virais analisadas neste estudo.

Foi utilizada a técnica de contrastação negativa com molibdato de amónio a 2% com a finalidade de preparar uma das estirpes A(H1N1)v isolada, designada por A/Portugal/02/2009, para observação através do microscópio electrónico de transmissão Morgagni 268D EM (FEI).

TABELA I – MUTAÇÕES PRESENTES NAS REGIÕES CODIFICANTES DAS PROTEÍNAS DOS VÍRUS INFLUENZA EM ESTUDO

	Mutações não sinónimas *	Mutações Sinónimas * †
PB2#	-	4
PB1#	-	2
PA#	P224S	3
HA§	P100S, S220T, I338V, (D239E)	2
NP#	V100I, L122Q	2
NA§	V106I, N248D, (Y155H)	1
M1§	-	2
M2§	-	-
NS1#	F103C, I123V	-
NS2#	-	-

* Mutações em relação à estirpe vacinal pandémica A/California/7/2009
† Número de mutações sinónimas
# Região codificante só disponível para A/Portugal/02/2009
§ Consideradas as mutações comuns às 18 estirpes sequenciadas
( ) Mutação representativa só presente em algumas estirpes

Sequenciou-se o gene da hemaglutinina (HA), o gene da neuraminidase (NA) e o gene da matriz (MP) de 17 estirpes isoladas, e todos os segmentos do genoma viral (HA, NA, MP, PB1, PB2, PA, NS e NP) da estirpe A/Portugal/02/2009. Resumidamente, para a sequenciação, procedeu-se à extracção do RNA viral utilizando o kit comercial *QIAamp Viral RNA Mini Kit* (QIAGEN). O RNA extraído foi transcrito e amplificado utilizando o procedimento adaptado do protocolo disponibilizado pelo CDC no site da WHO (http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/sequencing_primers/en/index.html). As sequências nucleotídicas de cada gene foram obtidas utilizando o sequenciador automático de DNA ABI PRISM 3130XL Genetic Analyser, após reacção de sequenciação cíclica com o kit de BigDye Terminator V.1.1 e analisadas utilizando o software de análise genética Lasergene V.4.05 (DNASTAR Inc, USA).

Para cada segmento de genoma viral procedeu-se, posteriormente, ao alinhamento da sequência obtida com sequências de estirpes de vírus influenza A(H1N1)v escolhidas aleatoriamente no espaço e no tempo e com sequências de estirpes pertencentes a várias linhagens do vírus influenza (linhagem humana sazonal; aviária americana e eurasiática; suína clássica, eurasiática e americana e a do triplo recombinante surgido na época de 90). Estas sequências foram retiradas da base de dados *NCBI Influenza Virus Resource* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html). Com base nos alinhamentos efectuados foram construídas as árvores filogenéticas usando o metódo Neighbor-Joining, com o modelo de substituição nucleotídica Tamura-Nei através do software MEGA V.4.

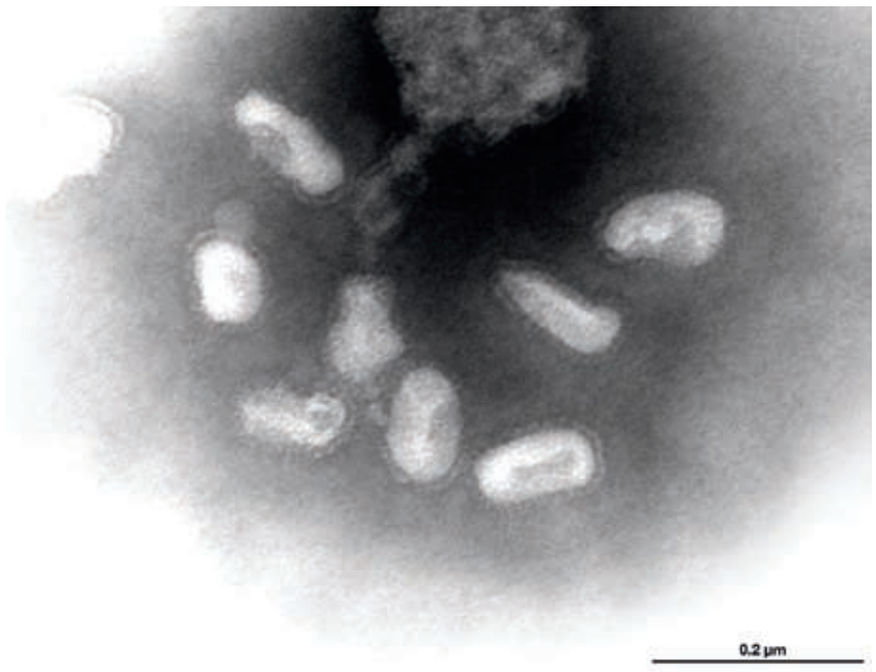


Figura 1 — Fotografia de microscopia electrónica de transmissão de partículas virais da estirpe A/Portugal/02/2009

/ Resultados

Através de microscopia electrónica de transmissão observou-se a morfologia das partículas virais da estirpe A/Portugal/02/2009, pertencente à nova variante A(H1N1) pandémica e isolada pelo nosso grupo de investigação. Como se pode observar na figura 1, as partículas virais apresentam a característica estrutura pleomórfica, com o predomínio de partículas esféricas e algumas partículas filamentosas. A maioria das partículas virais observadas apresentou um tamanho característico das partículas de vírus influenza (70-130nm). São ainda visíveis nestas partículas as espículas que se projectam a partir da superfície dos viriões e que correspondem às glicoproteinas de superfície, a HA e a NA.

As mutações sinónimas e não sinónimas detectadas no genoma viral das estirpes estudadas, quando comparado com o da estirpe vacinal A/California/07/2009, encontram-se descritas na tabela I.

A análise evolutiva das sequências obtidas para o gene da HA mostra que as 18 estirpes estudadas, pertencentes à nova variante A(H1N1), se encontram agrupadas num ramo filogenético caracterizado pela presença da mutação S220T quando comparadas com a estirpe A/California/07/2009 incluída na vacina pandémica. Neste ramo filogenético é possível observar que 12 dessas estirpes formam ainda um subgrupo, caracterizado pela presença da mutação D239E (figura 2A). As mutações P100S e I338V foram também identificadas em todas as estirpes incluídas neste estudo (tabela I). Salienta-se ainda, particularmente, a presença da mutação S202N na estirpe A/Portugal/14/2009 e da mutação K136N nas estirpes A/Portugal/01/2009 e A/Portugal/02/2009. Na árvore filogenética da HA é possível verificar a presença das estirpes A(H1N1)v no mesmo clade de estirpes da linhagem do triplo recombinante suíno e da linhagem suína clássica.

A análise genética do gene da NA mostra a presença das mutações V106I e N248D nas 18 estirpes analisadas. Filogeneticamente, a presença da mutação N248D relativamente à estirpe vacinal A/California/07/2009, caracteriza o ramo filogenético no qual se encontram estas estirpes. Nove estirpes formam ainda um subgrupo, caracterizado pela presença da mutação Y155H (figura 2B). No que respeita à analise genética da resistência aos inibidores da NA, nenhuma das mutações que se encontram descritas como estando associadas a esta resistência foi detectada nas sequências das estirpes analisadas. A árvore filogenética das sequências do gene da NA (figura 2B) evidencia ainda, comparativamente com as diversas linhagens de vírus influenza incluídas no estudo, uma maior proximidade das estirpes da nova variante pandémica com as estirpes pertencentes à linhagem suína euroasiática.

Por sua vez, a árvore filogenética correspondente ao gene polimórfico que codifica para as proteínas M1 e M2 (figura 2C), evidencia uma divisão das estirpes pertencentes à nova variante pandémica em dois subgrupos, encontrando-se todas as estirpes estudadas posicionadas no subgrupo 1. As estirpes A(H1N1)v pertencentes a este subgrupo apresentam duas mutações sinónimas de G para A nos nucleótidos 492 e 600, comparativamente com a sequência da estirpe vacinal (tabela I). Na árvore filogenética do gene MP pode-se observar ainda a semelhança genética existente entre as estirpes da nova variante A(H1N1) e as estirpes representantes da linhagem suína eurasiática. De entre as 5 mutações associadas à resistência aos inibidores da proteína M2, foi identificada a mutação S31N na região transmembranar da proteína M2 das estirpes A(H1N1)v em estudo.

No que respeita ao estudo mais detalhado da estirpe A/Portugal/02/2009, a sequência nucleotídica obtida para o segmento que codifica a proteína PB2 apresenta 4 mutações sinónimas relativamente à sequência codificante da estirpe A(H1N1)v vacinal (A/Califórnia/07/2009) (tabela I). A análise filogenética deste segmento do genoma (Figura 2D) mostra que a estirpe nacional e as sequências das estirpes da nova variante A(H1N1)v analisadas formam um clade comum. Adicionalmente, verifica-se uma proximidade genética deste clade com o das estirpes representantes da linhagem

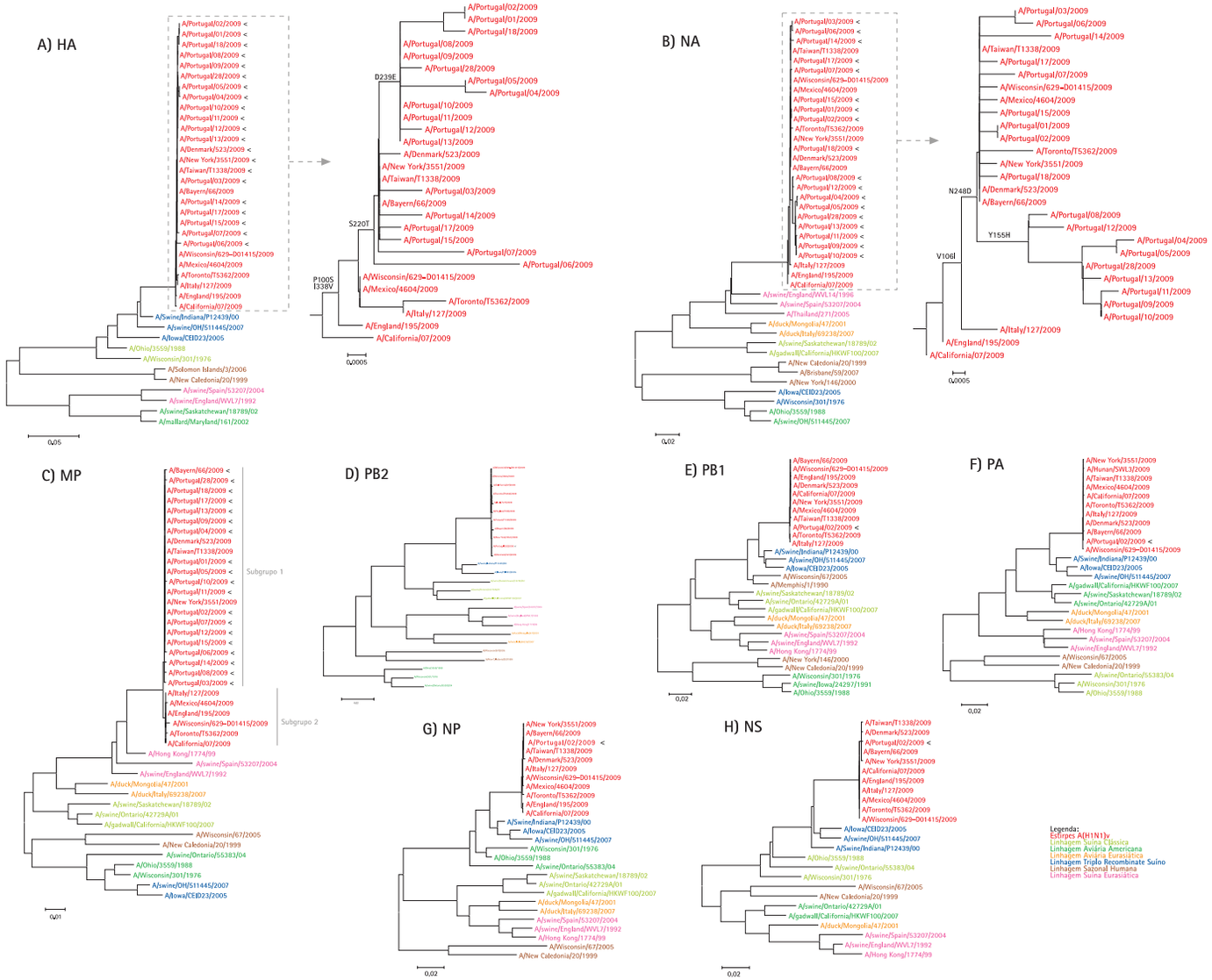


Figura 2 – Árvores filogenéticas do alinhamento das sequências das estirpes isoladas com sequências de várias estirpes da nova variante do vírus A(H1N1) 2009 e com sequências de estirpes representantes de várias linhagens do vírus influenza. As árvores filogenéticas foram construídas usando o método de Neighbor Joining com o modelo de substituição nucleotidica Tamura-Nei.

do triplo recombinante suíno, identificando, para este segmento, esta linhagem como a geneticamente mais semelhante à estirpe analisada e às estirpes A(H1N1)v.

No que diz respeito ao segmento que codifica para a proteína PB1 e para a proteína PB1-F2, não foram detectadas mutações na sequência de aminoácidos em comparação com a sequência da estirpe incluída na vacina pandémica, tendo sido, no entanto, detectadas duas mutações sinónimas (tabela I). Em relação à codificação da proteína PB1-F2, através da ORF (+1) deste segmento, observa-se a presença de um codão stop na posição do aminoácido 12, dando origem a uma proteína PB1-F2 não funcional. A análise filogenética do alinhamento das sequências da região codificante da PB1 (figura 2E) classifica as estirpes A(H1N1)v e a estirpe A/Portugal/02/2009 num clade único. Novamente, o clade mais próximo corresponde ao das estirpes da linhagem do triplo recombinante suíno.

A sequência da proteína PA da estirpe A/Portugal/02/2009 apresenta a mutação P224S e, a nível nucleotídico, três mutações silenciosas, em comparação com a estirpe vacinal pandémica A/Califórnia/07/2009 (tabela I). A análise filogenética referente ao alinhamento da sequência da região codificante do gene PA (figura 2F) evidencia (1) a classificação da estirpe pandémica nacional e das restantes estirpes A(H1N1)v no mesmo clade e (2) novamente uma maior semelhança genética deste com o clade formado pelas estirpes representantes da linhagem do triplo recombinante suíno.

No gene que codifica a proteína NP da estirpe A/Portugal/02/2009 foram detectadas as mutações V100I, L122Q e duas mutações sinónimas, em relação à sequência da estirpe vacinal pandémica (tabela I). Tal como nos segmentos do genoma já analisados, na árvore filogenética deste segmento (figura 2G) pode-se observar as estirpes da variante pandémica, incluindo a A/Portugal/02/2009, agrupadas num clade cujo ramo mais próximo inclui a linhagem do triplo recombinante suíno e a linhagem suína clássica.

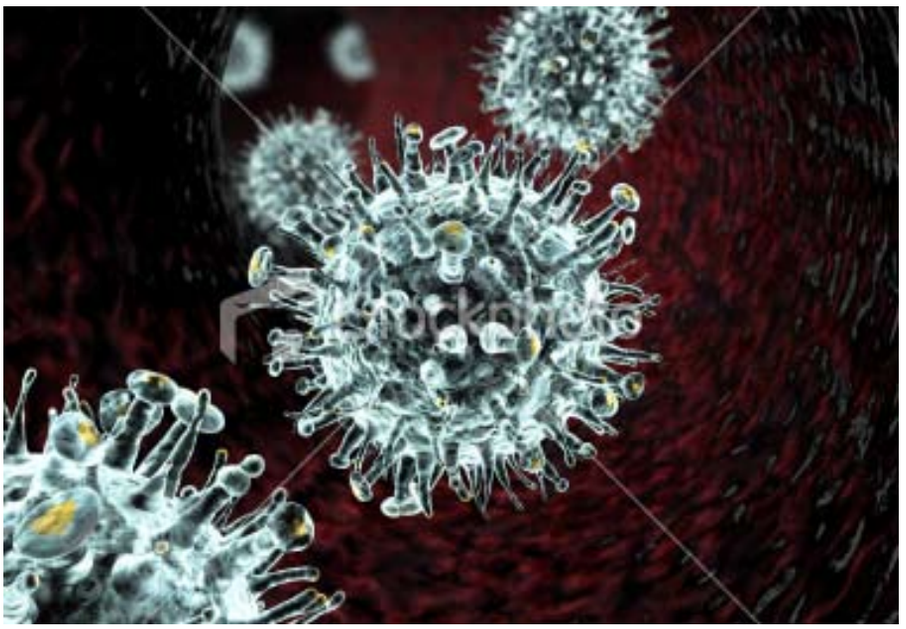
Por último, no que diz respeito ao gene polimórfico NS, que codifica a proteína NS1 (nt 1-660) e a proteína NS2 (nt 1-30, 503-838), na região codificante da proteína NS1 verificou-se a presença das mutações F103C e I123V (tabela I). Esta última mutação, presente em algumas das estirpes pandémicas analisadas, é responsável pela formação de um subgrupo na árvore filogenética deste gene (figura 2H). As estirpes A(H1N1)v apresentam como clade geneticamente mais semelhante, o da linhagem do triplo recombinante suíno.

/ Discussão

Os resultados obtidos com a realização deste estudo permitem conhecer características específicas de estirpes A(H1N1)v em circulação no nosso país, contribuindo para a análise evolutiva da nova variante pandémica A(H1N1) emergente em 2009.

O resultado da análise filogenética dos segmentos genómicos das estirpes isoladas está em conformidade, como esperado, com a origem desta nova variante por recombinação entre um vírus da linhagem norte-americana do triplo recombinante suíno e um vírus da linhagem suína eurasiática. Os segmentos PB2, PB1, PA, HA, NP e NS apresentam-se geneticamente semelhantes à linhagem do triplo recombinante suíno e os segmentos da NA e M à linhagem suína eurasiática.

Apesar de se ter vindo a observar uma elevada semelhança genética entre as



várias estirpes do vírus A(H1N1)v analisadas em vários países e regiões a nível mundial, encontram-se actualmente descritos dois *clusters* evolutivos [9]. Os resultados obtidos neste estudo para o gene da HA, NA e MP, permitem verificar, através das mutações identificadas, que as 18 estirpes A(H1N1)v isoladas no nosso país se encontram incluídas no *cluster* 2 definido por Fereidouni *et al*, 2009 enquanto a estirpe vacinal A/California/07/2009 se encontra incluída no *cluster* 1. É, no entanto, importante ter em consideração o facto desta divisão se basear num número limitado de mutações no genoma viral (4 mutações não sinónimas, das quais uma no local antigénico da HA, e 5 mutações sinónimas). Adicionalmente, as mutações S202N, S220T e D239E, identificadas na HA de estirpes isoladas em Portugal, localizam-se em sítios antigénicos [10]. O aminoácido 239 constitui ainda um dos locais de ligação da hemaglutinina aos receptores celulares [11] e a mutação K136N encontra-se provavelmente associada a um novo local de N-glicosilação. Para clarificar o efeito destas alterações genéticas nas características antigénicas e fenotípicas das estirpes analisadas, considera-se essencial conjugar esta informação com estudos antigénicos e serológicos.

As estirpes A(H1N1)v analisadas revelaram ser resistentes aos inibidores da proteína M2, sendo este perfil antivírico característico das estirpes pertencentes à linhagem suína euroasiática. A ausência de mutações no gene da NA associadas ao desenvolvimento de resistência aos inibidores da NA não permite, por si só, determinar o perfil antivírico das estirpes A(H1N1)v analisadas. A informação genética tem necessariamente que ser conjugada com dados fenotípicos. Para tal, encontram-se actualmente em curso, pelo mesmo grupo de investigação, ensaios fenotípicos de avaliação da susceptibilidade das estirpes a estes antivíricos.

Como consequência da grande capacidade evolutiva apresentada pelos vírus influenza, que se manifesta através de mutações nas glicoproteínas de superfície e na possibilidade de ocorrência de novos eventos de recombinação, é fundamental manter a investigação e monitorização das estirpes em circulação a nível nacional, de forma a possibilitar a detecção atempada de qualquer alteração que possa estar associada a uma maior patogenia, virulência ou desenvolvimento de resistência aos antivirais específicos para a gripe.

/ Bibliografia

1. Cox N J, Subbarao K. Influenza. Lancet 1999; 354: 1277-1282.
2. Rebelo-de-Andrade H, Diniz A, Froes F. Gripe. Lisboa: Sociedade Portuguesa de Pneumologia; 2003.
3. Rebelo-de-Andrade H. Introdução aos conceitos de gripe sazonal, gripe pandémica e de gripe aviária. In Rebelo-de-Andrade et al., Gripe sazonal, de transmissão zoonótica e pandémica - Diagnóstico virológico. INSA, 2006, pg. 5-9.
4. Osterhaus A, de Pooter D. 101 Questions & Answers on Influenza. Maarssen: Elsevier; 2009.
5. Rebelo-de-Andrade H. Revisão das principais características epidemiológicas e virológicas do vírus influenza A(H5N1). Rev Port Doenças Infec 2007; 3(1): 7-11.
6. WHO. New influenza A(H1N1) virus: global epidemiological situation, June 2009. Week Epidemiol Rec 2009; 25(84): 249-257. Disponível online em http://www.who.int/wer
7. WHO. New influenza A(H1N1) virus infections: global surveillance summary, May 2009. Week Epidemiol Rec 2009; 20(84): 173-179. Disponível online em http://www.who.int/wer
8. WHO, 2009. Pandemic (H1N1) 2009 – update 97. Disponível online em http://www.who.int/csr/don/2010_04_23a/en/index.html .
9. Fereidouni SR, Beer M, Vahlenkamp T, Starick E. Differentiation of two distinct clusters among currently circulating influenza A(H1N1)v viruses, March-September 2009. Euro Surveill 2009; 14(46):pii=19409;
10. Igarashi M, Ito K, Yoshida R, Tomabechi D, Kida H, Takada A. Predicting the antigenic structure of the pandemic (H1N1) 2009 influenza virus hemagglutinin. PLoS One 2010; 5(1):e8553;
11. Yang H, Carney P, Stevens J. Structure and Receptor binding properties of a pandemic H1N1 virus hemagglutinin. PLoS Curr Influenza 2010;RRN1152.

ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em profissionais de saúde - caso do Hospital de Aveiro

Prevalence of nasal colonisation by methicillin-resistant Staphylococcus aureus on healthcare workers – Aveiro's Hospital case

/ H. S. F. Silva / E. Ramalheira
/ M. I. P. de Sousa / B. M. P. Duarte

Serviço de Patologia Clínica, laboratório de Microbiologia, Hospital Infante D. Pedro E.P.E Aveiro, Portugal
Departamento de Microbiologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal

Correspondência:

Helena Silva
Rua Sr. dos Milagres nº 15 5º Esq.
3800-261 Aveiro
Portugal

Telefone: 93 3317165
e-mail: helenasacchetti@gmail.com

/ Resumo

Há ainda poucos estudos sobre a colonização nasal por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) nos profissionais de saúde dos hospitais portugueses. Este trabalho visa determinar a prevalência de colonização nasal por MRSA nos profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro, em Aveiro, Portugal (HIP). Pretende-se também testar a susceptibilidade dos *S. aureus* isolados a outros antibióticos não ß-lactâmicos, nomeadamente à mupirocina, um dos antibióticos tópicos mais eficazes na descontaminação dos portadores nasais de MRSA. O rastreio foi realizado nos Serviços de Cirurgia, Medicina, Ortopedia, Medicina Intensiva e de Urgência, e nele participaram 92 profissionais (Médicos, Enfermeiros e Auxiliares de Acção Médica). As amostras colhidas por esfregaço nasal foram inoculadas em manitol salgado suplementado com um disco de 1 µg de oxacilina. A prevalência global de portadores nasais de *S. aureus* foi de 35,9% (n=92) e de MRSA 14,1%. Todas as estirpes isoladas apresentaram sensibilidade à mupirocina. Concluiu-se que no HIP a prevalência da colonização nasal por MRSA é significativa. A ausência de resistência à mupirocina nas estirpes isoladas sustenta o seu uso na descontaminação nasal. Mas, atendendo a que a recolonização após descontaminação é um fenómeno comum, outras medidas como reforçar a higiene das mãos devem também ser adoptadas.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina; profissionais de saúde; mupirocina.

/ Abstract

O(MRSA) in Portuguese health care workers have been conducted. This study aims to determine the prevalence of MRSA nasal carriage in health care workers of Hospital Infante D. Pedro, in Aveiro, Portugal (HIP). The susceptibility of the isolated S. aureus will also be tested to other non-ß-lactam antibiotics, namely mupirocin, since it is one of the most effective topical antibiotics used for the eradication of MRSA nasal carriage. A screening procedure was made in a sample of 92 physicians, nurses and technicians working in the departments of Surgery, Medicine, Orthopaedics, Intensive Medicine and Emergency. The samples were collected by nasal swabs and inoculated into mannitol salt agar with a 1 µg oxacillin disk. The global prevalence of nasal carriage of S. aureus was 35.9%

(n=92) and of MRSA 14.1%. All isolated strains were susceptible to mupirocin. The health care workers in HIP had a high nasal colonization rate by MRSA. The absence of resistance to mupirocin supports its use in eradication of nasal carriers, but as it is known that recolonisation after decontamination is a common phenomenon, other measures like hand hygiene procedures should also be reinforced. .

Key-words: *Methicilin-resistant* ***Staphylococcus aureus****; healthcare workers; mupirocin*

/ Introdução

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria patogénica de relevo para o homem, quer na comunidade quer a nível hospitalar, sendo uma das causadoras mais frequentes de infecções nosocomiais[1].

O ser humano é um reservatório natural do *S. aureus*, sendo a colonização assintomática muito mais comum que a infecção[2]. Esta bactéria pode ser encontrada na pele, membranas mucosas, olhos, tracto gastrointestinal e no epitélio das narinas anteriores de indivíduos assintomáticos, onde pode existir como membro permanente ou transitório da flora normal, sem causar doença[3,4].

As narinas anteriores são o reservatório primário do *S. aureus* no homem[5], estimando-se que um terço da população geral é portadora a este nível, a dado momento[6].

Apesar de o *S. aureus* ser um habitante normal da pele e mucosas deve ser sempre considerado como um potencial patogénico para o homem. Efectivamente, estima-se que cerca de 80% das infecções invasivas nosocomiais por *S. aureus* têm origem endógena nos portadores nasais[6,7].

Há ainda muito poucos estudos publicados acerca da prevalência de colonização nasal por *Staphylococcus aureus* (nomeadamente MRSA) em profissionais de saúde[8]. Conhecer a frequência desta colonização pode ajudar à melhor compreensão da epidemiologia desta bactéria no ambiente hospitalar e ao desenvolvimento de estratégias de controlo de infecção hospitalar.

A transmissão das infecções por *S. aureus* ocorre geralmente por contacto directo com um portador colonizado[2]. Em ambiente hospitalar, o principal modo de transmissão de *S. aureus* entre doentes é pelas mãos contaminadas de profissionais de saúde[9].

A emergência de estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) levanta grandes preocupações, principalmente a nível hospitalar, pois representa um aumento da taxa de mortalidade em relação às infecções por *Staphylococcus aureus* sensíveis à meticilina (MSSA)[10]. A percentagem de resistência à meticilina varia de país para país e de hospital para hospital. No entanto, a prevalência de MRSA é actualmente superior a 50% na maioria das instituições de saúde, tendo vindo também a aumentar na comunidade[5,11]. Além disto, recentemente têm surgido casos de susceptibilidade reduzida aos glicopéptidos, que podem indicar emergência de resistência a este grupo de antibióticos. Este facto causa um problema sério de saúde pública, a nível de antibioterapia de infecções por Gram-positivos multirresistentes, nomeadamente os MRSA, pois a vancomicina é, como já foi referido, o tratamento de primeira linha nestas infecções[5,12,13]. No entanto, um estudo recente que envolveu mais de 2600 estirpes de MRSA teve como resultado 100% de susceptibilidade à vancomicina[1].

A resistência à meticilina no *S. aureus* é mediada por uma proteína de ligação à penicilina (PBP), que foi sujeita a alterações que lhe conferem baixa afinidade de ligação aos antibióticos ß-lactâmicos, a PBP2a. Esta proteína é codificada pelo gene *mecA*, que por sua vez é transportado no interior de um elemento genético móvel chamado *staphylococcal-cassete chromossome mec* (SCC*mec*), que se localiza no cromossoma do *S. aureus*[10,12].
O mecanismo responsável pela transferência do gene *mec*A é ainda desconhecido, mas factos

TABELA I –TOTAL DE *S. AUREUS* ISOLADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO NOS ANOS 2003 A 2007 E PERCENTAGENS DE MRSA ENTRE OS ISOLADOS DE CADA ANO.

Ano	Total *S. aureus* Isolados	%MRSA
2003	230	36
2004	224	50
2005	237	40
2006	339	62
2007	333	64

TABELA II – PERCENTAGEM DE SENSIBILIDADE DOS S. AUREUS ISOLADOS NO ANO DE 2007 NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO A UMA SELECÇÃO DE ANTIBIÓTICOS COM ACTIVIDADE CONTRA STAPHYLOCOCCUS, EM FUNÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS PARA CADA ANTIBIÓTICO.

2007	n.º total	%sensíveis
Ácido Fusídico	333	94
Ciprofloxacina	149	43
Clindamicina	149	87
Cotrimoxazol	333	82
Eritromicina	333	39
Gentamicina	333	78
Kanamicina	186	72
Levofloxacina	149	43
Lincomicina	186	76
Linezolide	333	100
Minociclina	186	85
Mupirocina	16	100
Nitrofurantoína	333	98
Norfloxacina	143	43
Ofloxacina	186	30
Oxacilina	333	36
Penicilina-G	149	6
Quinupristina/Dalfopristina	142	98
Teicoplanina	333	100
Tetraciclina	333	76
Tobramicina	333	76
Vancomicina	333	100

recentes apontam para a transferência horizontal entre *staphylococcus* bem como entre bactérias de Gram positivo de diferentes géneros[10].

Uma das principais dificuldades na detecção laboratorial de MRSA prende-se com a heterogeneidade da expressão da resistência à meticilina. As estirpes heterorresistentes apesar de terem o gene *mec*A, nem sempre o expressam, ou seja, dão muitas vezes resultados falsamente negativos nos métodos culturais, dependendo das condições em que é efectuado o teste. Não há ainda consenso sobre as melhores condições de cultura para contornar este problema, havendo no entanto indícios de que temperaturas acima de 35ºC podem diminuir a expressão de PBP2a e o tempo de incubação deve ser alargado a 48h para detecção de estirpes de crescimento mais lento[9]. O manitol salgado e suas variações são frequentemente usados no rastreio de MRSA com bons resultados. A alteração mais comum que se faz para este fim é adicionar-lhe oxacilina, incorporando-a no meio numa concentração de 2mg/L ou usando discos de 1µg[9].

Os MRSA têm um alto nível de resistência a todos os ß-lactâmicos, que deixam assim de ser uma opção terapêutica. A co-existência de resistência a vários outros grupos de antibióticos é um desenvolvimento recente alarmante[14,15].

No Hospital Infante D. Pedro (HIP) de Aveiro a prevalência de infecções por *S. aureus*, particularmente por MRSA, tem vindo a aumentar (Tabela I), causando uma situação preocupante. O perfil de resistências das estirpes de *S. aureus* isoladas, em 2007, no Hospital Infante D. Pedro levanta preocupações, não só pela elevada percentagem de MRSA, mas também por muitas dessas estirpes apresentarem resistência a outros grupos de antibióticos, como já se tinha referido ser comum em muitas estirpes de MRSA (Tabela II).

Verifica-se que 100% das estirpes isoladas em 2007 têm sensibilidade à mupirocina. Estas estirpes têm ainda sensibilidade de 100% aos glicopéptidos (vancomicina e teicoplanina), à linezolida e acima de 90% são sensíveis ao ácido fusídico, nitrofurantoína e streptogaminas (quinupristina/dalfopristina). A susceptibilidade ao cotrimoxazol é de 82%. No entanto apenas 36% são sensíveis à oxacilina, o que significa que os MRSA ascendem aos 64%, e apenas 6% das estirpes isoladas apresentam sensibilidade à penicilina. A susceptibilidade às fluoroquinolonas testadas (ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina e ofloxacina) também não ultrapassa os 43% nas estirpes isoladas. A susceptibilidade às lincosamidas (clindamicina e lincomicina), quando testadas isoladamente, ainda é elevada (87% e 76%, respectivamente), mas a susceptibilidade aos macrólidos (eritromicina) é de apenas 39%. No que diz respeito aos aminoglicosídeos (gentamicina, kanamicina, tobramicina) a susceptibilidade tem valores entre os 70 e 80%. A susceptibilidade às tetraciclinas, minociclina e tetraciclina é, respectivamente, de 85% e 76% (Tabela II).

Para tentar compreender as causas que podem estar a contribuir para a grande prevalência de infecções por MRSA foi organizado um rastreio dos portadores nasais sãos de *Staphylococcus aureus* em profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro e foi feita

a determinação de susceptibilidade dos *S. aureus* isolados à meticilina. Foi feita ainda a avaliação de susceptibilidade dos *S. aureus* isolados a uma selecção de antibióticos não ß-lactâmicos usados frequentemente em infecções por esta bactéria. Finalmente foi feita a avaliação de susceptibilidade dos *S. aureus* isolados à mupirocina para avaliação do seu uso na descontaminação dos portadores nasais de MRSA.

/ Material e Métodos

Desenho do estudo

O rastreio dos portadores nasais sãos de *S. aureus* foi realizado nos Serviços do HIP mais afectados a nível de infecções por *S. aureus* e nos que apresentam maiores percentagens de MRSA nos *S. aureus* isolados (Tabela III). Assim, foram alvo de rastreio os Serviços de Cirurgia, Ortopedia, Medicina, Serviço de Urgência e Serviço de Medicina Intensiva. O rastreio incluiu médicos, enfermeiros e auxiliares de acção médica, de forma voluntária, tendo o recrutamento sido feito directamente nos serviços, após aprovação pela comissão de controlo de infecção do hospital e com consentimento informado dos participantes. O rastreio foi feito de uma forma anónima, sendo apenas registado, para cada voluntário, a categoria profissional, serviço a que pertence e data da colheita.

Foram utilizados como critérios de exclusão: idade inferior a 18 anos, gravidez, hospitalização nos últimos 60 dias, historial de infecção por MRSA e imunocomprometidos. Estes critérios foram escolhidos de forma a aumentar a probabilidade dos casos de MRSA detectados reflectirem a exposição relacionada com o trabalho.

Procedimentos microbiológicos

As colheitas para rastreio de *S. aureus* foram feitas com zaragatoas de algodão e estéril, nas narinas anterior direita e esquerda de cada rastreado, esfregando o interior 4 vezes, aplicando pressão constante e rodando a zaragatoa sobre si, sem interrupção (63). Imediatamente após a colheita, cada zaragatoa foi introduzida num tubo de ensaio contendo o meio de transporte Stuart (BBL Culture swab BD, Sparks, Md.) e mantida à temperatura de aproximadamente 25º C até ser inoculada não mais que 24h após a colheita. As amostras colhidas no rastreio no Hospital Infante D. Pedro foram transportadas para o Departamento de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para aí serem analisadas.

No Laboratório de Microbiologia as amostras foram inoculadas em placas de manitol salgado (meio liofilizado, da Oxoid, reconstituição com água pura fervente (111g/l), esterilizado em autoclave a 121ºC durante 15 minutos, colocado em placas estéreis) directamente com a zaragatoa de colheita, em três quadrantes, tendo sido colocado na zona de maior crescimento esperado (o primeiro quadrante), um disco de 1µg de oxacilina (Bio-discs, Biomérieux). Como estirpes controlo foram utilizadas a estirpe ATCC 43866, que corresponde a um MRSA, e a estirpe ATCC 29213, um MSSA. Todos os procedimentos microbiológicos foram realizados numa câmara de fluxo laminar vertical (Aura Ve 190 EHRET) para protecção do operador e dos produtos manipulados.

As placas foram incubadas a 35º C e foram feitas leituras às 24, 48 e 72h, para pesquisa de colónias suspeitas de *S. aureus*. As culturas negativas às 72h foram rejeitadas. As colónias suspeitas de *S. aureus* (colónias amarelas fermentadoras de manitol) foram confirmadas recorrendo à coloração de Gram e observação microscópica, prova da coagulase em tubo, prova da catalase e pesquisa de DNAse. A prova da coagulase foi realizada fazendo uma suspensão bacteriana num tubo com plasma de coelho liofilizado, regenerado com 3 ml de água pura, e incubando a 37ºC. Os tubos negativos às 4h foram re-examinados às 24h pois algumas estirpes de *S. aureus* necessitam de mais de 4h para coagular o plasma[9]. A actividade da DNAse foi testada numa placa de DNAse agar (meio liofilizado, da Oxoid, reconstituído com água pura fervente (111g/l), esterilizado em Autoclave a 121ºC durante 15 minutos e colocado em placas estéreis) incubando 24h a 37ºC. A sensibilidade à oxacilina foi interpretada de acordo com as normas do CLSI, as estirpes foram classificadas como sensíveis (≥13mm), intermédias (11-12mm) ou resistentes (≤10mm).

Nas placas em que foram isolados *Staphylococcus aureus* presumivelmente resistentes à meticilina, foi feita a confirmação de resistência através da detecção do PBP2a, recorrendo ao teste de detecção em látex (Slidex MRSA Detection, da Biomérieux). Este teste é baseado na reacção de partículas de látex sensibilizadas com anticorpos monoclonais para a PBP 2a. Procede-se à extracção da PBP2a de colónias suspeitas seguida de detecção por aglutinação com partículas de látex sensibilizadas com anticorpos monoclonais para esta proteína, aglutinação essa que é visível a olho nu (9,16). O teste foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. Todos os *S. aureus* isolados (MRSA e MSSA) foram repicados para gelose de sangue (CDS da bioMérieux) para avaliação do tipo de hemólise. As placas foram incubadas a 37ºC e as leituras foram feitas as 24 e 48h. As hemólises foram caracterizadas como α hemólise (parcial), ß hemólise (total) ou γ hemólise (sem hemólise).

Para todas as estirpes de *S. aureus* isoladas foi feita determinação de susceptibilidade a uma selecção de antibióticos. Os antibióticos utilizados foram a gentamicina (Bio-discs de 10µg da bioMérieux), a eritromicina (Bio-discs de 15 µg da bioMérieux), a clindamicina (Bio-discs de 2 µg da bioMérieux), a ciprofloxacina (Bio-discs de 5 µg da bioMérieux), o ácido fusídico (Bio-discs de 10 µg da bioMérieux) e a mupirocina (discos de 5µg da Oxoid). Foi ainda testado um antibiótico adicional em cada placa, a benzilpenicilina (Bio-discs de 10IU da bioMérieux) nas estirpes de MSSA, e a cefoxitina (Bio-discs de 30 µg da bioMérieux) nas estirpes de MRSA. Assim, todos os isolados foram inoculados em placas de agar de Mueller-Hinton (MH2 da bioMérieux) para determinação de susceptibilidade por difusão em disco. Os discos de antibióticos foram colocados à superfície das placas que foram depois incubadas a 35ºC durante 24h. Para medição do diâmetro dos halos de inibição foi utilizada uma craveira e os valores obtidos foram

TABELA III – PERCENTAGEM DE MRSA E NÚMERO TOTAL DE S. AUREUS ISOLADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DO SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA DO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO DE AMOSTRAS PROVENIENTES DOS SERVIÇOS DE MEDICINA, ORTOPEDIA, CIRURGIA, SERVIÇO DE MEDICINA INTENSIVA (SMI) E SERVIÇO DE URGÊNCIA (SU) E DO TOTAL DE AMOSTRAS PROCESSADAS EM 2007.

Serviço	%MRSA	Total *S. aureus* isolados
Total	64,3	333
Medicina	75,6	86
Ortopedia	75	28
Cirurgia	83,6	61
SMI	46,4	28
SU	49,2	65

TABELA IV – DISCRIMINAÇÃO POR SERVIÇO E POR CATEGORIA PROFISSIONAL DO NÚMERO DE AMOSTRAS COLHIDAS NO RASTREIO NASAL DOS PORTADORES SÃOS DE *S. AUREUS* NO HOSPITAL INFANTE D. PEDRO.

	Médicos	Enfermeiros	Auxiliares	Total
Cirurgia	5	12	5	22
Ortopedia	5	6	3	14
SU	5	8	4	17
Medicina	12	14	4	30
SMI	2	6	1	9
Total	29	46	17	92

TABELA V – NÚMERO DE INDIVÍDUOS RASTREADOS E PERCENTAGENS DE PORTADORES NASAIS DE *S. AUREUS*, MRSA E MSSA DISCRIMINADAS POR CATEGORIA PROFISSIONAL.

Todos Serviços	N.º Total	% portadores nasais MRSA	% portadores nasais MSSA	% portadores nasais *S. aureus*
Médicos	29	3,4	24,1	27,6
Enfermeiros	46	19,6	17,4	37,0
Auxiliares de Acção Médica	17	17,6	29,4	47,1
Total	92	14,1	21,7	35,9

interpretados de acordo com as normas do CLSI, exceptuando o ácido fusídico e mupirocina. Para o ácido fusídico foi usado o valor de ≥21 mm para definir a susceptibilidade (17). No que diz respeito à mupirocina, a estirpe foi considerada susceptível se apresentou um halo de inibição ≥ 14 mm (18).

As placas de manitol salgado relativas às amostras que não continham colónias suspeitas de *S. aureus* foram rejeitadas após 72h de incubação, exceptuando placas onde foram isolados *Staphylococcus* coagulase negativos (CoNS) que cresciam em zona que indicava resistência à oxacilina. Para estes microrganismos isolados foi também feita a confirmação de resistência à meticilina pelo teste de difusão em disco com cefoxitina, numa placa de Mueller-Hinton. A classificação em CoNS foi atribuída aos microrganismos que cumpriam os seguintes requisitos: observação microscópica de cocos Gram positivos aglomerados, leituras negativas às 4 e 24h na prova da coagulase e prova da catalase positiva (19).

/ Resultados

Participaram no rastreio 46 enfermeiros, 29 médicos e 17 auxiliares de acção médica, tendo sido obtido um total de 92 amostras (Tabela IV). Nas 92 amostras analisadas foram identificados S. aureus em 33 amostras, das quais 20 tinham MSSA e 13 tinham MRSA. Estes resultados significam que 35,9% da população rastreada é portadora nasal de *S. aureus* e que 14,1% da população rastreada é portadora nasal de MRSA (Tabela V).

Os enfermeiros e auxiliares de acção médica foram as classes profissionais onde se registaram maiores taxas de colonização nasal por MRSA, com percentagens de colonização de 19,6% e 17,6%, respectivamente. Na classe Médica registou-se uma percentagem de colonização nasal por MRSA de apenas 3,4% (Tabela V).

No que diz respeito ao tipo de hemólise 72,7% dos *S. aureus* isolados fazem ß-hemólise. Em relação aos MRSA 100% são ß-hemolíticos. Apenas 6,1% das estirpes de *S. aureus* isoladas apresentam ausência de hemólise (γ -hemólise) o que significa que 93,9% dos S. aureus isolados são hemolíticos (α ou ß-hemólise) (Tabela VI).

TABELA VI – CLASSIFICAÇÃO DO TOTAL DE S. AUREUS, MRSA E MSSA ISOLADOS QUANTO AO TIPO DE HEMÓLISE.

Hemólise	*S. aureus* (%) n=33	MRSA (%) n=13	MSSA (%) N=20
?	21,2	0,0	35,0
?	72,7	100,0	55,0
?	6,1	0,0	10,0

TABELA VII – RESULTADOS DA SENSIBILIDADE DO TOTAL DE S. AUREUS ISOLADOS, MRSA E MSSA AOS ANTIBIÓTICOS ESCOLHIDOS.

Antibiótico	% Sensiblidade *S. aureus* (n=33)	% Sensiblidade MRSA (n=13)	% Sensiblidade MSSA (n=20)
Ácido Fusídico	97 (n=32)	100 (n=13)	95 (n=19)
Ciprofloxacina	60,6 (n=20)	8 (n=1)	95 (n=19)
Clindamicina	97 (n=32)	92 (n=12)	100 (=20)
Eritromicina	64 (n=21)	15 (n=2)	95 (n=19)
Gentamicina	100 (n=33)	100 (n=13)	100 (n=20)
Mupirocina	100 (n=33)	100 (n=13)	100 (n=20)
Oxacillin MIC	60,6 (n=20)	0 (n=0)	100 (n=20)
Penicilina-G	-	-	5 (n=1)
Cefoxitina	-	0 (n=0)	-

A susceptibilidade dos *S. aureus* isolados à oxacilina é de 60,6% (Tabela VII) o que corresponde a uma percentagem de 39,4% de MRSA. Este valor não deve ser comparado com o valor de 64% obtido dos *S. aureus* isolados em 2007 (Tabela I), pois este último refere-se aos isolados clínicos de infecções dos doentes do hospital e o estudo aqui desenvolvido é referente à colonização nasal em portadores sãos.

Todos os *S. aureus* isolados apresentaram susceptibilidade à mupirocina e gentamicina. Apenas um isolado mostrou resistência ao ácido fusídico. A susceptibilidade à eritromicina é de 64% o que significa que 36% dos isolados são resistentes à eritromicina. No entanto, apenas um isolado apresentou resistência à clindamicina. A susceptibilidade à ciprofloxacina é de 60,6%, ou seja 39,4% de resistência. A resistência à eritromicina e ciprofloxacina é especialmente elevada nas estirpes de MRSA que apresentam respectivamente 85% e 92% de resistência a estes antibióticos (nas estirpes de MSSA apenas 5% dos isolados demonstraram resistência a estes antibióticos). Nenhuma estirpe de MRSA é sensível à cefoxitina e apenas uma estirpe de *Staphylococcus* aureus sensíveis à meticilina (MSSA) é sensível à penicilina G (Tabela VII).

Foram isolados cinco *Staphylococcus* coagulase negativos que apresentavam crescimento na zona de resistência à oxacilina. Todos confirmaram a resistência no teste de difusão em disco com cefoxitina.

/ Discussão

Foram isolados *S. aureus* em 35,9% das amostras recolhidas o que, ao contrário do que se verificou para os MRSA, não é um valor alarmante, pois estima-se que um terço da população em geral é portador nasal de *S. aureus*, a dado momento (6).

Os resultados obtidos a nível de colonização nasal por MRSA nos profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro (14,1%) estão de acordo com um estudo semelhante realizado num hospital dos Estados Unidos, em que se registou 15% de colonização nasal por MRSA (8). Estes resultados indicam que a colonização nasal por MRSA no pessoal do hospital é muito superior à colonização nasal por MRSA na comunidade, que geralmente não atinge 1% (6).

Neste estudo, verificou-se que os enfermeiros e auxiliares de acção médica apresentam percentagens de colonização nasal MRSA significativamente superiores às dos médicos. Este facto sugere que estas classes profissionais têm possivelmente maior contacto com os doentes e/ou cuidados insuficientes de higiene, nomeadamente das mãos.

O facto de 93,9% de todos os *S. aureus* isolados terem mostrado ser hemolíticos (α ou ß) e de todos os MRSA isolados terem feito ß-hemólise na gelose sangue é mais um indicador da virulência desta bactéria.

Nos resultados pudemos constatar que apenas se detectou uma estirpe resistente à clindamicina entre os *S. aureus* isolados mas 36% das estirpes apresentaram resistência à eritromicina, o que pode significar que estamos perante fenótipos MLSb indutíveis, que só seriam revelados com um teste de indução (20,21). Apesar do fenótipo MLS_B constitutivo resultar em resistência de alto nível aos macrólidos, lincosamidas e streptogaminas B, estas estirpes continuam a apresentar 100% de susceptibilidade à quinupristina/ dalfopristina (provavelmente devido ao componente streptogamina A) (21).

Pode-se verificar que as estirpes de MRSA isoladas apresentam altos valores de

resistência à ciprofloxacina e à eritromicina, ao contrário do que se observou nas estirpes de MSSA. De facto, a resistência às fluoroquinolonas e macrólidos é comum nos *S. aureus* e tem normalmente valores superiores nos MRSA em relação aos encontrados nos MSSA, sendo que a prevalência de estirpes resistentes às quinolonas nos MRSA chega aos 80% em alguns casos[21,22].

Verificou-se que todos os *S. aureus* isolados se mostraram susceptíveis à gentamicina e apenas uma estirpe mostrou resistência ao ácido fusídico. A resistência aos aminoglicosídeos nos *S. aureus* tem vindo a aumentar. No entanto, os valores de resistência não são ainda tão alarmantes como noutros grupos de antibióticos como os macrólidos ou as fluoroquinolonas. Os valores de resistência aos aminoglicosídeos nos *S. aureus* variam entre os 20% e 30%, sendo mais elevados nos MRSA, onde podem atingir os 75%[23]. O ácido fusídico é um antibiótico de largo espectro de acção com grande actividade para *Staphylococcus* muitas vezes usado topicamente para tratar infecções dos olhos ou da pele [24,25]. A maioria das estirpes de *S. aureus* permanece ainda sensível ao ácido fusídico, com valores de resistência nos MRSA de cerca de 2%[17].

Entre as 20 estirpes de MSSA isoladas apenas uma se mostrou sensível à penicilina G, o que está de acordo com o que se passa com a resistência à penicilina nos *S. aureus* em geral, sendo que a penicilina já não é uma opção para o tratamento de infecções por esta bactéria desde 1950[3].

Todas as estirpes de MRSA detectadas se mostraram resistentes à cefoxitina. Actualmente há já muitos indícios de que o teste com cefoxitina é mais adequado para a detecção da resistência á meticilina do que o teste com oxacilina pois parece ser menos influenciado pelo fenómeno de heterogeneidade da expressão de resistência[9].

Em relação aos *Staphylococcus* coagulase negativos resistentes à meticilina, foram isolados apenas 5 num total de 92 amostras (5,4%). No entanto, estas estirpes levantam preocupações pois são habitantes normais da pele e mucosas, nomeadamente da mucosa nasal, onde muitas vezes co-existem com os *S. aureus* nos portadores sãos e há estudos que levantam a hipótese do gene *mec*A poder ser sujeito a transferência horizontal entre *Staphylococcus*[10].

Todas as estirpes de *S. aureus* isoladas apresentaram susceptibilidade à mupirocina, o que está de acordo com estudos recentes que demonstram que a prevalência de resistência à mupirocina é actualmente ainda muito baixa[7]. A mupirocina é um antibiótico de uso tópico comercializado numa pomada nasal a 2% (Bactroban Nasal; GlaxoSmithKline), que é utilizado por aplicação directa na mucosa nasal, ao nível das narinas anteriores, para erradicação dos portadores nasais de *S. aureus* e para tratamento de infecções na pele[26,27]. Apesar da prevalência de resistência à mupirocina ser actualmente ainda muito baixa[7], há uma preocupação recente em entender melhor esta resistência e a sua implicação na descontaminação dos portadores nasais.



Há dois tipos de resistência à mupirocina, a resistência de baixo nível (geralmente associada com uma mutação no gene que codifica a enzima alvo e que corresponde a MIC de 8 a 256 µg/ml), e a resistência de alto nível (com MIC > 512µg/ml) e que é mediada por um plasmídeo contendo um gene que codifica uma isoleucil--tRNA sintetase diferente, sem afinidade para a mupirocina. A resistência de alto nível, por ser mediada por um plasmídeo, levanta mais preocupações acerca da transmissão[26,27].

As estirpes susceptíveis são as que apresentam MIC ≤4 µg/ml ou que formam halos de inibição ≥14 mm com discos de 5µg de mupirocina. As estirpes que formam halos <14 mm são consideradas resistentes, não sendo estes discos adequados para determinar se a resistência é de alto ou de baixo nível. Actualmente não há ainda critérios definidos para, recorrendo ao método de difusão em disco, discriminar os três tipos de susceptibilidade à mupirocina. Estudos recentes sugerem o uso de discos de 5 e 200 µg para este fim[28].

Os dados disponíveis actualmente sugerem que as estirpes que apresentam resistência de baixo nível à mupirocina são ainda susceptíveis às concentrações usadas na descontaminação nasal, pois a pomada nasal contém uma concentração muito maior (20000µg/ml) do que o MIC destas estirpes[28].

No entanto, o recurso à descontaminação nasal com mupirocina, em estirpes sensíveis, dos profissionais de saúde portadores de

MRSA é um tema muito controverso. Por um lado a recolonização é um fenómeno extremamente comum, o que leva muitas vezes ao insucesso da descontaminação nasal com mupirocina na prevenção de infecções nosocomiais[7]. Por outro lado, há evidências de que a descontaminação nasal é benéfica na redução de infecções nosocomiais por MRSA, quando o nariz é o único local de colonização (o que é frequente nos profissionais de saúde), pois é diminuída a transmissão através das mãos (29,30). O esquema para descontaminação consiste em aplicar mupirocina na mucosa nasal duas vezes por dia, durante 5 dias consecutivos. Se for uma estirpe susceptível à mupirocina, obtêm-se taxas de eliminação de 91% logo após o tratamento[7].

A melhor forma de prevenir as infecções nosocomiais por MRSA e a solução definitiva para este patogénico seria o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o *S. aureus*. A descontaminação dos portadores nasais com mupirocina, seguida de uma vacina que prevenisse a recolonização seria uma arma importantíssima no controlo de infecção por esta bactéria[31].

Neste momento, medidas simples e inquestionavelmente eficazes que se podem tomar a nível hospitalar são as que visam uma melhoria das práticas de higiene, como a desinfecção frequente das mãos com um anti-séptico com álcool, antes e depois do manuseamento dos doentes, nomeadamente a nível dos enfermeiros e auxiliares de acção médica, e a descontaminação frequente do ambiente hospitalar, para prevenir a transmissão não só de *S. aureus* mas também de outras bactérias patogénicas[30].

Os valores de colonização por MRSA obtidos neste estudo indicam que muitos profissionais de saúde do Hospital Infante D. Pedro podem estar em risco de transmitirem esta bactéria aos doentes com quem estabelecem contacto. Também deve ser considerado o risco de eles mesmos adquirirem uma infecção por MRSA pois como já foi referido, a maioria de infecções invasivas por *S. aureus* têm origem endógena, resultando da colonização nasal[6].

/ Bibliografia

1. Saginur R, Suh KN. "*Staphylococcus aureus* bacteraemia of unknown primary source: Where do we stand?". *Int J Antimicob Agents* 2008; 32S: S21-5.

2. Chambers HF. "The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus". Emerging Infect Dis* 2001; 7(2):178-82.

3. Casey AL, Lambert PA, Elliott TSJ. "Staphylococci". *Int J Antimicob Agents* 2007; 29(Suppl.3):S23-32.

4. Boynukara B, Gulhan T, Guturk K, Alisarli M, Ogun E. "Evolution of slime production by coagulase negative staphylococci and enterotoxigenic characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various human clinical specimens". *J Med Microbiol* 2007; 56:1296-300

5. Ferrara AM. "Treatment of hospital-acquired pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus". Int J Antimicob Agents* 2007; 30:19-24.

5. Mainous III AG, Hueston WJ, Everett CJ, Diaz VA. "Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002". *Ann Fam Med* 2006; 4(2):132-7.

7. Wertheim HFL, Verveer J, Boelens HAM, van Belkum A, Verbrugh HÁ, Vos MC. "Effect of Mupirocin Treatment on Nasal, Pharyngeal and Perineal Carriage of *Staphylococcus* in Healthy Adults". *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(4):1465-7.

8. Bisaga A, Paquette K, Sabatini L, Lovell EO. "A Prevalence Study of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization in Emergency Department Health Care Workers". *Ann of Emerg Med* 2008; 52(5):525-8.

9. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, et al. "Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)". *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:1000-18.

10. Layer F, Ghebremedhin B, König W, König B. "Heterogeneity of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Strains at a German University Hospital Implicates the Circulating-Strain Pool as a Potential Source of Emerging Methicillin-Resistant *S. aureus* Clones". *J Clin Microbiol* 2006; 44(6):2179-85.

11. Hsu DI, Hidayat LK, Quist R, Hindler J, Karlsson A, Yusof A, et al. "Comparison of method-specific vancomycin minimum inibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of meticilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections". *Int J Antimicob Agents* 2008; 32:378-85.

12. Revazishvili T, Bakanidze L, Gomelauri T, Zhgenti E, Chanturia, Kekelidze M, et al. "Genetic Background and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in the Republic of Georgia". *J Clin Microbiol 2006*; 44(10):3477-83.

13. Gould IM. "Clinical relevance of increasing glycopeptide MICs against *Staphylococcus aureus*". *Int J Antimicob Agents* 2008; 31:1-9

14. Polyzou A, Slavakis A, Pournaras S, Maniatis NA, Sofianou D, Tsakris A. "Predominance of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone susceptible to erythromycin and several other non-ß-lactam antibiotcs in a Greek hospital". *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 231-4.

15. Georgopapadakou NH. "Penicillin-Binding Proteins and Bacterial Resistance to ß-Lactams". *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(10):2045-53.

16. Van Griethuysen A, Pouw M, van Leeuwen N, Heck M, Willemse P, Buiting A, et al. "Rapid Slide Latex Agglutination Test for Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus". J Clin Microbiol* 1999; 37(9):2789-92.

17. Samra Z, Ofir O, Shmuely H. "In vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* to daptomycin and other antibiotics". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26:363-5.

18. Semret M, Miller MA. "Topical Mupirocin for Erradication MRSA Colonization With Mupirocin-Resistant Strains". *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22(9):578-80.

19. Weist K, Cimbal AK, Lecke C, Kampf G, Rüden H, Vonberg RF. "Evaluation of six agglutination tests for *Staphylococcus aureus* identification depending upon local prevalence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)". *J Med Microbiol* 2006; 55:283-90.

20. Krishnan MY, Manning EJB, Collins MT. "Constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and their association with methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA): experience from a tertiary hospital in Nepal". *Int J Antimicob Agents* 2009; 33:183-92.

21. Cetin ES, Gunes H, Kaya S, Aridogan BC, "Demirci M. Macrolide-lincosamide-streptogamin B resistance phenotypes in clinical staphylococcal isolates". *Int J Antimicob Agents* 2008; 31:364-8.

22. Hooper DC. "Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci". *Lancet Infect Dis* 2002; 2:530-8.

23. Schmitz FJ, Fluit AC, Gondolf M, Beyrau R, Lindenlauf E, Verhoef J, et al. "The prevalence of aminoglycoside resistance and corresponding resistance genes in clinical isolates of staphylococci from 19 European hospitals". *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:253-59.

24. Sule O, Brown NM, Willocks LJ, Day J, Shankar S, Palmer CR, et al. "Fusidic acid-resistant *Staphylococcus aureus* (FRSA) carriage in patients with atopic eczema and pattern of prior topical fusidic acid use". *Int J Antimicob Agents* 2007; 30:78-82.

25. Collignon P, Turnidge J. "Fusidic acid in vitro activity". *Int J Antimicob Agents* 1999;12:S45-58.

26. Chaves F, Martínez JG, de Miguel S, Otero JR. "Molecular Characterization of Resistance to Mupirocin in Methicilin-Susceptible and –Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus* form Nasal Samples". *J Clin Microbiol* 2004; 42(2):822-4.

27. Gadepalli R, Dhawan B, Mohanty S, Kapil A, Das BK, Chaudhry R, et al. "Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* in na Indian hospital". *Diagon Microbiol Infect Dis* 2007; 58:125-7.

28. De Oliveira NEM, Cardozo APCM, Marques EA, dos Santos KRN, de Marval MG. "Intrepretive criteria to differentiate low- and high-level mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus*". *J Med Microbiol* 2007; 56:937-9.

29. Gemmell CG, Edwards DI, Fraise AP, Gould FK, Ridgway GL, Warren RE. "Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK". *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:589-608.

30. "Harbarth S. Controlo f endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-recent advances and future challenges". *Clin Microb Infect* 2006; 12:1154-62.

31. Schaffer AC, Lee JC. " Vaccination and passive immunisation against *Staphylococcus aureus*". *Int J Antimicob Agents 2008*; 32S:S71-8.

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Sífilis Congénita *Congenital Syphilis*

/ M. Ferreira / P. Janeiro / T. Aguiar / R. Barroso / M. J. Brito

Departamento de Pediatria. Hospital Fernando Fonseca. Amadora

Correspondência:

Marta Ferreira
Departamento de Pediatria do Hospital Fernando Fonseca
Rua José Régio, 36
IC 19 2700 Amadora
Portugal

Telefone: 21 4348299
e-mail: bazaruto@hotmail.com

/ Resumo

Introdução: Programas de rastreio e a existência de terapêutica eficaz não têm alterado a morbilidade da sífilis que permanece um importante problema de saúde pública.

Objectivo: Identificar factores de risco para a sífilis materna e calcular o risco de sífilis congénita à nascença num hospital da zona metropolitana de Lisboa.

Métodos: Estudo retrospectivo, durante seis anos, dos recém-nascidos filhos de mães com VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) e/ou TPHA (*Treponema pallidum particle hemaglutination*) positivos na gravidez. Analisaram-se parâmetros sociodemográficos, história da gravidez, comorbilidades maternas, diagnóstico, terapêutica e evolução dos recém-nascidos.

Resultados: Total de 187 mães e 103 recém-nascidos VDRL positivos. Quarenta e nove por cento das mães tinham entre 26 e 35 anos, 46% eram de origem africana e 65% apresentavam escolaridade incompleta. Vinte e sete (14,4%) apresentavam factores de risco: co-infecção VIH (18), hepatite B (11), hepatite C (3), toxicodependência (4) e alcoolismo (1). A gravidez foi vigiada em 88% dos casos e 44,4% realizaram terapêutica correcta. Registaram-se 66 (64%) casos de sífilis congénita provável e nenhum caso de sífilis congénita definitiva.

Conclusão: A ocorrência de sífilis congénita e o importante número de grávidas com serologia positiva para VDRL indicam que os programas de cuidados pré-natais e as medidas de prevenção de doenças sexualmente transmitidas são insuficientemente cumpridas.

Palavras-chave: prevenção, cuidados pré-natais, diagnóstico serológico, penicilina.

/ Abstract

Introduction: Despite the availability of preventive and therapeutic approaches, syphilis continues to present a significant public health problem.

Objective: identify risk factors for the occurrence of maternal syphilis and calculate the risk of congenital syphilis at birth in a hospital of the metropolitan area of Lisbon.

Material and Methods: Retrospective study during six years of mothers with VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) and / or TPHA (T.pallidum particle hemaglutination) positive titters and their newborns. Analysed socio-demographic

parameters, prenatal care, maternal co-morbidities, diagnostic approach, therapy and clinical outcome of newborns.
Results: *Total of 187 mothers and 103 newborns VDRL positive. Forty-nine percent of the mothers were 26 to 35 years, 46% were of African origin and 65% had incomplete education. Twenty-seven mothers had risk factors: HIV infection (18), hepatitis B (11), hepatitis C (3), drug abuse (4) and alcoholism (1). Most (88%) pregnant women had pre-natal care but only 44.4% were correctly treated. There were 66 (64%) cases of probable congenital syphilis and no case of definite congenital syphilis.*
Commentary: *The occurrence of syphilis and the important number of VDRL positive pregnant women, indicate that the prenatal screening programs, as well as preventive measures of sexual transmitted diseases, are still not totally accomplished.*

Key-words: *prevention, prenatal care, serologic diagnosis, penicillin.*

/ Introdução

A sífilis é uma doença infecciosa provocada pelo *Treponema pallidum*, reconhecida desde o século XV e identificada posteriormente no século XX. Em 1942, a introdução da penicilina levou a um declínio significativo da doença. Contudo, apesar da existência de uma terapêutica eficaz, do baixo custo e da disponibilidade de meios de diagnóstico relativamente sensíveis, a sífilis tem persistido quase inalterável ao longo dos anos, representando ainda um importante problema de saúde pública.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 349 milhões de pessoas tenham doenças de transmissão sexual (DTS) e que destas, cerca de 12 milhões estejam infectadas com sífilis, a maioria (90%) em países em vias de desenvolvimento.[1] Modificações em larga escala dos comportamentos de risco, em resposta à pandemia emergente do vírus da imunodeficiência humana (VIH), levaram no início dos anos 90 à diminuição da incidência de várias DTS.
No entanto, nos últimos dez anos na Europa e nos Estados Unidos, tem-se registado um aumento de casos de sífilis primária e secundária.[2] A imigração de países com elevada prevalência, a prostituição, o uso de drogas ilícitas, comportamento sexual de risco e principalmente a co-infecção pelo VIH são factores associados a esta situação.[2,3] Ocorrem mais casos nas minorias étnicas, homossexuais e heterosexuais de grupos etários mais jovens com maior actividade sexual, por vezes associados a outros comportamentos de risco. Há um predomínio da infecção na população feminina em idade fértil[4,5] com consequente aumento do risco de infecção congénita[6,7].

Nos Estados Unidos, entre 2004-2007, registou-se uma maior prevalência da sífilis primária e secundária em mulheres entre os 20-24 anos (3.5:100.000 habitantes),[8] sendo a prevalência no grupo etário dos 15-19 anos de 1.7:100.000 habitantes.[7] O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), revela que nos Estados Unidos, entre 2006-2007, a incidência de sífilis congénita aumentou 15,5% como também ocorreu em vários países europeus.[9]

De acordo com critérios clínicos, laboratoriais e imagiológicos o CDC (1996) classifica a sífilis congénita como definitiva ou provável e precoce ou tardia, se o início das manifestações clínicas ocorre antes ou depois dos dois anos de idade.[10]

Foi objectivo deste estudo identificar factores de risco para a ocorrência de sífilis materna e calcular o risco de sífilis congénita num hospital da zona metropolitana de Lisboa.

/ Material e Métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo entre Janeiro 2001 e Dezembro de 2006 (6 anos) de mães com testes serológicos não treponémicos (VDRL-*Venereal Disease Research Laboratory*)

e/ou treponémicos (TPHA-*-Microhemagglutin-Treponema pallidum)* positivos na gravidez e respectivos recém-nascidos.

Analisaram-se os processos clínicos acessíveis (das mães e recém-nascidos), colhendo-se de forma padronizada dados sociodemográficos, cuidados pré-natais (vigilância da gravidez e terapêutica da mãe e parceiro), co-morbilidades maternas, diagnóstico, terapêutica e evolução dos recém-nascidos.

A sífilis materna classificou-se em definitiva ou provável, dependendo da identificação ou não do agente:

- primária provável: clínica compatível (lesões ulcerosas) e VDRL e/ou TPHA positivo;
- secundária provável: clínica compatível (lesões mucocutâneas difusas) e VDRL com título ≥ 1:4;
- sífilis latente: ausência de clínica e diagnóstico prévio de sífilis com VDRL positivo e/ou diagnóstico e terapêutica prévia de sífilis mas com título de VDRL aumentado. A sífilis latente divide-se ainda em precoce ou tardia consoante a altura provável da infecção (mais ou menos de 12 meses).

A sífilis congénita classificou-se em provável nos seguintes casos:

- recém-nascidos com VDRL positivo e uma das seguintes condições: evidência clínica ou radiológica de sífilis, VDRL positivo no líquido cefalorraquidiano (LCR), proteinorráquia sem causa aparente, título de VDRL quatro vezes superior ao materno e anticorpos anti-treponema (IgM) positivo.

Os recém nascidos foram ainda divididos de acordo com critérios do CDC em três grupos de risco:

- Grupo I: filhos de mães não tratadas, tratadas incorrectamente ou sem descida de títulos serológicos comprovativos de cura.
- Grupo II: mães tratadas correctamente mas sem controlo serológico posterior.



- Grupo III: mães tratadas correctamente e com títulos serológicos compatíveis com cura.

Considerou-se terapêutica incorrecta a utilização de outro fármaco que não a penicilina, a realização de menos de três tomas deste medicamento e/ou tratamento efectuado no último mês de gravidez.

O risco de sífilis congénita à nascença foi calculado pela proporção do total dos nascimentos e dos filhos de mães com sífilis.

Todos os recém-nascidos realizaram VDRL, hemograma e radiografia dos ossos longos, e os que apresentaram VDRL positivo realizaram adicionalmente função hepática, função renal, radiografia torácica, observação oftalmologica e quantificação de VDRL no LCR. Foram medicados com penicilina durante 10 dias e posteriormente seguidos durante doze meses.

A análise estatística foi realizada com *SPSS 13.0 for Windows*. Foi calculada média

QUADRO I – RESULTADOS MATERNOS	
Parâmetros Sociodemográficos	
Grupo etário	**Número casos / percentagem**
≤ 18	5 (5%)
19-25	62 (33,2%)
26-35	91 (48,7%)
≥ 35	29 (5,55)
Naturalidade	
portuguesa	80 (42,8%)
africana	86 (46%)
outra	12 (6,4%)
Escolaridade	
Sem estudos	1 (0,5%)
primária completa	37 (19,8%)
secundária incompleta	84 (44,9%)
secundária completa	21 (11,2%)
licenciatura	4 (2,1%)
Factores de risco	
HIV	18 (9,6%)
VHB	11 (5,9%)
VHC	3 (1,3%)
Toxicodependência/alcolismo	5 (2,6%)
≥ 2 factores de risco	4 (2,1%)
Cuidados Pré-natais	
Vigilância da gravidez	165/187 (88,2%)
Controlo serológico	92/165 (55,7%)
Título VDRL estável	31/92 (33,6%)
Título VDRL a aumentar	25/92 (27%)
Titulo VDRL a diminuir	36/92 (39%)
Terapêutica materna	119/165 (72%)
Terapêutica materna correcta	83/119 (69,7%)
Terapêutica paterna	27/165 (16,3%)

e desvio padrão para variáveis numéricas com distribuição normal, e mediana, valores mínimo e máximo para outras variavéis. A análise comparativa foi realizada pelo teste *Qui-Quadrado.*

/ Resultados

De um total de 28480 partos, diagnosticaram-se 187 (0,65%) mães com VDRL positivo e 103 (55%) recém-nascidos VDRL positivos. Todas as mães apresentavam critérios de sífilis latente e destas 86,6% sífilis latente precoce e 13,4% sífilis latente tardia.

O risco global de nados-vivos com sífilis foi de 0,65%, mantendo-se relativamente estável ao longo dos anos. Ocorreram 66 (64%) casos de sífilis congénita provável e nenhum caso de sífilis congénita definitiva. Figura 1.

Resultados maternos (Quadro I):

A mediana de idade materna foi 28 anos (mínimo-16; máximo-46). A maioria (48,7%) tinha entre 26 e 35 anos e apenas cinco (2,7%) menos de 18 anos. Em 46% casos as mães eram de origem africana: Cabo Verde (21), Angola (9), Guiné Bissau (9), São Tomé (2), Senegal (1). Quatro mães eram da Roménia, uma da Moldávia e quatro do Brasil. A maioria (65%) tinha escolaridade incompleta: analfabetismo (1); primária completa (37), secundária incompleta (84). Vinte e uma tinham ensino secundário completo e apenas quatro mães tinham ensino superior. Registaram-se factores de risco em 27 (14,4%) casos: infecção VIH (18), hepatite B (11), hepatite C (3), toxicodependência (4) e alcoolismo (1). Quatro apresentavam mais do que um factor de risco associado.

A gravidez foi vigiada em 88% dos casos. A gravidez não vigiada ocorreu principalmente em mães com menos de 25 anos (59,1% vs 40,9%,p=0,016) e não se encontrou associação significativa com o grau de escolaridade ou país de origem das mães. Quadro II.

A maioria (63,9%) tinha feito penicilina mas apenas em 44,4% dos casos o tratamento foi correcto; os principais erros na terapêutica foram o número insuficiente de doses administradas (29), terapêutica menos de trinta dias antes do parto (4) e terapêutica com eritromicina (3). Não se encontrou associação significativa entre a realização de terapêutica correcta e a idade, escolaridade ou país de origem das mães. Quadro II.

Do total das grávidas tratadas apenas 49,2% realizaram controlo serológico e destas houve descida dos títulos em 39%, títulos estáveis em 33,6% e aumento dos títulos em 27%. Não dispomos de informação relativa a notificação dos casos maternos.

Resultados do recém-nascido (Quadro II):

A mediana da idade gestacional foi de 39 semanas (mínimo 30 e máximo 41) e ocorreram 14 (7,5%) partos pretermo (≤ 37 semanas de gestação). O peso médio ao nascer de 3150±476

gramas e sete (13%) recém-nascidos eram leves para a idade gestacional (peso ≤ 2500 gramas). Não se registaram nado-mortos.

Do total de recém-nascidos com critérios de sífilis provável, a maioria (58%) eram filhos de mães não tratadas (38/103) ou incorrectamente tratadas (22/103); apenas duas crianças tinham títulos de VDRL quatro vezes superiores aos maternos e uma tinha clínica compatível com sífilis congénita. O único caso sintomático era filho de uma mãe jovem (24 anos), portuguesa, com gravidez não vigiada, com sépsis, meningite e síndrome nefrótico no primeiro dia de vida.

Foram realizadas cinco notificações de doença infecciosa.

Relativamente aos grupos de risco, 74 (71,8%) foram incluídos no Grupo I, 23 (22,3%) no Grupo II e 6 (5,8%) e no Grupo III. O quadro III apresenta os principais resultados dos recém-nascidos.

/ Discussão

Em Portugal, de acordo com dados da Direcção Geral de Saúde,[11] entre 2000 e 2007 foram notificados 1037 casos de sífilis precoce e 200 de sífilis congénita, com um número estável de casos ao longo dos anos tal como aconteceu na nossa revisão.

Dos casos de sífilis precoce registados na DGS, 18% e 39,5% ocorreram entre os 15-24 e 25-35 anos, respectivamente, havendo no primeiro grupo, um predomínio no sexo feminino. Em pediatria, a sífilis adquirida ocorre sobretudo em adolescentes, com predominância na população feminina entre os 15-19 anos, coincidindo com o início da actividade sexual.[12] No nosso estudo, também se registou um elevado número de casos (33%) no grupo etário dos 19-25 anos, e cinco casos ocorreram em adolescentes com menos de 18 anos.

Neste estudo, o número de notificações de casos de doenças de declaração obrigatória foi claramente insuficiente. Em Portugal, os médicos subnotificam este tipo de doenças; entre 2003 e 2007 houve uma diminuição de 26,2% do número de notificações e este problema tem com certeza consequências em termos de saúde pública.[11]

Um estudo da Maternidade Alfredo da Costa (MAC)[6] revelou uma prevalência de 5,6% de risco para a sífilis congénita à nascença que se tem mantido estável ao longo dos últimos 12 anos. Neste estudo, a prevalência do risco de sífilis à nascença foi muito inferior (0,65%) o que poderá relacionar-se com a diferença da amostra nos dois estudos.

Os números de sífilis congénita são preocupantes e indicam que os programas de cuidados pré-natais não são cumpridos correctamente. A nível mundial existem várias medidas para a prevenção da transmissão vertical do VIH mas, paradoxalmente, apesar dos programas de prevenção custo-eficácia, o mesmo não se verifica com a sífilis congénita. De acordo com a OMS, estima-se que a sífilis afecte mais recém-nascidos do que qualquer infecção neonatal major, incluindo a infecção por VIH.[9] A ausência de cuidados pré-natais é o principal factor, uma vez que a terapêutica adequada durante a gravidez previne a transmissão vertical em 98% dos casos. Apenas 68% das mulheres residentes em países desenvolvidos recebem cuidados pré-natais, e destas, metade só a partir do primeiro trimestre;[13] a maioria das mães que não recebe cuidados pertence ao grupo etário dos 19-25 anos.

No nosso estudo, a maioria das mães era de origem africana e 10% estavam co-infectadas pelo VIH. Esta população, muitas vezes residente em Portugal há pouco tempo e de forma ilegal, pode ter acesso limitado aos serviços de saúde e menor aceitação cultural às medidas de prevenção adequadas. A infecção pelo VIH e a sífilis afectam populações e grupos de risco semelhantes, sendo a coinfecção comum.[1] As potenciais interacções entre as duas infecções incluem a aceleração da história natural de cada uma das doenças e alterações nas manifestações clínicas, laboratoriais, evolução e terapêutica da sífilis.[14] No doente VIH a sífilis pode apresentar-se de forma atípica com elevada taxa de sífilis primária assintomática e consequentemente sífilis secundária com manifestações mais graves com elevada incidência de neurosífilis e alterações oculares.[1,10]

A penicilina permanece o fármaco de primeira linha, sendo o único eficaz na neurosífilis e tratamento e prevenção da sífilis congénita. O CDC (2002) preconiza uma dose única (2.4 milhões de unidades) de penicilina G benzantínica para a sífilis

QUADRO II – FACTORES DE RISCO MATERNOS ASSOCIADOS A DEFICIENTES CUIDADOS PRÉ-NATAIS.

Factores maternos	Idade ≤25 anos			Escolaridade incompleta			Origem africana		
	Sim	Não	(p)	Sim	Não	(p)	Sim	Não	(p)
Gravidez não vigiada	59,1	40,9	0,016	94,1	5,9	0,171	63,6	36,4	0,264
Terapêutica materna	32,8	67,2	0,160	83	17	0,593	53,9	46,1	0,399
Terapêutica correcta	32,5	67,5	0,547	84,1	15,9	0,440	57,5	42,5	0,168

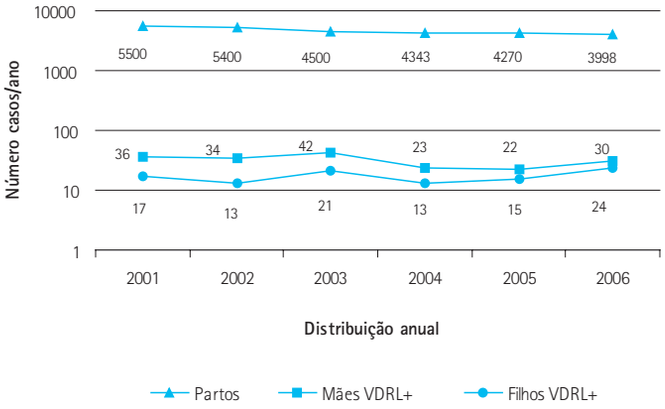


Figura 1 – Distribuição relativa ao número de partos e pares mães-filho VDRL positivo

QUADRO III – RESULTADOS DOS RECÉM-NASCIDOS

Variável	Número / percentagem
Parto termo (>37 semanas)	173/187 (92,5%)
Parto pré-termo (≤ 37 semanas)	14 (7,5%)
Baixo peso ao nascer (≤ 2500gramas)	13 (7%)
Título VDRL positivo	103 (55%)
Grupo de risco I	130 (69,5%)
Grupo de risco II	30 (16%)
Grupo de risco III	72 (14,4%)
Realização de terapêutica	178 (95%)



primária, secundária e latente precoce e três doses (7.2 milhões de unidades) na sífilis latente tardia ou de duração desconhecida.[9,16] Na gravidez, mantêm-se estas orientações terapêuticas. Existe alguma controvérsia relativamente ao tratamento com uma dose única, por se terem documentado casos de falência terapêutica, mas até à data não existem estudos comparativos entre dose e duração.[17] A distinção entre sífilis latente precoce ou tardia pode ser difícil, uma vez que o diagnóstico é retrospectivo e a maioria das grávidas desconhece a altura do contágio. Por outro lado, a dificuldade na interpretação das serologias maternas, por não haver um seguimento adequado e por se desconhecer a duração da infecção materna, faz com que maioria dos casos sejam interpretados como sífilis latente tardia, cujo tratamento é mais rigoroso, logo mais susceptível de não ser cumprido.

O tratamento correcto da sífilis engloba a avaliação (clínica e serológica) e o tratamento presuntivo dos parceiros sexuais da pessoa infectada. A forma (intramuscular) e a duração da terapêutica, a notificação e o tratamento dos parceiros sexuais, pode contribuir para a menor adesão terapêutica. Neste estudo, só um número insuficiente de mães (44%) realizara a terapêutica correcta e apenas 14,4% dos parceiros foram convocados para avaliação serológica e tratamento, e destes, apenas metade (48,8%) foi tratada. Esta ausência de cuidado com o parceiro sexual, poderá relacionar-se adicionalmente com uma maior actividade sexual por parte das mães mais jovens, por vezes com contactos sexuais ocasionais e/ou com múltiplos parceiros.

A ocorrência de sífilis primária ou secundária na gravidez, não tratada, pode resultar em perda fetal (aborto espontâneo ou nado-morto), prematuridade ou em infecção congénita precoce ou tardia como aconteceu neste estudo.[12,18] A OMS estima que anualmente, cerca de um milhão de gravidezes sejam afectadas pela sífilis e daí resultem 460.000 abortos ou nados mortos, 270.000 nados vivos com sífilis congénita e 270.000 recém-nascidos prematuros ou de baixo peso.[9,12] A transmissão vertical ocorre na

maioria dos casos *in útero* ou, mais raramente, durante o parto pela presença de lesões genitais maternas. O risco de transmissão está directamente relacionado com o estadio de sífilis materna, sendo 70-100% na sífilis primária, 40% na sífilis latente precoce e 10% na sífilis latente tardia (Lei de Kassowitz)[10,19].

As manifestações da sífilis congénita variam com a idade. No período neonatal, o espectro clínico varia de infecção assintomática (2/3 dos casos), como aconteceu nesta revisão em que a maioria das crianças eram assintomáticas, a sépsis fulminante ou morte peri-natal.[12] As manifestações clínicas resultam da disseminação hematogenea com envolvimento de quase todos os órgãos. O envolvimento ósseo (osteocondrite e periostite) e hepatomegália são as alterações mais frequentes[10] contrariamente ao nosso doente sintomático com sépsis, envolvimento do sistema nervoso central e renal. Na sífilis tardia, a clínica resulta da cicatrização da doença sistémica precoce ou representa reacções secundárias a um processo inflamatório persistente. A tríade de *Hutchinson* representa as manifestações mais características e inclui dentes incisivos rombos, queratite intersticial e surdez.[10]

A terapêutica no recém-nascido deve ser feita de acordo com o risco de infecção congénita à nascença. As orientações do CDC preconizam tratamento dos recém nascidos com evidência clínica ou radiológica de sífilis, com títulos de VDRL quatro vezes superiores aos maternos e em filhos de mães não tratadas ou tratadas incorrectamente e mães tratadas correctamente mas com títulos a aumentar.

Neste estudo, 178 (95%) recém-nascidos receberam tratamento durante dez dias, havendo indicação terapêutica apenas em 32 casos. A dificuldade na interpretação das serologias maternas, pode levar a um excesso quer na avaliação laboratorial e imagiológica como na abordagem terapêutica dos recém-nascidos.

/ Conclusão

A terapêutica correcta de sífilis na grávida, previne em 98% o risco de transmissão vertical e pode contribuir para a diminuição de morbilidade e mortalidade perinatal. O aumento de sífilis em mulheres em idade fértil, é indicador de que os programas de cuidados pré-natais assim como as medidas de prevenção de doenças sexualmente transmitidas ainda não são cumpridos correctamente.

/ Bibliografia

1. Lynn WA, Lightman S. "Syphilis and HIV: a dangerous combination". *Lancet* Infect Dis 2004; 4: 456-66.

2. Fenton KA, Lowndes CM. "Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union". *Sex Transm Inf* 2004; 80: 255-263.

3. Eurosurveillance 2004 (9) issue 12.

4. Cross A, Luck S, Patey R, Sharland M, Rice P, "Chakraborty R. Syphilis in London circa 2004: new challenges from an old disease". *Arch Dis Child* 2005; 90: 1045-1046.

5. Li Y, Gonik B. "Is congenital syphilis really congenital syphilis?" *Infect Diseas Obst and Gyneccol* 2006:1-4.

6. Jacinto S, Henriques M, Ferreira T, Carvalhosa G, Costa T, Marques Valido A. "A sífilis congénita ainda existe! Análise retrospectiva de 12 anos de uma grande maternidade". *Acta Pediatr Port* 2007; 38: 65-8.

7. Hyman EL. "Syphilis". *Pediatrics in Review* 2006; 27: 37-39.

8. Centers for Disease Control and Prevention. Sexualy Transmitted Disease Surveillance 2007 - *Syphilis Surveillance Report*, March 2009.

9. Walker GJA, Walker DG. "Congenital syphilis: A continuing but neglected problem". *Semin Fetal Neonat Med* 2007: 1-9.

10. Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL, editors. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Company 2004. p 1724-1742.

11. Estatísticas: Doenças de Declaração Obrigatória 2000/2007: Direcção Geral de Saúde; Lisboa 2007.

12. Woods CR. "Syphilis in children: Congenital and Acquired". *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16:245-257

13. Chaudhary M, Kashyap B, Bhalla P. "Congenital Syphilis, still a reality in 21st century: a case report". *Journal Medical Case Reports* 2007;I: 90.

14. Peeling RW, Hook EW. "The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited". *J Pathol* 2006; 208: 224-232.

15. Karp G, Schlaeffer F, Jotkowitz A, Riesenberg K. "Syphilis and HIV co-infection". *Europ J Int Med* 2009; 20: 9-13.

16. Sheffield JS, Sánchez PJ, Morris G, Maberry M, Zeray F, McInteire DD, Wendel GD. "Congenital syphilis after maternal treatment for syphilis during pregnancy". *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 569-73.

17. Goh BT. "Syphilis in adults". *Sex Transm Infect* 2005; 81: 448-452.

18. Walker DG, Walker GJA. "Forgotten but not gone: the continuing scourge of congenital syphilis". *Lancet Infec Dis* 2002; 2: 432-436.

19. Chakraborty R, Luck S. "Syphilis is on the increase: the implications for child health". *Arch Dis Child* 2008; 93; 105-109.

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

Doença Pneumocócica invasiva e resistência à penicilina e Cefotaxime

A propósito de um caso clínico bem sucedido

Invasive Pneumococcal disease and resistance topenicillin and Cefotaxime

Case report

/ G. Carvalheiras[1] / D. Anjo[2] / V. Dias[2]
/ R. Sousa[3] / T. Mendonça[4] / F. Farinha[4]

[1] Interna Complementar Medicina Interna
[2] Interna Complementar de Cardiologia
[3] Interna do Ano Comum
[4] Assistente Hospitalar Graduada de Medicina Interna
Unidade de Medicina 2B. Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto

Correspondência:
Graziela Carvalheiras
Serviço de Medicina 2B - Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto
Edifício neoclássico. Largo Prof. Abel Salazar
4099-001 Porto
Telefone: 22 2077500
e-mail: grazielacarvalheiras@sapo.pt

/ Resumo

A Doença Pneumocócica Invasiva continua a ser uma causa importante de morbilidade e mortalidade em todo o mundo. A emergência da resistência à penicilina e outros antibióticos surge como um desafio no seu tratamento.
Os autores descrevem o caso clínico de um homem de 51 anos, diabético e com consumo abusivo de álcool, que desenvolveu um quadro de Doença Pneumocócica Invasiva grave. O ponto de partida foi em otite média à direita, com invasão directa das meninges e abcesso cerebral único. Posteriormente, surgiu uma bacteriémia, com endocardite da válvula mitral e abcesso esplénico. A endocardite foi fulminante, com insuficiência mitral severa a exigir substituição cirúrgica. Pelas dimensões do abcesso esplénico, a esplenectomia foi inevitável.
O agente identificado nas hemoculturas e no líquido cefalorraquidiano foi o *Streptococcus pneumoniae*, resistente à penicilina (LCR, CIM ≥ 3 µg/ml) e cefotaxime (LCR, CIM = 2 µg/ml).
O doente apresentou recuperação clínica gradual, actualmente sem sequelas neurológicas e com insuficiência cardíaca em classe II da NYHA.
Os autores fazem uma revisão dos aspectos mais relevantes da epidemiologia, patogenia, factores predisponentes, síndromes clínicos, susceptibilidade antibiótica e prevenção da Doença Pneumocócica Invasiva.

Palavras-chave: Doença Pneumocócica Invasiva, resistência à penicilina, endocardite.

/ Abstract

Invasive Pneumococcal Disease is still an important cause of morbidity and mortality all over the world. The emergence of resistance to penicillin and other antibiotics shows itself as a challenge in its treatment.
The authors report the case of a 51-year-old man, diabetic and alcoholic, who presents a serious Invasive Pneumococcal Disease. Right acute otitis media was the primary event, with meningitis by direct extension, and unique brain abscess. Further bacteremia with mitral endocarditis and spleen abscess were diagnosed. Endocarditis was fulminating, with severe valvular insufficiency, requiring surgical

replacement on the 19th day of the hospital stay. Splenectomy was also done, because of the abscess dimension.
Streptococcus pneumoniae resistant to penicillin (CSF, MIC ≥ 3 µg/ml) and cefotaxime (CSF, MIC = 2 µg/ml) was identified by blood and CSF cultures.
Patient presented a gradual recovery, at present without neurologic sequels and cardiac insufficiency at class II-NYHA.
The authors review the most relevant aspects of epidemiology, pathogenic mechanisms, predisposing factors, clinical syndromes, antibiotic susceptibility and prevention of Invasive Pneumococcal Disease.

Key-words: *Invasive Pneumococcal Disease, penicillin-resistance, endocarditis.*

/ Introdução

O *Streptococcus pneumoniae* é um agente colonizador da nasofaringe, sendo um responsável comum de pneumonia, sinusite, otite média e meningite, bem como de outras síndromes clínicas pouco frequentes como endocardite, artrite séptica e peritonite.

A Doença Pneumocócica Invasiva (DPI) caracteriza-se pelo isolamento do *S. pneumoniae* num produto estéril, como sangue, líquido pleural ou líquido cefalorraquidiano (LCR).

Vários estudos realizados a nível mundial descrevem uma incidência anual de 15 casos de DPI por cada 100 000 pessoas e cerca de 1 milhão de mortes anualmente. [1,2]

Casos poucos comuns de DPI ocorriam frequentemente na era pré-antibiótica, mas rapidamente diminuíram desde a introdução da penicilina. Infelizmente, nas últimas décadas a morbilidade e mortalidade associadas a DPI têm vindo a aumentar, apesar das disponibilidades antibióticas e dos avanços técnicos da Medicina. Apontam-se como variáveis responsáveis, o número crescente de novos casos de infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), assim como a emergência de estirpes de Pneumococo resistentes aos antibióticos. [3,4,5]

Várias condições predispõem à DPI, por interferirem na capacidade de resposta imunológica do hospedeiro. São exemplos: o alcoolismo, a diabetes mellitus, a infecção pelo VIH, a esplenectomia, as doenças do tecido conectivo, a corticoterapia e o uso de drogas endovenosas. [3,6,7]

Os autores descrevem o caso clínico de um doente de 51 anos, diabético e alcoólico, que desenvolveu uma DPI por *S. pneumoniae* resistente a penicilina (LCR, CIM ≥ 3 µg/ml) e cefotaxime (LCR, CIM = 2 µg/ml). O ponto de partida identificado foi uma otite média com invasão meníngea directa e abcesso cerebral único, com posterior bacteriémia, endocardite fulminante da válvula mitral e abcesso esplénico.

/ Caso Clínico

Homem de 51 anos, com hábitos etílicos marcados (>180 g/dia) e diabetes mellitus tipo 2 diagnosticada há 4 anos e com mau controlo metabólico (Hb A1C = 8,9%). Iniciou otalgia e otorreia purulenta à direita, associadas a hipoacúsia, tendo sido medicado com flucloxacilina, com melhoria discreta dos sintomas. Cerca de 3 semanas depois, apresentou cefaleia occipital, de carácter intermitente, que posteriormente se fez acompanhar de fotofobia, náuseas e vómitos esporádicos. Simultaneamente referiu febre com arrepios e deterioração progressiva do estado de consciência, com sonolência e confusão. No dia em que foi levado ao SU apresentou uma crise convulsiva tónico-clónica generalizada.

Na admissão encontrava-se vigil, mas confuso e pouco colaborante. Febril (38,4ºc), apresentava rigidez da nuca e discreto apagamento do sulco nasogeniano direito. Sem défices

motores. A pesquisa de sensibilidades e a marcha não foram avaliadas, dado o estado pouco colaborante do doente. A auscultação cardíaca revelava um sopro sistólico, no foco mitral, grau II/VI, sem irradiação. Não eram descritas outras alterações ao exame objectivo.

Analiticamente com leucócitos = 15.660 /µL (N = 4.00-11.00) e neutrófilos = 88,9% (N = 40,0-75,5), PCR = 413,8 mg/L (N <5,0), DHL = 340 U/L (N=135-225). Glicemia = 210 mg/dl (N=70-105). Sem alterações do ionograma, função renal ou hepática.

Pela suspeita de meningite, foi realizada punção lombar (PL). O líquido cefalorraquidiano (LCR) era turvo, com proteínas = 2,94 g/L (N <0,45) e glicose = 0,91 g/L (N= 0,39-0,71), leucócitos = 4120 cel/µL com neutrófilos = 3790 cel/µL. A coloração pelo Gram identificou diplococos, pelo que se iniciou vancomicina (1g, 12-12h, IV) e ceftriaxone (2g, 12-12h, IV). A pesquisa do antigénio do Pneumococo na urina foi positiva. Posteriormente foi isolado o *S. pneumoniae* no sangue e LCR, resistente à penicilina (LCR, CIM ≥ 3 µg/ml) e cefotaxime (LCR, CIM = 2 µg/ml). Mantivemos a terapêutica antibiótica dupla, dado o sinergismo para concentrações adequadas de vancomicina no LCR.

A serologia para VIH foi negativa.

A tomografia axial computorizada (TAC) cerebral realizada previamente à PL descreve: "opacificação do ouvido médio e mastóide à direita, com erosão da cortical óssea interna; hipodensidades no centro semi-oval e substância branca subcortical frontal, à esquerda, sem efeito de massa, sugerindo sequelas de lesões isquémicas; a lesão no centro semioval apresenta ligeira captação de contraste à periferia" (Figura 1). A suspeita de lesão abcedada foi confirmada por ressonância magnética cerebral.

Para melhor caracterização do sopro sistólico realizou ecocardiograma transtorácico que colocou a suspeita de endocardite da válvula mitral (VM), posteriormente confirmada por ecocardiograma transesofágico (ETE), o qual descreve "volumosa massa (14*17mm) na face auricular do folheto anterior da VM, de contornos irregulares, móvel, condicionando alguma obstrução ao fluxo de enchimento do ventrículo esquerdo, com gradiente AE/VE médio de +/- 6 mmHg; não se visualiza jacto de regurgitação mitral valorizável". Após diagnóstico de endocardite, iniciou gentamicina (3 mg/ kg/ IV, dividida em duas tomas diárias), mantendo vancomicina e ceftriaxone.

Ao 7.º dia de internamento, apesar de apirexia sustentada, o doente mantinha-se prostrado e os parâmetros inflamatórios analíticos persistiam elevados. Por TAC, identifica-se uma colecção líquida esplénica, sugestiva de abcesso (Figura 2). Associou-se a rifampicina (600 mg/ dia/ oral). As hemoculturas sucessivas foram estéreis.

Ao 16.º dia de internamento, o doente apresentou quadro de edema agudo do pulmão. Repetiu ETE que mostrou haver aumento da vegetação na VM (28*19 mm), com prolapso exuberante do folheto anterior condicionando insuficiência mitral severa (estimada área > 14 cm^2) e nova massa aderente às cordas tendinosas do folheto anterior (13*8 mm) (Figura 3).

TABELA I – CONDIÇÕES QUE PREDISPÕEM À INFECÇÃO POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Defeito na formação de anticorpos
Primário
Agamaglobulinémia congénita
Hipogamaglobulinémia variável comum
Deficiência selectiva de IgG
Secundário
Mieloma múltiplo
Leucemia linfocítica crónica
Linfoma
Infecção pelo VIH
Défice de complemento (primário ou secundário)
Diminuição ou ausência de C1, C2, C3, C4
Défice de neutrófilos
Primário
Neutropenia cíclica
Secundário
Neutropenia induzida por drogas
Anemia aplástica
Defeito funcional de PMN´s
Alcoolismo
Cirrose hepática
Diabetes mellitus
Corticoterapia
Insuficiência renal
Defeito na *clearance* do *S. pneumoniae*
Primário
Asplenia congénita, hiposplenia
Secundário
Esplenectomia
Anemia de células falciformes
Multifactorial
Idade (crianças e idosos)
Corticoterapia
Desnutrição
Cirrose hepática
Insuficiência renal
Diabetes mellitus
Alcoolismo
Doenças crónicas, internamentos
Stress
Exposição ao frio
Infecção respiratória prévia
Influenza, outros.
Risco acrescido para infecções
Instituições sociais, militares, prisões.
Condições inflamatórias
Tabagismo, Asma, DPOC.

Abreviaturas: VIH, Vírus de Imunodeficiência Humana; PMN, Leucócitos polimorfonucleares; DPOC, Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica.

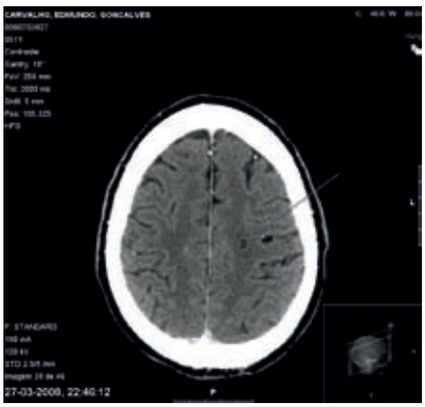


Figura 1 — Tomografia axial computorizada cerebral. Lesão no centro semioval direito, de contornos regulares, com captação à periferia (seta).

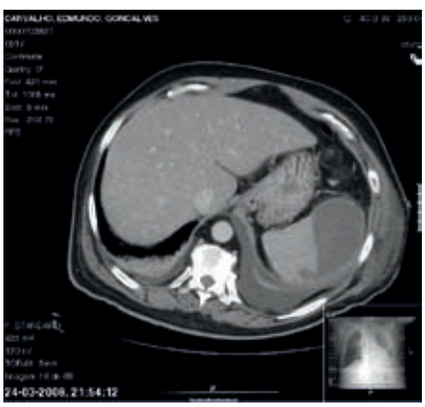


Figura 2 — Tomografia axial computorizada. Colecção líquida subcapsular no baço (seta).

O doente foi submetido a cirurgia urgente, com substituição de VM por prótese biológica. Complicação intra-operatória com BAV de 3.º grau persistente, a condicionar colocação de pacemaker definitivo.

Durante o mesmo tempo cirúrgico, dadas as dimensões da lesão esplénica, foi submetido a esplenectomia. O relatório anatomopatológico descreve "diversas áreas de enfarte esplénico, com infiltrado inflamatório sugestivo de abcesso".

O doente apresentou recuperação clínica global sustentada. Actualmente sem sequelas neurológicas e com IC classe II-NYHA.

/ Discussão

O *Streptococcus pneumoniae* é um coco Gram positivo, responsável por várias síndromes clínicas, tais como infecções localizadas – pneumonia, otite média e sinusite, e infecções invasivas – bacteriémia, meningite e endocardite.

Actualmente conhecem-se mais de 90 estirpes, de acordo com os vários polissacarídeos da cápsula bacteriana, mas nem todas causam doença. Algumas estirpes são apenas agentes colonizadores da nasofaringe, outras causam infecções respiratórias, enquanto outras têm maior afinidade para a doença invasiva (cerca de 20).[8]

A Doença Pneumocócica Invasiva (DPI) caracteriza-se pelo isolamento do *S. pneumoniae* num produto estéril, como sangue, líquido pleural ou LCR, mas não nas secreções brônquicas. [1]

Apesar dos avanços da Medicina, a DPI continua a ser uma causa importante de morbilidade e mortalidade em todo o mundo. A nível mundial estima-se uma incidência anual de 15 novos casos por cada 100.000 habitantes, sendo a taxa de mortalidade de um milhão/ano. [1,4]

A DPI é relativamente comum até aos 2 anos de idade, diminuindo de incidência durante a adolescência e idade adulta, para novamente aumentar após os 65 anos de idade.[1] Com a introdução da vacina pneumocócica, a incidência global da DPI tem vindo a diminuir, sobretudo nas crianças. [9,10] No entanto, a resistência do *S. pneumoniae* à penicilina e outros antibióticos, assim como o número crescente de estados de imunossupressão - como a infecção pelo VIH, têm contribuído para o surgimento de novos casos de DPI. [3,4,5]

São várias as condições que predispõem à infecção pneumocócica ( ).

No presente caso clínico, a diabetes e o alcoolismo foram variáveis predisponentes para a gravidade clínica apresentada.

O *S. pneumoniae* é o agente mais frequente de meningite no adulto, mas os abcessos cerebrais neste contexto são raros. A meningite pneumocócica é atribuível a otite média em 30% dos casos, a pneumonia em 25%, a sinusite em 10%, com a bacteriémia sendo responsável por 75% de todos os casos descritos. [11] A meningite bacteriana como resultado de otite média é rara na era antibiótica, mas continua a surgir em doentes imunodeprimidos, assim como em casos de uso inapropriado e resistência aos antibióticos. A taxa de mortalidade para meningite pneumocócica é estimada em 30%, com taxas de morbilidade que podem atingir os 20%, incluindo perda da acuidade auditiva e défices neurológicos. [12]

Estão descritas condições que predispõem à infecção cerebral extrameníngea, como a otite média, a sinusite, o trauma e a infecção pelo VIH. [3] O envolvimento do córtex cerebral por continuidade directa origina frequentemente uma lesão abcedada única. Em contrapartida, a bacteriémia dá origem a abcessos cerebrais múltiplos, em território da artéria cerebral média. [13]

No nosso doente, a extensão da infecção do ouvido médio para a mastóide, com concomitante destruição da cortical interna, poderá justificar o envolvimento cerebral directo com abcesso cerebral único.

Na era antibiótica – desde 1940, o *S. pneumoniae* é um agente pouco comum de endocardite, correspondendo a 1-3% dos casos, comparando com 20-30% dos casos antes do uso da penicilina. Estima-se que apenas 0,8 a 4,3% das bacteriémias por *S. pneumoniae* causem endocardite. [14]

A endocardite por *S. pneumoniae* tem uma apresentação clínica aguda, atingindo preferencialmente válvulas normais, com destruição progressiva e insuficiência valvular grave a exigir cirurgia. Vários autores descrevem uma forte associação com o alcoolismo. Apesar do diagnóstico precoce e tratamento dirigido, estima-se uma taxa de mortalidade entre 28 e 67 %. [3,14,15,16,17]

Em 1957, Robert Austrian descreveu uma tríade clínica clássica, constituída por endocardite pneumocócica, meningite e pneumonia. Esta tríade, também conhecida como Síndrome de Austrian, é uma entidade clínica rara, mais frequente em doentes alcoólicos, e está relacionada com uma elevada taxa de mortalidade. [16,18]

No presente caso clínico, apesar do contexto clínico, a inexistência de pneumonia não permite o seu diagnóstico.

O *S. pneumoniae* pode ser responsável por lesões supurativas em qualquer parte do organismo, ocorrendo em simultâneo ou dias após a bacteriémia. Várias manifestações clínicas raras de DPI estão descritas na literatura, totalizando cerca de 95 tipos diferentes de infecções, como por exemplo: abcesso pancreático, esplénico e hepático, aortite, adenite inguinal, fasceíte necrotizante, abcesso testicular e peritonite primária. Numa revisão de 2 064 casos de infecções por *S. pneumoniae*, entre 1966 e 1997, apenas estão descritos dois casos de abcesso esplénico.[3] No nosso doente, o contexto clínico global pressupõe que o Pneumococo fosse o agente etiológico responsável pelo abcesso esplénico.

A resistência do *S. pneumoniae* à penicilina, cefalosporinas e outros antibióticos tem aumentado nas últimas décadas. Muitas das estirpes resistentes à penicilina têm mutações nas proteínas de ligação, sobretudo os tipos 2X e 1A, o que lhes confere resistência às cefalosporinas de 3.ª geração, como cefotaxime e ceftriaxone. [4,19]

O impacto clínico da resistência ao Pneumococo depende do local da infecção, da capacidade de penetração do antibiótico e da resposta do hospedeiro à infecção. Esta interacção traduz-se no prognóstico da doença, como tempo de internamento, morbilidade e mortalidade. [4,20,21,22]

Assumindo que a susceptibilidade antibiótica é dependente da sua concentração, há estirpes de *S. pneumoniae* resistentes para determinadas concentrações de ß- lactâmicos no LCR, mas que podem ser susceptíveis, nessas mesmas concentrações, quando se trata de otite, sinusite ou pneumonia.[23] Desta forma, a CIM depende do tipo de infecção pneumocócica, i.e., da presença ou não de meningite.

As definições de susceptibilidade do *S. pneumoniae* foram recentemente revistas. De acordo com o *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI 2008)* a susceptibilidade do Pneumococo à penicilina G (endovenosa), em caso de meningite, é definida como sensível se CIM ≤0,06 µg/ml, intermédia se CIM =0,12 – 1,0 µg/ml e resistente se CIM ≥2 µg/ml; para estirpes isoladas em amostras que não o LCR, a definição passa a ser: sensível se CIM ≤2 µg/ml, intermédia se CIM =4 µg/ml e resistente se CIM ≥8 µg/ml. No que respeita à susceptibilidade do Pneumococo à cefotaxime ou ceftriaxone, em caso de meningite, preconiza-se ser sensível se CIM ≤0,5 µg/ml, intermédia se CIM =1 µg/ml e resistente se CIM ≥2 µg/ml; quando perante outras formas de doença pneumocócica, a sensibilidade está definida para CIM ≤1 µg/ml, intermédia se CIM =2 µg/ml e resistente se CIM ≥4 µg/ml. Para estirpes isoladas de amostras que não o LCR, também está definida a sensibilidade à penicilina oral: sensível se CIM ≤0,06 µg/ml, intermédia se CIM =0,12 – 1,0 µg/ml e resistente se CIM ≥2 µg/ml. [24,25]

Os factores de risco identificados para infecção por estirpes resistentes à penicilina são: uso prévio de antibiótico (últimos

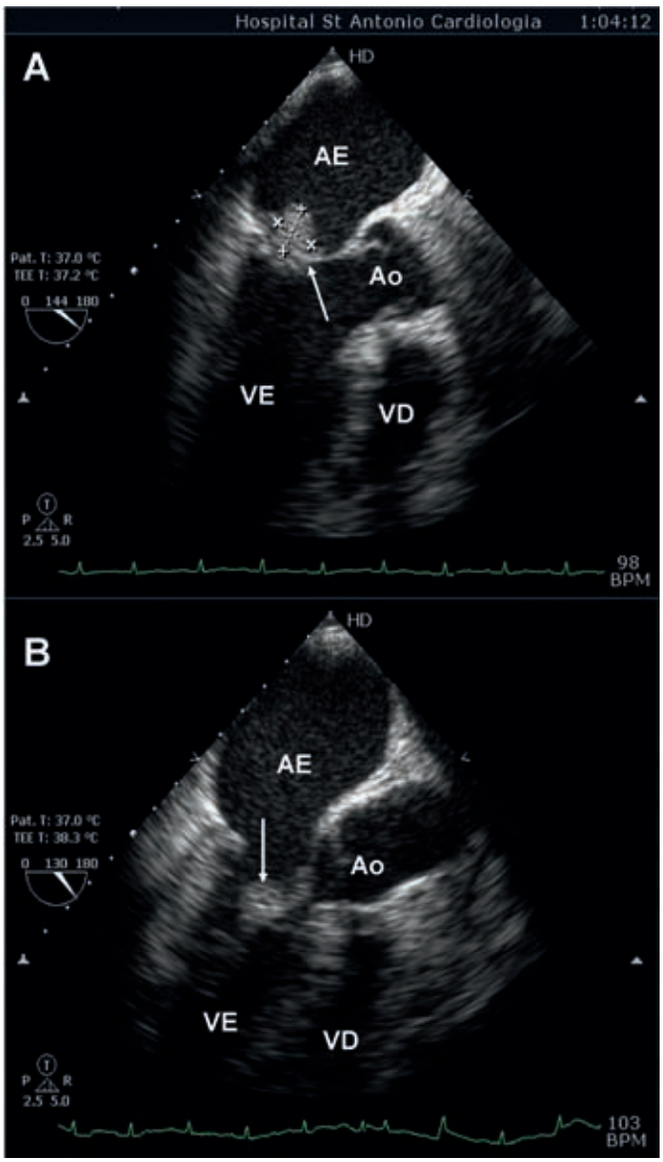


Figura 3 – Ecocardiograma transesofágico em fase de sístole (Figura 3-A) e diástole (Figura 3-B). Vegetação (setas) na face auricular do folheto anterior da válvula mitral (28*19 mm de maiores dimensões), condicionando prolapso exuberante do folheto. AE, Aurícula esquerda; VE, Ventrículo esquerdo; Ao, Aorta; VD, Ventrículo direito.

3 meses), alcoolismo e estados de imunossupressão como infecção pelo VIH, doenças autoimunes, esplenectomia, doenças oncológicas hematológicas, transplantados e doentes em quimioterapia. [20,22]

Em Portugal, um estudo nacional multicêntrico – o Estudo Viriato, realizado entre 2003 e 2004, no qual foram estudadas 1300 estirpes de *S. pneumoniae* em adultos e crianças, demonstrou haver susceptibilidade diminuída à penicilina em 109 (19,3%) casos em 2003 e em 130 (17,7%) em 2004, dos quais 86 (15,2%) e 23 (4,1%) revelaram resistência intermédia e 108 (14,7%) e 22 (3,0%) resistência elevada, respectivamente.[26]

No presente caso clínico, o alcoolismo associado ao uso prévio de uma penicilina terão predisposto à infecção por uma estirpe de alta resistência à penicilina e à cefotaxime.

Na DPI, dado o risco de elevada mortalidade nas primeiras 72 h, a terapêutica empírica recomendada é vancomicina mais ceftriaxone ou cefotaxime. Mediante o resultado do antibiograma, deve-se manter a vancomicina em casos de meningite por estirpe não sensível à penicilina ou, quando a CIM para cefalosporinas de 3.ª geração é superior a 0,5 µg/mL. [27]

As cefalosporinas são antibióticos com excelente capacidade de penetração na barreira hematoencefálica, atingindo concentrações eficazes no LCR. No tratamento da meningite pneumocócica não é recomendado usar vancomicina isoladamente, dada a dificuldade em atingir concentrações bactericidas no LCR. Adicionalmente, a vancomicina associada a ceftriaxone ou cefotaxime têm um efeito sinérgico contra o *S. pneumoniae*, mesmo para estirpes de baixa sensibilidade às cefalosporinas de 3.ª geração. [4, 28] A associação de rifampicina é recomendada nas seguintes situações: 1- agravamento clínico; 2- CIM ≥ 4 µg/mL para ceftriaxone e cefotaxime; 3- LCR repetidamente com culturas positivas. [29]

A vacina pneumocócica é uma estratégia preventiva segura e eficaz contra a DPI, não apenas nos doentes vacinados, mas também nos seus contactos. No entanto, a sua eficácia na pneumonia sem bacteriémia não está totalmente esclarecida. [21,30]

Há dois tipos de vacina: a vacina polissacarídea (VP) – usada em crianças acima de 2 anos de idade e adultos, e a vacina conjugada - usada nas crianças com menos de 2 anos. A VP – Pneumo 23®, garante protecção contra 23 estirpes, as responsáveis por cerca de 80% a 90% dos casos de DPI. [31,32] A exposição a estirpes não incluídas na vacina aumenta o risco de resistência aos antibióticos e consequente expressão de síndromes clínicos menos comuns de DPI.

A VP é recomendada em indivíduos considerados de alto risco para infecções graves por Pneumococo: todos os indivíduos com mais de 65 anos, e indivíduos com mais de 2 anos de idade e com uma das seguintes condições: asplenia funcional ou anatómica (ex, doença de células falciformes ou esplenectomia), infecção pelo VIH, leucemia, linfoma, doença de Hodgkin, mieloma múltiplo, neoplasias metastizadas, derivações de LCR, diabetes mellitus, alcoolismo, cirrose, doença pulmonar crónica, insuficiência renal crónica, doença cardíaca grave, doentes transplantados, em corticoterapia crónica ou quimioterapia e doentes institucionalizados. [30,32]

A estratégia de revacinação tem sido discutida na literatura. Para indivíduos com mais de 65 anos, recomenda-se a segunda dose caso tenham feito a primeira toma há mais de cinco anos prévios aos 65 anos; nos restantes indivíduos considerados de alto risco, a revacinação é recomendada 5 anos após a primeira toma. [29,31]

Os doentes com história prévia de DPI devem ser vacinados, pois a infecção por uma determinada estirpe não garante protecção contra outras estirpes.



/ Conclusão

A morbilidade e mortalidade associada a DPI mantêm-se elevadas, apesar da antibioterapia dirigida e do avanço técnico da Medicina. Tal se deve há emergência da resistência do *S. pneumoniae* aos antibióticos, assim como ao número crescente de casos de infecção pelo VIH. Por estas razões, o tratamento de formas menos comuns de DPI tem-se tornado um desafio.
O aumento do número de estirpes resistentes aos antibióticos enfatiza a necessidade urgente do uso criterioso de antibióticos, assim como a vacinação em grupos de risco conhecido para a doença, como forma de prevenção de DPI.

/ Bibliografia

1. Burman LA, Norrby R. "Invasive pneumococcal infections: Incidence, predisposing factors, and prognosis". *Rev Infect Dis* 1985;7:133-142.

2. Orihuela CJ, Tuomanen EI. "Models of pneumococcal disease". *Drug Discovery Today*: disease Models 2006;3(1):69-75.

3. Taylor SN, Sanders CV. "Unusual manifestations of invasive pneumococcal infection". *Am J Med* 1999;107(1A):12S-27S.

4. Butler JC, Dowell SF, Breiman RF. "Epidemiology of emerging pneumococcal drug resistance: implications for treatment and prevention". *Vaccine* 1998;16(18):1693-97.

5. Nuorti JP, Butler JC, Gelling L, et al. "Epidemiologic relation between HIV and invasive pneumococcal disease in San Francisco County, California". *Ann Intern Med* 2000;132:182.

6. Musher DM. "Factors that predispose to pneumococcal infection". In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2000. p. 2134-35.

7. Lipsky BA, Boyko EJ, Inui TS, Koepsell TD. "Risk factors for acquiring pneumococcal infections". *Arch Intern Med* 1986;146:2179.

8. Shouval DS, Greenberg D, Givon-LAvi N, Porat N, Dagan R. "Site-specific disease of individual *Streptococcus pneumoniae* serotypes in pediatric invasive disease, acute otitis media and acute conjunctivitis". *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:602-7.

9. Robinson KA, Baughman W, et al. "Epidemiology of invasive Streptococcus pneumoniae infections in the United States, 1995-1998. Opportunities for prevention in the conjugate vaccine era". *JAMA* 2001;285:1729.

10. Lexau CA, Lynfield R, et al. "Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease among older adults in the era of paediatric pneumococcal conjugate vaccine". *JAMA* 2005;294:2043.

11. Damergis JA, Chee K, Amitai A. "Otogenic pneumococcal meningitis with pneumocephalus". *J Emer Med* 2007;20(10):1-4.

12. Geyik MF, Kokoglu OF, Hosoglu S, et al. "Acute bacterial meningitis as a complication of otitis media and related mortality factors". *Yonsei Med J* 2002;43:573-8.

13. Southwick FS. "Pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis of brain abscess". September 2008. www.uptodate.com

14. Gopalakrishnan R, Czachor JS, Sorg TB. "Pneumococcal endocarditis: a report of two cases". Antimicrobics and Infectious Diseases Newsletter 1996;15(12): 88-89.

15. Ruegsegger JM. "Pneumococcal endocarditis". *Am Heart J* 1958;56(6):867-877.

16. Velásquez C, Araji O, et al. "Austrian syndrome: A clinical rarity". *Int J Cardiol* 2008;127:e36-e38.

17. "The task force on Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology. Guidelines on Prevention, Diagnosis and Treatment of Infective Endocarditis". *E Heart J* 2004;00:1-37.

18. Vindas-Cordero JP, Sands M, Sanchez W. "Austrian´s triad complicated by suppurative pericarditis and cardiac tamponade: a case report and review of the literature". *Int J Infect Dis* 2008;580:e1-e3.

19. Musher DM. "*Streptococcus pneumoniae* - Antibiotic susceptibility". In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2000. p. 2139-40.

20. Yu VL, Chiou CCC, et al. "An International Prospective Study of Pneumococcal Bacteremia: Correlation with In Vitro Resistance, Antibiotics Administered, and Clinical Outcome". *Clin Infect Dis* 2003;37:230-237.

21. "Multidrug-Resistant Streptococcus pneumoniae". *Letters to the Editor*. N Engl J Med 2001;344(17):1329-1330.

22. Ziglam HM, Finch RG. "Penicillin-resistant pneumococci-implications for management of community-acquired pneumonia and meningitis". *Int J Infect Dis* 2002;6:S14-S20.

23. Musher DM, Bartlett JG, Doern GV. "A fresh look at the definition of susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to beta-lactam antibiotics". *Arch Intern Med* 2001; 161:2538.

24. MIC Interpretative Standards for *S. pneumoniae*. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) 2008; 28:123.

25. Weinstein MP, Klugman KP, Jones RN. "Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus *Streptococcus pneumoniae*: coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance". *Clin Infect Dis* 2009; 48:1596.

26. Melo-Cristino J, Santos L, Ramirez M, et al. "Estudo Viriato: Actualização de dados de susceptibilidade aos antimicrobianos de bactérias responsáveis por infecções respiratórias adquiridas na comunidade em Portugal em 2003 e 2004". *Rev Port Pneumol* 2006;12(1):9-30.

27. Kaplan SL. "Management of pneumococcal meningitis". *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21:589.

28. Fiore AE, Moroney JF, Farley MM, e tal. "Clinical outcomes of meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* in the era of antibiotic resistance". *Clin Infect Dis* 2000; 30:71.

29. "American Academy of Pediatrics. Pneumococcal Infections". In: Red Book: 2006 Report of the Commitee on Infectious Diseases, 27th ed, Pickering, LK (Ed), American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, IL 2006. P. 525.

30. Tuomanen EI, Hibberd PL. "Pneumococcal vaccination in adults". Outubro 2008. www.uptodate.com

31. Dagan R, Klugman KP. "Impact of conjugate penumococcal vaccines on antibiotic resistance". *Lancet* 2008;8:785-795.

32. Musher DM. "*Streptococcus pneumoniae* – Prevention". In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2000. p. 2142-44.

RPDI
Janeiro > Abril 2010 / Vol. 6 > N.º 1

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

Doença da arranhadela do gato – um diagnóstico a ter em conta

Cat-scratch disease –a diagnosis to remember

/ M. Diogo[1] / H. Fernandes[1] / T. Pimentel[2] / A. Ferreira[3] / E. Serra

[1] Internos Complementares
[2] Assistente Hospitalar Graduada
[3] Chefe Serviço

Serviço Medicina II – Departamento de Medicina Interna. Hospital São Marcos - Braga

Correspondência:

Marco Diogo
Serviço Medicina II – Hospital São Marcos
Largo Carlos Amarante
4700 Braga

Telemóvel: 91 5303583
e-mail: marco_diogo@hotmail.com

/ Resumo

A doença da arranhadela do gato corresponde à infecção por *Bartonella henselae* que ocorre através da mordedura ou arranhadela de gatos infectados. A apresentação clínica mais típica é a linfadenite regional subaguda, de carácter benigno e evolução autolimitada.

Os autores apresentam o caso de uma jovem de 21 anos sem antecedentes pessoais que recorre ao Serviço de Urgência por apresentar uma tumefacção cervical. De destacar, no mês anterior, a aquisição de um gato. O estudo imagiológico revelou a presença de formações nodulares. As serologias infecciosas eram normais incluindo o anticorpo IgM para *Bartonella*. A citologia aspirativa ganglionar revelou uma linfadenite granulo-supurativa. O diagnóstico confirmou-se às quatro semanas com a quadruplicação dos títulos de anticorpos IgG para *Bartonella* (títulos superior a 256). Por persistência das adenomegalias com sinais inflamatórios exuberantes realizou um ciclo de azitromicina e procedeu-se à drenagem ganglionar percutânea. O diagnóstico é clínico com confirmação laboratorial por imunofluorescência ou biologia molecular. Por ser geralmente benigna e autolimitada, a antibioterapia não está recomendada, reservando-se a sua utilização para os casos de atingimento atípico ou sistémico e nos imunodeprimidos. A doença poderá ser mais comum nos adultos do que inicialmente previsto, o que associado à grande variabilidade clínica, a importância do diagnóstico diferencial e a elevada prevalência de animais domésticos tornam pertinente a apresentação deste caso.

Palavras-chave: doença da arranhadela do gato, Bartonella henselae, linfadenopatia.

/ *Abstract*

Cat-scratch disease is the infection by Bartonella henselae that occurs by the infected cat's bite or scratch. The typical clinical picture is a subacute regional lymphadenitis, benign and self-limited.

The authors present a case of a 21-year old female with no medical background that came to our attention after noticing a cervical tumefaction. She had acquired, in the previous month, a cat. The ultrassonography and CT-scan confirmed the enlargment of several lymph nodes. The infectious serologies were normal including

the IgM antibody for Bartonella henselae. The aspirative cytology revealed a granulo-supurative lymphadenitis. The diagnosis was confirmed after a four-week quadruplication of the IgG antibodies titers for Bartonella henselae (titers above 256). After noticing persistency of lymphadenopathies with inflammatory signs we treated our patient with azithromicyn and percutaneous drainage. The diagnosis remains clinical with laboratorial confirmation by indirect fluorescence assay or DNA enhancement. Being a self-limited disease with a benign course, most patients would not benefit with antibiotic therapy; treatment is recommended in atypical or systemic forms or immunocompromised patients. The disease is probably more prevalent in adults that previously thought, with the great clinical variability, the importance of differencial diagnosis and an high prevalence of pets makes this presentation pertinent.

Key-words: *cat-scratch disease, Bartonella henselae, lymphadenopathy.*

/ Introdução

A doença da arranhadela do gato foi descrita pela 1.ª vez em 1950[1] ainda que já houvesse descrição de sintomas semelhantes publicados em 1889[2]. Só em 1983 se identificou o agente etiológico[3], com isolamento cultural da bactéria a ocorrer cinco anos depois (inicialmente descrito *Atipia felis*). Em 1993 o género *Bartonella* prevalece (passando a englobar o género *Rochalimae*).

O género *Bartonella* inclue 19 espécies de pequenos bacilos de Gram negativo, aeróbios e intracelulares, com pelo menos seis das espécies reconhecidamente causadoras de doenças nos humanos. Destaca-se pela sua prevalência a *Bartonella henselae* (com os dois genogrupos Houston-1 e Marselha e quatro variantes) considerada na actualidade como o agente etiológico da doença da arranhadela do gato e responsável pela zoonose bacteriana mais comum adquirida através de um animal de estimação[4-6]. Os bacilos apresentam uma grande afinidade para o endotélio vascular, o que poderá corresponder a um santuário que explique a ocorrência das recidivas[4,7].

Os principais reservatórios são os gatos domésticos com mais de 50% dos casos a apresentarem anticorpos para a *Bartonella henselae*, com prevalência, nalgumas séries a atingir os 80-90%[5,8].

Apesar de casos descritos por transmissão canina o seu significado clínico permanece por esclarecer[4]. Esta questão assume particular importância pelo facto de nem todos os vectores estarem devidamente caracterizados assim como os hospedeiros intermediários, que serão muito mais numerosos do que inicialmente previsto[9].

A *Bartonella henselae* tem uma distribuição mundial, sobretudo em climas temperados, com a infecção a ocorrer entre Setembro e Março (variação sazonal da aquisição dos animais e padrão reprodutivo dos mesmos). Apresenta uma incidência global entre os 6-9 casos por 100000 habitantes, valores que provavelmente subestimam a real prevalência do agente[4,6,9].

O espectro clínico da infecção por *Bartonella henselae* é amplo, variando entre as formas regionais e as formas com atingimento sistémico importante. A forma mais típica (e a relatada no presente caso clínico) é a linfadenite regional subaguda. Caracteriza-se por uma lesão de inoculação três a dez dias após arranhadela ou mordedura do animal e o aparecimento de uma linfadenopatia regional uma a três semanas depois. As adenomegalias ocorrem sobretudo nas regiões axilares, epitrocleares, cabeça e pescoço e regiões inguinais. São frequentemente múltiplas, com eritema intenso suprajacente e supuração em 10% dos



casos (a requerer drenagem percutânea). Trata-se de uma forma benigna, auto-limitada e sem sintomatologia sistémica, ocorrendo uma regressão das adenomegalias em 2-6 meses (raramente persistindo durante anos)[4,6].

/ Caso clínico

Doente do sexo feminino, 21 anos de idade, raça caucasiana, natural e residente em Braga, sem antecedentes pessoais ou familiares de relevo, medicação regular ou história de alergias medicamentosas. Recorre ao Serviço de Urgência por ter notado o aparecimento de uma tumefacção cervical direita, junto ao ângulo da mandíbula, com cerca de 2 cm de maior diâmetro. Negava anorexia, emagrecimento, febre, prurido ou hipersudorese, sintomas oculares ou lesões cutâneas. A destacar a aquisição, no mês anterior, de um gato (que colocava frequentemente junto ao pescoço).

Para além da tumefacção cervical direita referida (que não apresentava outros sinais inflamatórios), o exame objectivo não apresentava alterações nomeadamente neurológicas, organomegalias, outras áreas ganglionares palpáveis ou lesões cutâneas.

O estudo imagiológico (ecográfico e tomográfico – ver figura 1) revelou a presença de várias formações nodulares heterogéneas, de localização submandibular à direita (e pequenos gânglios à esquerda), com 3.5 cm de maior diâmetro, com captação periférica de contraste e necrose central. Analiticamente não apresentava alterações do hemograma ou bioquímica; as serologias infecciosas para o *Toxoplasma gondii*, vírus das hepatites B e C, vírus da imunodeficiência humana, vírus citomegálico e Epstein-Barr forma negativas e os títulos dos anticorpos IgM e IgG para *Bartonella* normais. A citologia aspirativa de um gânglio cervical revelou uma linfadenite granulo-supurativa. Às 4 semanas verificou-se uma quadruplicação dos títulos de anticorpos IgG para *Bartonella* (títulos superior a 256), confirmando a suspeita inicial de se tratar de uma doença da arranhadela do gato.

Após um período de vigilância e em face da persistência das adenomegalias, optou-se por realizar um ciclo de azitromicina (500 mg oral no 1.º dia e 250 mg nos quatro dias seguintes) e procedeu-se à drenagem ganglionar percutânea pelo aparecimento de sinais inflamatórios exuberantes. Verificou-se uma involução ganglionar lenta mas progressiva, com resolução do quadro aos oito meses. Com um período de *follow-up* de três anos não se verificou recorrência do quadro clínico.

/ Discussão

A resposta do hospedeiro à infecção vai depender do seu estado imunitário, com os indivíduos imunocompentes a desenvolverem uma inflamação não-angiogénica, granulomatosa e supurativa traduzindo-se numa doença limitada, como no presente caso; na presença de imunodeficiência o hospedeiro desenvolve uma reacção angiogénica / vasoproliferativa com maior risco de atingimento sistémico[4,5]

Alguns grupos de critérios estão descritos e em uso na prática clínica, como os de Bergman *et al* que incluíam: a) um contacto com o animal ou uma lesão de inoculação; b) um teste cutâneo positivo; c) linfadenopatia sem diagnóstico alternativo; e d) uma histologia ganglionar característica[6,11,12] ou os critérios de Margileth *et al* que substituem o teste cutâneo por um estudo de imunofluorescência com títulos ≥1:64[4]; o diagnóstico efectua-se pela presença de três dos quatro critérios. Na actualidade, nenhum destes critérios se constitue como verdadeiramente diagnóstico ou é considerado *gold-standard*, pelo que o diagnóstico da doença da arranhadela do gato permanece, em grande parte, um diagnóstico de suspeição clínica com confirmação laboratorial.

A confirmação diagnóstica apresenta vários métodos. O teste intradérmico, baseado numa reacção de hipersensiblidade de tipo tardio, tornou-se pouco prático apesar da sua sensibilidade e especificidade elevadas, pela reactividade variável dos antigénios e possibildade de falsos positivos e negativos[4,6].

O isolamento cultural é complexo por se tratar de uma bactéria de crescimento lento, com 2-6 semanas de incubação e tecnicamente difícil, geralmente sem sucesso particularmente nos doentes sem sintomatologia sistémica.

A avaliação histológica das linfadenopatias, utilizando colorações com impregnação de prata (Warthin-Starry ou Steiner), apresenta alterações

sugestivas como a formação de granulomas com microabcessos e hiperplasia folicular. O diagnóstico diferencial em termos histológico inclui algumas infecções (tularemia, infecções por micobactérias ou fungos, brucelose e linfogranuloma venéreo), doença de Kikuchi ou de Kawasaki[4,6].

O método actualmente mais prático de diagnóstico laboratorial é a serologia dos anticorpos anti-*Bartonella henselae*, geralmente por imunofluorescência indirecta, por não ser invasivo, necessitar de equipamento muito especializado ou longos períodos de incubação. A curta duração dos anticorpos IgM torna-os pouco detectáveis na prática clínica, pelo que a sua negatividade não exclui o diagnóstico de doença aguda. O facto de alguns doentes permancerem seropositivos (IgG) durante mais de 1 ano dificulta a distinção entre infecção recente ou passada[4,6]. Ter ainda em atenção que alguns doentes podem não apresentar uma resposta serológica detectável[6].

Mais recentemente a utilização de biologia molecular como os métodos de *Polymerase chain reaction* permitiu estabelecer o diagnóstico da doença da arranhadela do gato em mais 10% dos doentes, resultando numa melhoria da sensibilidade (geralmente da ordem dos 80%) sem prejuízo da especificidade que é de 100%. Esta amplificação de DNA permite ainda evitar biopsias desnecessárias já que a análise é possível a partir das citologias [4,11,13,14]. Alguns autores defendem o uso combinado dos métodos serológicos e de amplificação de ácidos nucleicos para uma melhor acuidade diagnóstica[13]

A abordagem terapêutica vai depender das manifestações clínicas e do estado imunitário do doente. O uso de antimicrobianos não está recomendado para os casos de doença localizada, por norma autolimitada e sem resposta à antibioterapia (que se admite no presente caso pela persistências das adenomegalias). A sua utilização recomenda-se para os casos de atingimento atípico, sistémico e nos imunodeprimidos, onde a resposta aos antibióticos é de relevo[4,6,15].

Os membros do Género *Bartonella* são extremamente sensíveis à antibioterapia *in vitro,* apenas com actividade bacteriostática demonstrada, destacando-se os macrólidos, aminoglicosídeos, ß-lactâmicos, cotrimoxazol, rifampicina e ciprofloxacina. A inexistência de actividade bactericida (demonstrada apenas para aminoglicosídeos) e de penetração na membrana celular da bactéria podem explicar o insucesso dos antibióticos nas formas ligeiras de infecção pela *Bartonella henselae*[4]. A considerar o facto dos indivíduos imunocompetentes poderem sequestrar as bactérias para locais inacessíveis aos antibióticos e a ineficácia destes em aliviar as manifestações tecidulares da estimulação imunológica de longa duração[12].

Pela possibilidade de supuração das adenomegalias há que ter em conta o papel da drenagem por agulha percutânea (e não incisão e drenagem pela possibilidade de originar trajectos fistulosos) com orientação da agulha em várias direcções para drenagem dos vários microabcessos[4,6].

Amplamente considerada como uma doença pediátrica (com 80% dos casos a ocorrerem antes dos 18 anos), estudo recentes sugerem que a doença poderá ser mais comum nos adultos do que inicialmente previsto[4]. Pela grande variabilidade clínica que a infecção por *Bartonella henselae* pode apresentar (nomeadamente mimetizando processos neoplásicos ou infecciosos sistémicos) e pela elevada prevalência de animais domésticos (em particular dos gatos), pretende-se com a apresentação deste caso clínico relembrar a doença da arranhadela do gato como um diagnóstico a considerar num adulto que se apresenta com adenomegalias.

/ Bibliografia

1. Debre R, Lamy M, Jammet M et al. "La maladie des griffes du chat". *Bull Mem Soc Med Hosp* Paris 1950 ; 66 : 76-79

2. Parinaud H. "Conjunctivite infectieuse transmise par les animaux". *Ann d'Oculistique* 1889; 101 :252-253

3. Wear DJ, Margileth AM, Hadfield TL et al. "Cat-scratch disease: a bacterial infection". *Science* 1983; 221(4618):1403-1405

4. Florin T, Zaoutis T, Zaoutis L. "Beyond cat scratch disease : widening spectrum of Bartonella henselae infection". *Pediatrics* 2008; 121(5):1413-1425

5. Chmielewski T, Podsiadly E, Tylewska-Wierzbanowska S. "Presence of Bartonella spp. in various human populations". *Polish J of Microbiol* 2007; 56(1): 33-38

6. Lamps L, Scott M. "Cat-scratch disease: historic, clinical and pathologic perspectives". *Am J Clin Pathol* 2004; 121(Suppl 1): S71-S80

7. Greub G, Raoult D. "Bartonella: new explanations for old diseases". *J Med Microbiol* 2002; 51: 915-923

8. Chomel B, Boulouis H, Petersen H et al. "Prevalence of Bartonella infection in domestic cats in Denmark". *Vet Res* 2002; 33: 205-213

9. Mogollon-Pasapera E, Otvos L, Giordano A et al. "Bartonella: emerging pathogen or emerging awareness?" *Int J Infect Dis* 2009; 13(1): 3-8

10. Jackson L, Perkins B, Wenger J. "Cat scratch disease in the United States: an analysis of three national databases". *Am J Public Health* 1993; 83(12): 1707-1711

11. Hansmann Y, DeMartino S, Piémont Y et al. "Diagnosis of cat scratch disease with detection of Bartonella henselae by PCR : a study of patients with lymph node enlargement". *J Clin Microbiol* 2005; 43(8): 3800-3806

12. Regnery R, Tappero J. "Unraveling mysteries associated with cat-scratch disease, bacillary angiomatosis and related syndromes". *Emerg Infect Dis* 1995; 1(1):16-21

13. Eglantin F, Hamdad F, Samad Y et al. "Le diagnostic microbiologique des adénites associées à la maladie des griffes du chat : place de la sérologie et de l'amplification génique". *Pathol Biol* 2008; 56 : 461-466

14. Boillat N, Greub G. "Cat scratch disease and other human infections caused by Bartonella species". *Rev Med Suisse* 2008; 4(152): 901-907

15. Smith DL. "Cat-scratch disease and related clinical syndromes". *Am Fam Physican* 1997; 55(5): 1783-1789

INFORMAÇÃO AOS LEITORES / *INFORMATION TO THE READERS*

Informação da Sociedade Ibero-Americana de Infecciologia (SIAI)

O site da SIAI na internet foi recentemente actualizado e pode ser consultado no seguinte endereço: www.siai.com.pt

O III Congresso da SIAI vai realizar-se em simultâneo com o XV Congresso da Associação Pan-americana de Infecciologia (API), em Punta del Este, Uruguai, de 7 a 11 de Abril de 2011.

No sentido de desenvolver a SIAI, a sua direcção decidiu isentar do pagamento de quotas os sócios da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica que se desejem inscrever como seus associados, isenção válida por um período indeterminado. A ficha de inscrição poderá ser obtida no *site* da SIAI.

EVENTOS NACIONAIS DA ESPECIALIDADE >>

/ Jornadas Ibero-Americanas de Infecciologia
17 e 18 de Maio de 2010
Hospital da Prelada, Porto
Organização: SIAI
Secretariado: Admédic
Tel.: 218429710
Fax: 218429719
www.admedic.pt

/ 4.º Encontro Nacional da Clínica de Ambulatório VIH/Hospitais de Dia
17 e 18 de Junho de 2010
Porto Palácio Hotel, Porto
Organização: Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de S. João e Faculdade de Medicina do Porto
Secretariado: Acropole
Tel.: 226199680
Fax: 226199689
www.acropole-servicos.pt

/ X Congresso Nacional de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica VIII Congresso Nacional sobre SIDA
6 a 9 de Outubro de 2010
Hotel Vila Galé, Coimbra
Organização conjunta da SPDIMC e da APECS
Contactos da comissão organizadora:
Serviço de Doenças Infecciosas
Hospitais da Universidade de Coimbra
3000-075 Coimbra, Portugal
E-mail: joliveira@huc.min-saude.pt
Secretariado: Agência Abreu
www.congdinfecciosasesida2010.com

EVENTOS INTERNACIONAIS DA ESPECIALIDADE >>

/ Travel Medicine Conference of the Americas 2º Congreso Latinoamericano de Medicina del Viajero de SLAMVI
May 5-8, 2010
Sheraton Panamá Hotel&Convention Center
Ciudad de Panamá
www.TMCA.info

/ 3rd Northern European Conference on Travel Medicine
Date: May 26, 2010 - May 29, 2010
City: Hamburg, Germany
Contact: Frau Heike Esmann
Phone: 0-0-49-0-893-071-011
Fax: 0-0-49-0-893-071-021
E-Mail: heike.esmann@cocs.de

/ XVIII International AIDS Conference (AIDS 2010)
Date: July 18, 2010 - July 23, 2010
City: Vienna, Austria
Contact: International AIDS Society HQ
PO Box 20, CH - 1216 Cointrin, GENEVA, Switzerland
Phone: 41-0-22-7-100-800
Fax: 41-0-22-7-100-899
E-Mail: info@iasociety.org

/ The 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)
Date: September 12, 2010 - September 15, 2010
City: Boston, United States
Contact: Secretariat
Phone: 202-942-9261
Fax: 202-942-9340
E-Mail: Conferences@asmusa.org

/ 48th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America
Date: October 21, 2010 - October 24, 2010
City: Vancouver, Canada
Contact: IDSA, 1300 Wilson Blvd, Suite 300, Arlington, VA 22209
Phone: 703-299-0200
Fax: 703-299-0204
E-Mail: info@idsociety.org

/ American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 59th Annual Meeting 2010
Date: November 03, 2010 - November 07, 2010
City: Atlanta, United States
American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 111 Deer Lake Road, Suite 100
Deerfield, Illinois 60015 USA
Phone: 1-847-480-9592
Fax: 1-847-480-9282

/ XV Congreso Panamericano de Infectología III Congresso da SIAI
7 a 11 de Abril de 2011
Punta del Este, Uruguay
Info@apiuruguay.com
www.apiuruguay.com

21st Annual Meeting of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
Date: May 07, 2011 - May 10, 2011
City: Milan, Italy
Contact: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
Phone: 41-616-867-799
Fax: 41-616-867-798
E-Mail: info@escmid.org

/ 12th Conference of the International Society of Travel Medicine
May 8 – 12, 2011
Boston, USA
www.istm.org

/ 6th International AIDS Society (IAS) Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention (IAS 2011)
Date: July 17, 2011 - July 20, 2011
City: Rome
Contact: Conference Secretariat: International AIDS Society
Phone: 41-0-22-7-100-800
Fax: 41-0-22-7-100-899
E-Mail: info@iasociety.org

/ American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 60th Annual Meeting 2011
Date: December 04, 2011 - December 08, 2011
City: Philadelphia, United States
American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 111 Deer Lake Road, Suite 100
Deerfield, Illinois 60015 USA
Phone: 1-847-480-9592
Fax: 1-847-480-9282

A sua opinião é importante... ... participe!

Envie-nos as suas opiniões, questões, artigos e/ou sugestões para:
Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas – Fórum
Largo Fernandes Costa, 5 Cave Dta.
1700-187 Lisboa
Telefone/Fax: 217950462
E-mail: spdimc@gmail.com

A **Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas** concebeu este espaço para si. À semelhança de qualquer fórum, debateremos, responderemos e elucidaremos questões.
Acreditamos que este vai ser um espaço de interesse e debate para todo o tipo de leitores. Sob o arbítrio do Conselho Redactorial da **RPDI**, publicaremos as respostas às questões que nos forem apresentadas pelos nossos leitores, independentemente de serem ou não assinantes da Revista.

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

A **Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas (RPDI)** aceita para publicação Artigos Originais, Artigos de Revisão, Casos Clínicos, Normas de Actuação Clínica e Cartas ao Director, que se relacionem com o vasto campo da patologia infecciosa, dentro dos seus múltiplos aspectos epidemiológicos, etiológicos, fisiopatológicos, clínicos, laboratoriais, terapêuticos, profilácticos e de saúde pública, e abrangendo os domínios da bacteriologia, virologia, micologia, parasitologia, imunopatologia, farmacologia, etc.
Os artigos submetidos para publicação deverão ser preparados de acordo com os Requisitos Uniformes para Apresentação de Manuscritos a Revistas Biomédicas elaborados pela Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (N Engl J Med 1997; 336: 309-316), que se resume mais adiante.
Os artigos aceites para publicação passarão a ser propriedade da **Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica (SPDIMC)**, não podendo ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem autorização por escrito desta Sociedade.
Os artigos, escritos em português ou em inglês, devem ser dirigidos ao Editor e enviados, obrigatoriamente, em suporte informático, para o endereço de correio electrónico da RPDI (spdimc@gmail.com), sempre acompanhados da checklist (ver página seguinte) devidamente preenchida e dos documentos anexos ali exigidos que, depois de assinados, podem ser enviados por correio ou Fax.
O ficheiro deverá ser escrito em Microsoft Word, sem tabulações nem indentações. No caso de o conteúdo conter imagens, deverá o autor proceder à sua digitalização em resolução suficiente para permitir a publicação.

Modificações e Revisões

No caso do artigo ser aceite após modificações, estas devem ser realizadas pelos autores no prazo de trinta dias.
As provas tipográficas serão enviadas ao autor responsável pelo envio da correspondência, contendo a indicação do prazo de revisão, em função das necessidades de publicação da Revista. No entanto, a Direcção da Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas solicita aos autores que o prazo para a correcção das provas tipográficas não ultrapasse os cinco dias úteis.
O não respeito pelo prazo desobriga da aceitação da revisão dos autores, sendo a mesma efectuada exclusivamente pelos serviços da Revista.

Artigos Originais

Os Artigos Originais devem ser preparados, segundo a seguinte ordem, iniciando-se cada item numa página separada: 1. Página do título; 2. Resumo; 3. Introdução; 4. Material e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Bibliografia; 8. Legendas; 9. Figuras; 10. Quadros. Todas as páginas devem ser numeradas no canto superior direito. A numeração das referências, figuras, tabelas e quadros deve ser feita pela ordem de aparecimento no texto.

1. Página do Título

1. Título – Deve ser conciso, não conter abreviaturas e não ultrapassar os 120 caracteres. Poderá englobar um subtítulo com um máximo de 45 caracteres. Deve ser escrito em português e inglês.
2. Autores – A identificação dos autores deve ser feita com a(s) inicial(is) do(s) primeiro(s) nome(s) e com o apelido. Deverá ser feita a identificação completa do serviço, departamento ou instituição onde o trabalho foi realizado. Apenas devem figurar como autores todos aqueles que tiveram um envolvimento directo na preparação e execução do trabalho.
3. Patrocínios – Deverão ser referidas todas as entidades que patrocinaram o trabalho.
4. Correspondência – Referir o nome, endereço, telefone, fax e e-mail do autor a quem deve ser enviada a correspondência.

2. Resumo

Os resumos são redigidos em português e inglês, não devendo ultrapassar as 200 palavras.
Devem ser organizados segundo os seguintes itens: Introdução, Objectivos, Métodos, Resultados e Conclusões. Não devem conter abreviaturas, referências ou notas de rodapé. O resumo deve ser completado com a enumeração de três palavra-chave que serão utilizadas para a indexação do artigo.

3. Texto

Não deve ultrapassar as 12 páginas. Deve incluir referência à aprovação da Comissão de Ética da Instituição e aos métodos estatísticos utilizados. Todos os fármacos devem ser referidos pelo seu nome genérico, sendo eventuais referências a nomes comerciais acompanhadas do nome e cidade do fabricante, feitas em rodapé. As abreviaturas, que são desaconselhadas, devem ser especificadas na sua primeira utilização. Os parâmetros utilizados devem ser expressos em Unidades Internacionais, com indicação dos valores normais. A identificação das figuras deverá ser feita em numeração árabe, e a dos quadros em numeração romana.

4. Bibliografia

Deve ser referenciada em numeração árabe, por ordem de aparecimento no texto. As referências devem seguir as recomendações da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (N Engl J Med 1997; 336: 309-316) também disponíveis no seguinte endereço electrónico: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

5. Legendas

Devem ser escritas a dois espaços e numeradas em sequência.
As legendas devem ser numeradas em algarismos árabes pela sequência da citação no texto, e fornecerem a informação suficiente para permitir a interpretação da figura sem necessidade de consulta do texto.

6. Figuras e Fotografias

As figuras devem ser numeradas sequencialmente, com numeração árabe correspondente à da respectiva legenda, por ordem de introdução no texto. Todas as fotografias deverão ser digitalizadas em alta resolução e numeradas como as figuras.

7. Quadros e Gráficos

Devem ser escritos a dois espaços em folhas separadas e numerados com numeração romana segundo a sequência da citação no texto. O título surge na parte superior e na parte inferior serão colocadas todas as notas informativas (abreviaturas, significado estatístico, etc.).

RPDI Revista Portuguesa
de Doenças Infecciosas

Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa
de Doenças Infecciosas
e Microbiologia Clínica

Checklist destinada aos Autores

Título do manuscrito:

Nome do primeiro Autor:

- ☐ O manuscrito não foi, nem vai ser, enviado para publicação em qualquer outra revista médica.
- ☐ O Autor que consta no endereço postal será o responsável pela realização das eventuais correcções que venham a ser propostas pelos revisores do artigo e aceites pelos Autores e, também, pela revisão das provas, que deve estar concluída até 5 dias úteis após a notificação.
- ☐ O suporte financeiro, assim como as organizações envolvidas, foram declarados no manuscrito.
- ☐ Os Autores declararam, em documento anexo a esta *checklist*, todos os conflitos de interesses que possam envolver este manuscrito.
- ☐ Sempre que esteja em causa um projecto de investigação, a aprovação da comissão de ética foi referida no texto do manuscrito.
- ☐ Autorização por escrito, assinada por todos os Autores, cedendo à *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* a propriedade dos artigos (enviar como documento anexo a esta *checklist*).
- ☐ As referências bibliográficas seguem a norma internacional e foi confirmada a sua correcção — informações no site http://www.icmje.org/index.html.

Nota: para informações complementares sobre as normas de publicação, consulte a página correspondente que figura em cada número da *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* ou o site da SPDIMC- http://www.spdi.org/webspdi/.

Confirmo que todos os pontos desta checklist foram por mim devidamente confirmados e aceito a responsabilidade pela correcção de todas as informações prestadas.

(Assinatura do Primeiro Autor)

Data: ☐☐☐☐ / ☐☐ / ☐☐

(Este documento pode ser fotocopiado)