VOLUME 7 03/ RPDI

Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas
Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica

Setembro > Dezembro 2011 ISSN 1646-3633

Lobomicose ou Doença de Jorge Lobo
revisão da literatura

/111

/103 Dilemas no diagnóstico e tratamento da neurossífilis: sete questões, sete discussões

/118 Hepatotoxicidade associada aos anti-retrovirais

/124 Carbapenemases em bactérias de Gram-negativo: o novo desafio terapêutico

/131 A subespeciação do Echinococcus granulosus em Portugal



http://spdimc.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 7, N.º 3, Setembro > Dezembro de 2011 | 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 de Comunicação, Lda

/ Revisão
Dra. Ângela Barroqueiro

/ Impressão
Papelmunde – SMG, Lda

/ Créditos fotográficos
capa, página 100 e 114 – cedida pelos autores do artigo
página 107 – ©iStockphoto / © morkeman
página 113 – ©iStockphoto / © Dirk Freder
página 121 – ©iStockphoto / © Nicolas Loran
página 129 – ©iStockphoto / © Sergey Panteleev
página 133 – ©iStockphoto / © J. Carlos Pires Pereira

/ 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.

Indexada na Fonte Académica, uma base de dados da EBSCO
Indexada no Índex das Revista Médicas Portuguesas

Corpos Sociais da SPDIMC

/ Direcção
Presidente - Prof. Doutor Saraiva da Cunha
Vice-Presidente - Dr. António Vieira
Secretário - Dra. Célia Oliveira
Tesoureiro - Dra. Graça Ribeiro
Vogal - Prof. Doutor António Meliço-Silvestre

/ Assembleia-Geral
Presidente - Dr. Carlos Araújo
Vice-Presidente - Dra. Maria Cristina Toscano Figueiredo
Secretário - Dra. Susana Reis Peres

/ Conselho Fiscal
Presidente - Prof. Dra. Helena Ramos
Vice-Presidente - Prof. Doutora Lurdes Santos
Vogal - Prof. Doutor Rui Sarmento

Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas

/ Director
Prof. Doutor António Meliço-Silvestre

/ Director Honorário
Prof. Doutor Carvalho Araújo

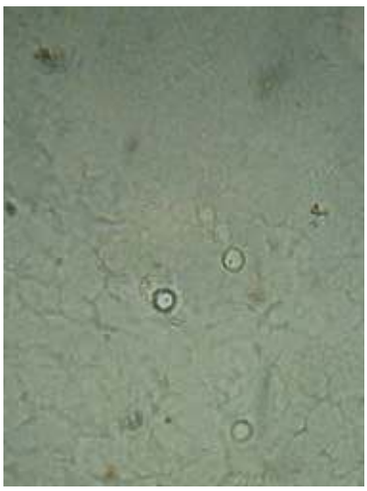
/ Editor
Prof. Doutor Saraiva da Cunha

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

/ 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. 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)

03/RPDI
Setembro > Dezembro de 2011 / Vol. 7 > N.º 3



EDITORIAL / *EDITORIAL*

101 Algumas reflexões sobre a infecção por VIH no contexto económico actual
/ R. Sarmento e Castro

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

103 Dilemas no diagnóstico e tratamento da neurossífilis: sete questões, sete discussões
/ C. Silva / S. Peres / D. Alfaiate / D. Fernandes / I. Aldir / K. Mansinho

111 Lobomicose ou Doença de Jorge Lobo – revisão da literatura
/ R. Tavares / J. V. Braga de Souza / I. Antunes / F. Ventura / R. Vieira / K. Mansinho

118 Hepatotoxicidade associada aos anti-retrovirais
/ C. Valente / C. Fernandes

124 Carbapenemases em bactérias de Gram-negativo: o novo desafio terapêutico
/ G. Jorge da Silva / A. Duarte

131 A subespeciação do *Echinococcus granulosus* em Portugal
/ J. A. David de Morais

140 Agenda / *Notebook*
141 Fórum
142 Checklist

EDITORIAL / *EDITORIAL*

Algumas reflexões sobre a infecção por VIH no contexto económico actual



/ Prof. Doutor Rui Sarmento e Castro
Centro Hospitalar do Porto, unidade de Joaquim Urbano

Segundo um relatório recente do Infarmed o consumo de medicamentos em meio hospitalar, em 2010, foi de cerca de 993 milhões de euros e estima-se que ultrapasse os mil milhões de euros em 2011, a manter-se o crescimento de gastos de 2,7% registado até Setembro deste ano. Cerca de 18,2 % dos custos em medicamentos de 2010 (181 milhões de euros) corresponderam ao uso de anti-retrovíricos. Se se mantiver a variação homóloga para os períodos de Janeiro a Setembro de 2010 e de 2011, consumiremos este ano 208 milhões de euros em anti-retrovíricos, um aumento de 13,7% em relação ao ano anterior.

A situação de crise económica que enfrentamos impõe a todos, políticos e técnicos, uma reflexão ponderada e responsável sobre as medidas que devemos tomar para inverter a subida dos custos, combatendo o despesismo e o desperdício.

O aumento de custos ao longo dos anos é justificado pelo elevado preço dos fármacos, hoje em dia, sem dúvida, muito eficazes, e ainda pelas elevadas taxas de transmissão da infecção que mantemos e pelo carácter crónico que a doença adquiriu, que leva ao aumento continuado e progressivo do número de indivíduos em tratamento.

A contenção de custos é difícil mas com o empenhamento de todos será possível. Permitam-me, contudo, sublinhar que este desígnio não poderá, em nenhum momento, pôr em causa a acessibilidade dos doentes aos cuidados de saúde e, muito menos, a qualidade do serviço que vimos prestando. Estou convencido que saberemos tratar bem os doentes mas com menores custos.

Propostas para redução de gastos a curto prazo

a) Negociação com as empresas farmacêuticas:

A negociação dos preços dos fármacos é uma medida muito importante para a redução dos custos. Para se conseguir viabilizar esta proposta será importante criar um órgão para negociação a nível nacional dos preços dos anti-retrovíricos ou aproveitar a experiência dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde, EPE. Neste caso achamos essencial que estes serviços sejam assessorados por um médico e um farmacêutico com boa experiência na área do VIH.

b) Genéricos:

O uso de genéricos, ou das moléculas originais a preço mais baixo, pode contribuir para a redução dos gastos em ARVs.

c) Recomendações para a prescrição de anti-retrovíricos em primeira linha:

Diversas organizações internacionais e a Coordenação Nacional para a Infecção VIH/SIDA elaboraram recomendações para o tratamento do VIH em primeira linha. Apesar disso, estas indicações não são muitas vezes seguidas, particularmente em Serviços mais pequenos e/

ou com menor experiência. O não cumprimento dessas normas leva, muitas vezes, a prescrições incorrectas que, por sua vez, vão implicar a necessidade de uso de fármacos de "2.ª linha", geralmente bem mais onerosos.

As recomendações da European AIDS Clinical Society (EACS), ou mesmo as da Coordenação VIH, parecem ser consensuais no nosso país. Daí que se proponha que sejam adoptadas como guia para a prescrição obrigatória em Portugal.

De acordo com essas "guidelines" é recomendado o tratamento de todos os doentes sintomáticos e os com contagens de linfócitos CD4 inferiores a 350/mm3. Serão também tratados, independentemente da contagem de CD4, os doentes com condições bem definidas em tabela publicada pela EACS.

Quanto aos fármacos a usar, tendo em conta a eficácia e os custos, será recomendado o uso, em primeira linha, de dois nucleosídeos e um não nucleosídeo. O uso de inibidores da protease ou de inibidores da integrase deve ser considerado, em primeira linha, quando justificado.

d) Prescrição de fármacos a doentes em tratamento ou previamente tratados:

1. Nos doentes em tratamento, com carga vírica indetectável, é muitas vezes necessário alterar os regimes por intolerância ou efeitos adversos. Noutros doentes o elevado número de tomas e/ou de comprimidos sugere a utilização de esquemas de tratamento mais simples. Estas alterações devem ser feitas tendo o cuidado, de não incrementar os custos do tratamento.
2. Nos doentes em falência da terapêutica há que avaliar os factores que contribuiram para o insucesso (regimes inadequados, problemas de absorção, intolerância, má adesão...) O reinício do tratamento destes doentes pressupõe a realização prévia de teste de resistência que, na nossa opinião, só deve ser feito aos doentes que apresentaram adesão superior a 75% nos levantamentos dos fármacos na Farmácia Hospitalar. Os esquemas de segunda linha devem ser sempre discutidos e autorizados pela Direcção do Serviço.
3. É frequente o aparecimento em consulta de doentes que, sem justificação, abandonaram o tratamento por períodos mais ou menos longos de tempo. Julgamos que, em tais casos, a terapêutica só deve ser reiniciada vários meses depois e após longo período de esclarecimento e de preparação do doente para um tratamento correcto.
4. Para grupos com maiores dificuldades de adesão aos tratamentos, nomeadamente toxicodependentes a usar metadona, indivíduos com graves problemas sociais ou de integração, devem implementar-se programas específicos que concentrem a distribuição de fármacos e de cuidados num só local.

e) Distribuição e controlo dos fármacos:

Um aspecto importante do controlo de custos e de combate ao desperdício passa pelo registo rigoroso da dispensa dos medicamentos. Este registo permite a avaliação da adesão aos levantamentos e impede duplicações. Pensamos que apesar de a medicação dever ser prescrita para o período entre consultas o levantamento dos fármacos deve ser mensal (receita para três meses) excepto para doentes que vivam, por exemplo, a mais de 50 Km do Hospital.

f) Formação dos profissionais:

O cumprimento e empenhamento dos profissionais é absolutamente necessário para o êxito da contenção de despesas. Uma boa preparação dos profissionais é indispensável para evitar erros que se transfomarão, a médio prazo, em custos elevados (internamentos, uso de tratamentos mais caros...).

Por isso, julgamos que o Ministério da Saúde, em colaboração com a Ordem dos Médicos e, particularmente, com a Associação Portuguesa para o Estudo Clínico da SIDA (APECS), deveria promover a realização anual de um Curso de Formação em VIH/SIDA. No prazo de cinco anos todos os prescritores (ou candidatos) deveriam frequentar esse curso e, dessa forma, obter certificação para o tratamento destes doentes.

g) Controlo das decisões implementadas:

As Direcções dos Serviços e as Direcções Clínicas dos Hospitais devem ser envolvidas e responsabilizadas pelo bom cumprimento das normas decididas. Para isso, é importante que em cada Hospital existam bases de dados que permitam o controlo, a cada momento, não só da produção mas, sobretudo, da qualidade do trabalho realizado.

A nível nacional (ou por ARS) deveria ser criada uma estrutura de coordenação, aconselhamento e monitorização das medidas decididas centralmente.

Redução de gastos a médio/longo prazo

A redução de custos a médio/longo prazo passa fundamentalmente pela prevenção.

A este respeito proporíamos uma maior acessibilidade à realização do teste de detecção da infecção. Esta medida, apesar de envolver algum custo imediato, contribuirá para a redução das taxas de transmissão da infecção e para poupança significativa no futuro.

As campanhas de prevenção/informação continuam a ser importantes. Desde logo, pensamos que deve ser dada grande atenção aos adolescentes e a alguns grupos mais expostos como emigrantes, reclusos, toxicodependentes e homossexuais. Para estes grupos há que desenhar estratégias conducentes à redução das taxas de transmissão.

Porto, 07 de Novembro de 2011

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Dilemas no diagnóstico e tratamento da neurossífilis: sete questões, sete discussões

Uncertainties in the diagnosis and treatment of neurosyphilis: seven questions, seven discussions

/ C. Silva / S. Peres / D. Alfaiate
/ D. Fernandes / I. Aldir / K. Mansinho

Serviço de Infecciologia e Medicina Tropical
Hospital de Egas Moniz, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, EPE

Correspondência:

Cláudia Silva

Serviço de Infecciologia e Medicina Tropical
Hospital de Egas Moniz
Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, EPE
Rua da Junqueira, nº 126
1349-019 Lisboa

Telefone: 210432362
Fax: 210432365
e-mail: claudinhamfs@hotmail.com

/ Resumo

A neurossífilis continua a constituir um enorme desafio para o clínico. Aspectos pertinentes continuam a ser alvo de discussão, tal como a invasão do sistema nervoso central (SNC) pelo *Treponema pallidum*, a interpretação dos testes serológicos, as indicações para punção lombar, os critérios de diagnóstico e o papel de métodos não convencionais no mesmo, o tratamento e os critérios de cura. Em paralelo, a pandemia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) levantou novas questões relacionadas com a evolução da doença treponémica nestes doentes, particularmente na sua forma neurológica.

A sífilis classifica-se como precoce nos dois primeiros anos da infecção e tardia a partir deste período. A invasão do SNC pelo *Treponema pallidum* pode ocorrer em qualquer uma das fases, estimando-se que aconteça em 40% dos casos e possa ter um curso sintomático ou assintomático.

A decisão de realizar punção lombar em indivíduos assintomáticos ou sem manifestações sugestivas de doença neurológica é controversa. Actualmente, a presença de factores associados a maior probabilidade de invasão e progressão da doença no SNC assumiu um papel importante na decisão de realizar o procedimento, em detrimento da definição temporal do estádio da infecção.

O estudo do líquido cefalorraquidiano (LCR) assume particular relevância nos doentes infectados pelo VIH, dada a maior probabilidade de invasão do SNC pela espiroqueta e menor capacidade de resolução espontânea da infecção.

O diagnóstico de neurossífilis depende da conjugação de manifestações clínicas, testes serológicos e estudo do LCR. Um título de VDRL positivo no líquor permite estabelecer o diagnóstico. Contudo, dada a baixa sensibilidade do teste neste líquido biológico, é necessário recorrer frequentemente a outros testes, como a demonstração da produção intratecal de imunoglobulinas. Os testes de biologia molecular assumem, ainda, um papel experimental.

A penicilina G é o antibiótico de eleição no tratamento da neurossífilis. A eficácia de outros fármacos, utilizados nomeadamente em doentes alérgicos, não está completamente estabelecida. O seguimento dos doentes após o tratamento baseia-se no estudo periódico do LCR e do título sérico do RPR/VDRL, não existindo, contudo, testes definidores de cura.

Os autores fazem uma revisão e discussão dos aspectos mencionados acima de acordo com os dados mais recentes da literatura.

Palavras-chave: *T. pallidum*, neurossífilis, punção lombar, VDRL, infecção por VIH.

/ *Abstract*

Neurosyphilis remains a huge challenge for the physician. Relevant issues are still on discussion, such as the neuroinvasion by Treponema pallidum, interpretation of serological tests, indications for lumbar puncture, diagnostic and cure criteria and the role of unconventional methods. Moreover, human immunodeficiency virus (HIV) infection pandemic has raised new questions regarding treponemal disease progression, particularly in the central nervous system (CNS).

Syphilis is classified as early or late according to whether diagnosis is made before or after two years from infection onset. The neuroinvasion by T. pallidum can happen at any stage, is estimated to occur in 40% of cases and may have a symptomatic or asymptomatic course.

The diagnosis of neurosyphilis depends on the combination of clinical manifestations, serological tests and evaluation of CSF. The decision to perform a lumbar puncture in asymptomatic individuals or patients without clinical evidence of neurological disease is controversial. Currently, the presence of factors associated with increased likelihood of CNS invasion and disease progression play a major role in the decision to perform the procedure.

The cerebrospinal fluid (CSF) study is particularly relevant in patients infected with HIV because of the greater likelihood of CNS invasion by T. pallidum and lesser rate of spontaneous resolution.

A positive CSF VDRL establishes the diagnosis of neurosyphilis, however, due to its low sensitivity it is often necessary to resort to other tests, like demonstration of intrathecal production of immunoglobulins. Molecular diagnosis is still experimental. Penicillin G remains the antibiotic of choice in the treatment of neurosyphilis. The effectiveness of other drugs, particularly used in allergic patients, is not fully established. Patient follow-up is based on periodic CSF evaluation, and serological VDRL/RPR titer, but there isn´t a definitive test to prove cure.

The authors review and discuss the aspects mentioned above according to latest data.

Key-words: *T.pallidum, neurosyphilis, lumbar pucture, VDRL, HIV infection.*

/ Introdução

A sífilis é uma doença infecciosa crónica causada pelo *Treponema pallidum sp. pallidum* transmitida habitualmente por contacto sexual não protegido com lesões ou fluidos corporais infectados. Menos comum é a sua transmissão por via vertical e, mais raramente, por via transfusional ou punção com instrumentos contaminados.

A infecção é classificada em congénita ou adquirida, sendo esta última dividida em sífilis recente ou tardia, dependendo do tempo decorrido entre a aquisição da infecção e a manifestação clínica ou detecção de teste serológico reactivo. A definição é, no entanto, variável de acordo com as entidades reguladoras. Assim, considera-se sífilis recente aquela

com menos de um ano (*European Center for Disease Control and Prevention* - ECDC) ou menos de dois anos (Organização Mundial de Saúde - OMS), e sífilis tardia quando a infecção tem provavelmente mais do que este intervalo de tempo.[1] A sífilis recente inclui as formas primária, secundária e latente precoce da infecção. A sífilis tardia, por sua vez, engloba as formas latente tardia (se adquirida há mais de um ano) e a sífilis terciária.[1]

O T. pallidum apresenta neurotropismo, por um mecanismo ainda não identificado, embora com base em estudos animais, se admita que lipoproteínas semelhantes às Vsp-OspC da Borrelia, sejam facilitadoras da entrada da espiroqueta no sistema nervoso central e obstáculos ao desenvolvimento de resposta imunológica contra o microrganismo.[2]

A invasão do sistema nervoso pode ocorrer em qualquer uma das fases descritas anteriormente.

/ 1. "A história natural da sífilis não tratada é evolução para neurossífilis?"

O tempo de incubação da infecção é variável, estimando-se entre 14 e 21 dias (extremos de 3 e 90 dias).[3] A sífilis primária está frequentemente associada à presença de lesão muco-cutânea no local de inoculação, habitualmente, genito-anal ou oral, denominada cancro duro.

A evolução para sífilis secundária é esperada cerca de 2 a 8 semanas após o aparecimento do cancro duro e caracteriza-se por eritema maculo-papular polimórfico, não vesicular, com atingimento palmo-plantar típico, documentado em cerca de 50-80% dos doentes.[3]

Durante estas fases, ocorre um período de espiroquetemia muito significativo, com invasão inicial do SNC em cerca de 40% dos casos, habitualmente, de resolução espontânea.[3]

Segue-se a fase de sífilis latente, que assenta no diagnóstico serológico e em que a maioria dos doentes permanece por período indefinido.

A persistência de infecção no SNC é responsável pelos quadros de meningite sifilítica, sintomática ou assintomática, definidos como **neurossífilis precoce**. Mesmo na ausência de tratamento, a maioria dos doentes apresenta resolução espontânea, ainda que dependente da resposta imune individual. No entanto, cerca de um terço dos doentes evolui para sífilis terciária, que inclui alterações meningovasculares e parenquimatosas, sintomáticas ou assintomáticas, designadas por **neurossífilis tardia**.[2]

A história natural da sífilis não tratada apresenta algumas particularidades na população de doentes infectados por VIH, destacando-se a maior frequência de meningite sifilítica aguda nos estádios iniciais, com persistência do *T. pallidum* no SNC, e a particular incidência de doença ocular neste grupo.[4,5] A progressão para doença terciária deve ser considerada mais precocemente nestes doentes, sendo que mais de 50% têm neurossífilis no primeiro ano após a infecção, intervalo de tempo tendencialmente mais curto nos doentes sintomáticos.[1]

Em estudos recentes, apuram-se como factores preditivos de evolução para neurossífilis, entre outros, o sexo masculino, uma contagem de linfócitos TCD4$^+$ <350 cél/µL no momento do diagnóstico e título sérico de RPR/VDRL ≥1:32.[1,2] A infecção por *T. pallidum* está também associada à diminuição transitória da contagem de linfócitos TCD4$^+$ e aumento da carga vírica do VIH, desconhecendo-se o seu significado na história natural da infecção. A utilização de terapêutica anti-retroviral combinada (TARVc) está associada à redução do risco de progressão para neurossífilis em 65%.[3]

/ 2. Que testes serológicos estão disponíveis?

Os testes serológicos são a principal sustentação diagnóstica de sífilis activa em adultos, mas, a sua interpretação é, muitas vezes, difícil. Os títulos só serão comparáveis se se utilizarem os mesmos testes e técnicas laboratoriais, idealmente no mesmo laboratório.

Testes não-treponémicos: RPR (*Rapid Plasma Reagin*) e **VDRL** (*Venereal Disease Research Laboratory*). Os títulos não treponémicos atingem o seu valor mais elevado durante a fase de sífilis secundária, diminuindo de forma gradual e podendo, inclusivamente, negativar em 20-25% dos doentes com sífilis latente tardia não-tratada. Títulos de RPR/VDRL ≥ 1:32 indicam doença activa, enquanto títulos ≤ 1:8 podem persistir durante anos após resolução espontânea ou terapêutica da infecção. No entanto, em qualquer circunstância, um título de RPR/VDRL < 1:32 não exclui infecção activa.[1,5] Deve sublinhar-se que vários estudos apontam que um teste não treponémico sérico consistentemente negativo poderá excluir neurossífilis.

Títulos baixos e não persistentes podem, frequentemente, corresponder a falsos positivos, como outras infecções (outras espiroquetas), doenças auto-imunes, infecção por VIH, idade avançada e/ou gravidez. Os falsos negativos são explicados pelo fenómeno prozona, estádios tardios de sífilis com ou sem tratamento e/ou infecção por VIH.

Testes treponémicos: TPHA *(T. pallidum Haemagglutination Assay);* **FTA-abs** *(Fluorescent Treponemal Antibody absorption)* e **EIA** *(Treponemal Enzyme Immunoassay).* O EIA detecta IgG e IgM totais anti-*Treponema,* sendo automático, igualmente sensível e mais específico que o TPHA e o FTA-abs.[1]

Os testes treponémicos persistem positivos durante toda a vida na grande maioria dos casos, com ou sem tratamento. A presença de doenças auto-imunes, gravidez, infecção por VIH e/ou utilização de substâncias ilícitas por via parentérica podem resultar em falsos positivos. Durante o período janela, de 2 a 4 semanas após a inoculação do *T. pallidum,* os testes treponémicos podem ser falsamente negativos. Um teste treponémico positivo isolado pode significar: resultado falso positivo; sífilis no passado, com resolução espontânea ou após tratamento; sífilis com teste não-treponémico falso negativo.

O rastreio de sífilis era previamente baseado na realização de um teste não-treponémico,

QUADRO I – ÍNDICES BASEADOS NA PRODUÇÃO INTRATECAL DE IMUNOGLOBULINAS [12]

Índice de IgG (≥0,7)
IgG total LCR (mg/L) x albumina sérica (mg/L) / IgG total sangue (mg/L) x albumina LCR (mg/L)
Índice de IgM (≥0,1)
IgM total LCR (mg/L) x albumina sérica (mg/L) / IgM total sangue (mg/L) x albumina LCR (mg/L)
Índice de ITpA (>3*) (devem ser excluídas alterações da BHE através do quociente de albumina*)
TPHA LCR x IgG sérica (mg/L) x 0,1 / TPHA sérica x IgG total LCR (mg/L)
Índice de TPHA (Vienna 2000) (70–500 provável;> 500 diagnóstico)
TPHA (LCR)/quociente de albumina*

* [albumina LCR (mg/L)/albumina sérica (mg/l)] x 103 (quando > 7,8 indica disfunção da BHE)

QUADRO II - CRITÉRIOS DE FALÊNCIA AO TRATAMENTO DA NEUROSSÍFILIS [7]

Critérios de Falência Terapêutica	
1. Clínica	• Manifestações de sífilis ou progressão de doença;
2. Perfil do LCR	• Falha na descida da pleocitose aos 6 meses ou normalização do perfil do LCR até aos 2 anos;
3. Títulos séricos não treponémicos	• Falha na descida do título sérico RPR/VDRL 4 vezes até 1 ano após o tratamento; • Qualquer subida do título sérico RPR/VDRL ≥ 4 vezes nos 30 dias após tratamento; • Título sérico RPR/VDRL persistentemente ≥ 1:64.

de elevada sensibilidade, que se positivo era sucedido da execução de um teste treponémico confirmatório. No entanto, recomendações recentes da *International Union against Sexually Transmitted Infections* (IUSTI, 2008) preconizam, em países de baixa prevalência de sífilis, a realização de rastreio com teste treponémico (EIA ou TPHA) inicial. Caso este seja positivo, a confirmação é feita com outro teste treponémico, seguido da determinação do título de teste não-treponémico na mesma amostra. Este algoritmo permitirá diminuir os casos falsos positivos e falsos negativos dos testes não-treponémicos, estratégia esta mais custo-eficaz.[1,6]

Os princípios gerais da interpretação dos testes serológicos nos indivíduos com infecção por VIH devem ser idênticos aos restantes doentes.[5] Nesta população, os títulos de testes não-treponémicos podem ser superiores aos esperados, podendo ocorrer o fenómeno prozona, uma causa de teste falsamente não-reactivo.[3] Também os casos falsos positivos, resultantes da hipergamaglobulinemia policlonal associada ao estado de inflamação crónica, são mais frequentes nestes doentes, podendo atingir 11%.[3]

A evolução serológica dos testes treponémicos nesta população é variável, podendo a descida dos títulos ser mais demorada. Testes treponémicos negativos em doentes com história clínica suspeita de sífilis devem ser repetidos com outro teste treponémico ou com recurso a outros testes diagnósticos (microscopia de campo escuro, PCR de *T. pallidum* em biópsias de lesões).[3]

/ 3. Quando realizar punção lombar?

A existência de manifestações clínicas sugestivas de envolvimento neurológico (disfunção de pares craneanos, meningite aguda ou crónica, enfarte, perturbação do comportamento de instalação aguda ou crónica, disfunção cognitiva, alteração da sensibilidade vibratória), oftalmológico (irite, uveíte, retinite, nevrite óptica) ou otológico constitui indicação para a realização de punção lombar, independentemente do título sérico de RPR/VDRL.[1,7] Da mesma forma, na presença de doença terciária noutras localizações (aortite; gomas) deve ser sempre excluído atingimento do SNC.[1,7] Pela possibilidade do SNC ser um "santuário" da infecção, a partir do qual podem ocorrer recidivas, o procedimento deve ser sempre realizado quando ocorre falência serológica após o tratamento de qualquer forma de sífilis.[7]

Estudos recentes sugerem a realização de punção lombar, em qualquer estádio da infecção, sempre que o título do teste não treponémico seja ≥ 1:32, pela maior associação com doença do SNC, ainda que esta medida não esteja, até à data, preconizada em recomendações técnicas.[2,7]

Nos doentes com infecção por VIH, a progressão da doença no SNC, em estádios iniciais da sífilis, levanta questões sobre a necessidade de excluir sempre neurossífilis, mesmo em indivíduos sem manifestações sugestivas de envolvimento neurológico e independentemente do título sérico do teste não treponémico. Algumas entidades recomendam o estudo do LCR em todos os doentes com infecção por VIH e sífilis latente ou sífilis de duração indeterminada, mesmo com títulos baixos do teste não treponémico. Contudo, alguns autores argumentam que esta medida pode levar à realização excessiva de punções lombares, grande parte das quais desnecessária.[2]

Outros autores sugerem a realização do procedimento nos estados iniciais, antes do tratamento. Caso existam alterações no estudo do LCR,



ainda que não preencham critérios de neurossífilis, deve ser efectuada repetição do estudo aos 6 meses, no sentido de avaliar a evolução dos parâmetros alterados. Outra proposta apresentada é a realização de punção lombar 6 meses após a terapêutica dos estádios iniciais, para identificar doentes com potencial de recidiva a partir do SNC.[2]

Entre os factores possivelmente associados à progressão da sífilis no SNC, em qualquer estádio da infecção, e cuja robustez permita evitar a realização excessiva de punções lombares, sem excluir casos de neurossífilis, o título do teste não treponémico ≥1:32 e/ou células TCD4 <350/µL, são apontados como os mais robustos.[2,5,8-14]

/ 4. Quais os critérios de diagnóstico de neurossífilis?

O estudo do LCR deve contemplar o exame citoquímico, com contagem diferencial de células, aplicação de testes treponémicos e não treponémicos e doseamento de albumina e imunoglobulinas. Pelo risco de prejudicar a interpretação dos resultados, é muito importante que a punção lombar não seja traumática, evitando a contaminação do LCR com sangue periférico, o que se admite quando a contagem de eritrócitos é superior a 0,001/mm.[2,3]

A interpretação dos testes serológicos é distinta no LCR e no sangue.

Em relação aos testes não treponémicos, alguns autores sugerem que o RPR pode ser utilizado de forma idêntica ao VDRL no diagnóstico.[13] Estes testes têm especificidade próxima de 100% e quando positivos constituem um critério de diagnóstico independente de neurossífilis. Contudo, a sua sensibilidade pode ser baixa, 30-75% de acordo com os estudos, e um resultado negativo não permite excluir o diagnóstico.[2,13,15,16] Deve salientar-se que não parece haver correlação entre o título sérico e no LCR.

Sempre que os testes não treponémicos são negativos no LCR, o diagnóstico de neurossífilis pode ser estabelecido com a conjugação de reactividade dos testes treponémicos, alterações no estudo citoquímico do LCR, com ou sem demonstração de produção intratecal de imunoglobulinas.[1]

Pela sua sensibilidade elevada, um valor de TPHA/FTA-abs no LCR pode representar um falso positivo e não permite estabelecer o diagnóstico, ainda que um título de TPHA >1:320 seja muito sugestivo de neurossífilis. Um valor negativo torna esta hipótese de diagnóstico pouco provável.[1,2]

O exame citoquímico do LCR revela habitualmente pleocitose à custa do aumento de células mononucleadas, com contagem de leucócitos entre 10-100 céls./µL (predominantemente linfócitos), hiperproteinorraquia de 50-100 mg/dL e ligeira diminuição da concentração de glicose em 45% dos casos.[17] Pleocitose mais elevada e aumento significativo dos níveis de proteínas totais observam-se sobretudo na meningite e na meningovasculite sifilítica.[17] Por outro lado, quando ocorre envolvimento isolado de um nervo craneano e nas situações de neurossífilis tardia sequelar, particularmente quando predomina o componente parenquimatoso (ex. *tabes dorsalis*), pode não existir pleocitose e/ou hiperproteinorraquia.[17]

A infecção por VIH pode ser responsável, *per se*, por aumento da celularidade e da proteinorraquia, embora valores de pleocitose ≥ 20 céls/µL e proteínas ≥ 50 mg/dL estejam mais provavelmente relacionados com a presença da espiroqueta do que com a infecção viral.[18]

Além da avaliação quantitativa, é importante a avaliação qualitativa das proteínas no líquido cefalorraquidiano. Em 50-100% dos doentes com neurossífilis ocorre síntese intra-tecal de anticorpos,

principalmente imunoglobulina G, o que reflecte inflamação local.[17] A utilização de testes baseados na produção intra-tecal de anticorpos, após exclusão de alterações da barreira hematoencefálica através do quociente de albumina, tornou-se complementar aos exames laboratoriais mencionados anteriormente. São utilizados os índices de IgG, IgM, ITPA (*Intrathecal T. pallidum Antibody Index*) e de TPHA (Vienna 2000). [12,17] (Quadro I)

O índice de TPHA (Vienna 2000) apresenta sensibilidade e especificidade de 98-100%, e, segundo alguns autores, tem valor diagnóstico superior ao VDRL, podendo ser utilizado como critério isolado para o diagnóstico.[1,10,12]

Todos os critérios de diagnóstico citados acima carecem de estudos na população de doente com infecção por VIH.[18]

/ 5. Utilidade dos métodos não convencionais no diagnóstico de neurossífilis?

Os testes laboratoriais disponíveis nem sempre permitem estabelecer o diagnóstico de neurossífilis de forma robusta. Acresce a existência de casos documentados de doentes com manifestações neurológicas associadas a RPR/ VDRL sérico reactivo e estudo do LCR normal, mas que melhoraram após terapêutica com penicilina G (benzilpenicilina) endovenosa.

A aplicação de técnicas de biologia molecular como a *Polymerase Chain Reaction* (*PCR*) evidenciou-se no diagnóstico directo de sífilis primária, nomeadamente a partir de amostras biológicas, como o raspado de lesões, com bons resultados.[19]

A sua utilização aplicada a amostras como o LCR é ainda escassa e precisa de ser aperfeiçoada. Os resultados obtidos estão limitados a séries com número reduzido de doentes e variam de acordo com o estádio da infecção e técnica e método utilizados (diferentes *primers*).[20,21]

A *PCR* não permite distinguir entre organismos viáveis e não viáveis, o que pode dificultar a interpretação dos resultados. A técnica está ainda sujeita a condicionalismos antes e durante a sua execução, o que pode invalidar os resultados, nomeadamente degradação do ácido desoxirribonucleico da espiroqueta durante o armazenamento dos produtos biológicos, presença de inibidores e contaminação das amostras.[18]

Em relação aos doentes com infecção por VIH, os estudos mostram que a prevalência de resultados positivos é idêntica à da população geral, nos diferentes estádios de sífilis.

Em situações em que a *PCR* para *T. pallidum* no LCR é positiva e o restante estudo do LCR é normal ou, estando alterado, não cumpre os critérios de neurossífilis, a decisão de tratar o doente é difícil e controversa. Contudo, o tratamento de indivíduos com infecção por VIH é aceitável, tendo em vista a maior dificuldade em eliminar, espontaneamente, a espiroqueta do SNC.

A *PCR* não deve ser utilizada no controlo após o tratamento, pois os resultados podem permanecer positivos durante anos.[22]

A proteína tau (τ) pode ser doseada no LCR e encontra-se aumentada em diversas situações como na doença de Alzheimer, acidente vascular cerebral agudo, encefalite e doença de Creutzfeldt-Jakob, sendo um marcador de degeneração neuronal/ dano neuronal ou axonal. As diferentes concentrações podem indiciar diferentes patologias e um valor > 300 pg/mL está habitualmente associado à doença de Alzheimer. Num estudo recente, um valor > 300 pg/mL mostrou uma sensibilidade de 83% e uma especificidade de 94% para o diagnóstico de neurossífilis.[23]

Em suma, os métodos não convencionais assumem, de momento, um papel experimental no diagnóstico de neurossífilis, sendo necessários mais estudos para que possam ser incluídos no conjunto de exames iniciais solicitados perante a suspeita de neurossífilis.

/ 6. Qual o tratamento da neurossífilis?

O *T. pallidum* é extremamente sensível à penicilina G, que continua a ser o tratamento de escolha para todas as fases e localizações de sífilis. No entanto, a espiroqueta tem a capacidade de integrar plasmídeos que configuram resistência ao fármaco, ainda que muito pouco frequentes. Por outro lado, a penicilina G benzatínica não atinge as concentrações treponicidas desejadas no SNC, pelo que o seu uso no tratamento da sífilis latente tardia não evita a progressão de doença no SNC.[24]

Assim, é pertinente discutir as recomendações terapêuticas na neurossífilis.

Esquema de tratamento de primeira linha:

- penicilina G aquosa cristalina, 18 a 24 MU/dia; 3-4 MU de 4/4h ou infusão contínua, IV; 10 a 14 dias (*2010 STD Treatment Guidelines,* CDC 2010).
- penicilina G aquosa cristalina, 12 a 24 MU/dia; 3 a 4 MU de 4/4h, IV; 18 a 21 dias (*European Guidelines On the Management of Syphilis* 2008).
- penicilina G procaínica, 1,2-2,4 MU /dia, intramuscular associada a probenecid 500 mg de 6/6h, via oral; 10 a 17 dias (*European Guidelines On the Management of Syphilis* 2008). No entanto, a interacção entre probenecid e penicilina, pode resultar na acumulação de penicilina no parênquima cerebral.

Esquema de tratamento alternativo:

- ceftriaxona, 2g /dia, IV/IM, durante 10-14 dias.

Este fármaco apresenta uma boa acção treponicida e penetração no SNC. No entanto, são escassos os estudos que demonstram a sua eficácia e tem sido documentado maior número de falências terapêuticas nos doentes coinfectados por VIH que fizeram este regime de tratamento.[1,16]

Esquema de tratamento em doentes alérgicos à penicilina/ beta-lactâmicos:

- doxicilina, 200 mg de 12/12H PO, durante 28 dias.

Apesar de algumas incertezas quanto às concentrações de doxiciclina atingidas no LCR, as falências terapêuticas são raras.

O grau de evidência (IV C) de tratamento de neurossífilis com de regimes não-penicilínicos é fraco, pelo que alguns autores recomendam dessensibilização de todos os doentes alérgicos à penicilina.[1,5]

Esquema de tratamento em grávidas:

devem ser tratadas com benzilpenicilina. Em caso de alergia à penicilina/beta-lactâmicos, devem realizar dessensibilização, em regime de internamento.[1,5]

Possíveis reacções ao tratamento com penicilina:

A reacção de Jarisch-Herxheimer, caracterizada por doença febril aguda com cefaleia, mialgia e calafrio, ocorre entre 2 a 24 h após início de terapêutica. Esta reacção é mais frequente na sífilis precoce e entre os doentes infectados por VIH (22% *vs* 12% dos doentes sem infecção por VIH), mas mais grave nos casos em que existe envolvimento neurológico/oftálmico e na gravidez.[1]

A reacção procaínica, também chamada de psicose ou mania procaínica, decorre da administração inadvertida de penicilina procaínica por via endovenosa, com constatação imediata de quadro de alucinações, cuja duração é inferior a 20 minutos.

Deve ser sempre excluído choque anafiláctico, dada a implicação de medidas terapêuticas emergentes.

/ 7. Como é feito o seguimento dos doentes após o tratamento?

O seguimento dos doentes após tratamento baseia-se no estudo periódico do LCR e do título sérico não treponémico (RPR /VDRL). A normalização do perfil citoquímico do LCR depende do estádio de doença e dos parâmetros do LCR pré-tratamento, sendo a reversão da pleocitose tanto mais rápida quanto maior for a contagem celular inicial.[1,2] A hiperproteinorraquia apresenta uma reversão mais lenta e por vezes incompleta, bem como a diminuição do título de VDRL no LCR, sendo, por isso, piores indicadores de resposta ao tratamento. A negativação do VDRL no líquor será tanto mais provável quanto menor o título inicial no LCR e em estádios mais precoces de neurossífilis.[1,2] Já a descida do título de RPR/VDRL sérico será mais acentuada nos casos de títulos séricos iniciais mais elevados.[1,2]

A periodicidade do estudo destes parâmetros varia de acordo com as orientações publicadas. Assim, a avaliação do LCR deve ser feita de 6 em 6 meses até desaparecimento da pleocitose, sendo esperada a normalização de todos os parâmetros do líquor ao fim de 2 anos.[1] Existem, no entanto, recomendações diferentes em que a repetição da punção lombar não é preconizada antes de um a dois anos após o tratamento.[18] Quanto à avaliação do RPR/ VDRL sérico, este deve ser repetido aos 3, 6 e 12 meses, após tratamento, nos casos de estádios precoces; e aos 6, 12 e 24 meses nos casos de sífilis tardia. Nos doentes infectados por VIH, estes intervalos devem ser mais curtos e a avaliação mais prolongada, com avaliação 1, 2, 3, 6, 9, 12 e 24 meses após tratamento de estádios precoces e aos 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses nos estádios tardios.[18]

A falência ao tratamento deve ser considerada sempre que: ocorrer qualquer manifestação clínica de sífilis ou progressão de doença; existir ausência na descida da pleocitose aos 6 meses ou ausência de normalização dos restantes parâmetros do LCR ao fim de 2 anos; existir falha na descida do título sérico de VDRL/RPR 4 vezes (isto é, duas diluições) pelo menos um ano após o tratamento; ocorrer subida do título sérico de RPR/VDRL > 4 vezes pelo menos 30 dias após o tratamento; o título sérico de RPR/VDRL for persistentemente superior a 1:64.[25,26] (Quadro II)

As taxas de falência estão documentadas em 15-20%. A presença de qualquer um dos critérios acima citados, perante resolução clínica, pode não configurar falência, pela possibilidade da neurossífilis tardia com título de RPR/VDRL sérico baixo não seroconverter.

A interpretação da resposta ao tratamento em doentes infectados por VIH deve ser cuidadosa, dado que o parâmetro do LCR cuja normalização parece estar mais comprometida é o VDRL (LCR).[18] Alguns estudos mostram que nestes doentes a probabilidade de negativação do VDRL no LCR é 2,5 vezes menor, sobretudo se apresentarem contagem de linfócitos TCD4 ≤ 200/µL (3,7 vezes menor).[18] A taxa de falência nesta população está documentada em 30%.[26] A TARVc concomitante parece estar associada a melhoria ou resolução dos parâmetros do LCR numa maior percentagem de doentes, comparativamente aos sem TARVc.[16, 27]

/ Considerações finais

A neurossífilis continua a constituir um enorme desafio para o clínico, particularmente no diagnóstico de formas tardias em doentes assintomáticos e pela ausência de testes definidores de cura após o tratamento.

Actualmente a decisão de realizar punção lombar baseia-se na presença de factores associados a maior probabilidade de invasão e progressão da doença no SNC e não no estádio da infecção, sendo pertinente a identificação de novos factores, particularmente na população de indivíduos com infecção por VIH.[2, 28]

A identificação de novos marcadores biológicos e a maior experiência com técnicas de biologia molecular poderão contribuir para o diagnóstico de neurossífilis nas situações em que o resultado do VDRL no LCR é negativo, e estabelecer critérios de cura, evitando a realização de vários ciclos de tratamento desnecessários.

A educação para os comportamentos sexuais de risco continua infrutífera à escala global, como demonstra o aumento da incidência da infecção por VIH, na última década. O sentimento de protecção, relacionado com a existência de TARVc, parece actuar como facilitador na manutenção de comportamentos de risco e aquisição de infecções sexualmente transmissíveis. São pertinentes novos conhecimentos em relação à evolução da doença treponémica, particularmente na sua forma neurológica, nos doentes com infecção por VIH.

/ Bibliografia

1. French P., Gomberg M., Janier M. et al. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis; Int J STD AIDS. 2009; 20:300-3009.

2. Chan DJ. Syphilis and HIV Co-Infection: When is Lumbar Puncture Indicated?; Curr HIV Res 2005; 3:95-98.

3. Zetola NM., Engelman J., Jensen TP. et al. Syphilis in the United States: a Update for Clinicians with Emphasis on HIV Coinfection; Mayo Clin Proc. 2007; 82(9):1091-1102.

4. Lynn WA. and Lightman S. Syphilis and HIV: a dangerous combination; Lancet Infect Dis. 2004; 4: 456-466.

5. Zetola NM. and Klausner JD. Syphilis and HIV Infection: An Update; Clin Infect Dis. 2007; 44:1222-1228.

6. Zuger A. Has Your Lab Changed Its Syphilis Testing Protocol? Journal Watch 2008; 7(9). *available at* www.medscape.com.

7. US Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines 2010. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Dec 2010; 59 (RR-12): 1-116.

8. Marra CM., Maxwell CL., Smith SL. et al. Cerebrospinal Fluid Abnormalities in Patients with Syphilis: Association with Clinical and Laboratory Features; J Infect Dis. 2004; 189:369-376.

9. Libois A., Wit SD., Poll B. et al. HIV and Syphilis: When to Perform a Lumbar Puncture; Sexually Transmitted Diseases 2007; 34(3):141-144.

10. Stoner BP. Current Controversies in the Management of Adult Syphilis. Clin Infect Dis. 2007; 44 (Suppl 3):S130-S146.

11. Marra CM. Déjà Vu All Over Again : When to Perform a Lumbar Puncture in HIV-Infected Patients With Syphilis. Sexually Transmitted Diseases 2007; 34(3):145-1446.

12. Wohrl S. and Geusau A. Neurosyphilis is Unlikely in Patients with Late Latent Syphilis and a Negative Blood VDRL Test. Acta Derm Venereol. 2006; 86: 335-339.

13. Castro R., Prieto E. and Pereira F. Nontreponemal Tests in the Diagnosis of Neurosyphilis: An Evaluation of the Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) and the Rapid Plasma Reagin (RPR) Tests. J Clin Lab Anal. 2008; 22: 257-261.

14. Castro R., Prieto E., Águas MJ. et al. Detection of *Treponema pallidum* sp *pallidum* DNA in latent syphilis. Int J STD AIDS. 2007; 18: 842-845.

15. Walter T., Lebouche B., Miailhes P. et al. Symptomatic Relapse of Neurologic Syphilis after Benzathine Penicillin G Therapy for Primary or Secondary Syphilis in HIV-Infected Patients. Clin Infect Dis. 2006; 43: 787-789.

16. Poliseli R., Vidal J., Oliveira A. et al. Neurosyphilis in HIV-Infected Patients: Clinical Manifestations, Serum Venereal Disease Research Laboratory Titres, and Associated Factors to Symptomatic Neurosyphilis. Sexually Transmitted Diseases 2008; 35: 425-429.

17. Barros AM., Cunha AP., Lisboa C. et al. Neurossífilis, Revisão Clínica e Laboratorial. Arq Med. 2005; 19 (3):121-129.

18. Marra CM., Maxewell C., Tantalo L. et al. Normalization of Cerebrospinal Fluid Abnormalities after Neurosyphilis Therapy: Does HIV Status Matter? Clin Infect Dis. 2004; 38:1001-1006.

19. Palmer HM., Higgins SP., Herring AJ. et al. Use of PCR in the Diagnosis of Early Syphilis in the United Kingdom. Sex Transm Infect. 2003; 79(6):479-483.

20. Gayet-Ageron A., Ninet B., Toutous-Trellu L. et al. Assessment of a real-time PCR to Diagnose Syphilis from Diverse Biological Samples. Sex Transm Infect. 2009; 85(4):264-269.

21. Chung KY., Lee MG., Lee JB. et al. Detection of *Treponema pallidum* by Polymerase Chain Reaction in the Cerebrospinal Fluid of syphilis patients. Yonsei Med J. 1994; 35(2):190-197.

22. Noordhoek GT., Wolters E., Jonge M. et al. Detection by Polymerase Chain Reaction of *Treponema pallidum* DNA in Cerebrospinal Fluid from Neurosyphilis Patients before and after Antibiotic Treatment. J Clin Microbiol. 1991; 29(9):1976-1984.

23. Paraskevas GP., Kapaki E., Kararizou E. et al. Cerebrospinal Fluid Tau Protein Is Increased in Neurosyphilis: A Discrimination From Syphilis Without Nervous System Involvement? Sexually Transmitted Diseases 2007; 34(4):220-223.

24. Musher DM. Neurosyphilis: Diagnosis and Response to Treatment. Clin Infect Dis. 2008; 47: 900-902.

25. Ghanem KG., Moore R., Rompalo AM. et al. Neurosyphilis in a Clinical Cohort of HIV-1-Infected Patients. AIDS 2008; 22: 1145-115.

26. Trevejo-Nunez G. and Daskalakis D. Challenging Cases in HIV Medicine from Bellevue Hospital: HIV and Syphilis-Diagnostic and Therapeutic Approach. Medscape General Medicine 2007; 9 (2): 42. *available at* www.medscape.com.

27. Cohen MS. Diagnosis of Syphilis Treatment Failure. Medscape HIV/AIDS 2004; 10 (1). *available at* www.medscape.com.

28. Ghanem KG., Moore RD., Rompalo AM. et al. Lumbar Puncture in HIV-Infected Patients with Syphilis and No Neurological Symptoms. Clin Infect Dis. 2009; 48(6): 816-821.

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Lobomicose ou Doença de Jorge Lobo
revisão da literatura

Lobomycosis or Jorge Lobo's disease:
a review

/ R. Tavares[1] / J. V. Braga de Souza[2] / I. Antunes[1] / F. Ventura[1] / R. Vieira[3] / K. Mansinho[1]

[1] Serviço de Infecciologia e Medicina Tropical, Hospital de Egas Moniz, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, EPE
[2] Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Brasil
[3] Serviço de Dermatologia e Venereologia do Hospital Curry Cabral, Lisboa

Correspondência:

Raquel Tavares
Serviço de Infecciologia e Medicina Tropical, Hospital de Egas Moniz, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, EPE
Rua da Junqueira, nº 126
Lisboa

Telemóvel: +351 91 9201089
e-mail: raquelmrtavares@gmail.com

/ Resumo

A lobomicose é uma infecção fúngica crónica, granulomatosa, causada por *Lacazia loboi*. Foi descrita, em 1930, pelo dermatologista brasileiro Jorge Lobo.
A maioria dos casos humanos encontra-se restrita a regiões tropicais.
Para além do ser humano, a infecção tem também sido descrita em golfinhos.
A transmissão parece ocorrer por meio da inoculação traumática do fungo.
As lesões ocorrem, habitualmente, na pele em áreas expostas.
A apresentação clínica da lobomicose é geralmente polimorfa. As lesões cutâneas são inicialmente imperceptíveis, alterando-se ao longo do tempo na dimensão, na coloração e na distribuição.
O diagnóstico é efectuado por exame micológico, anatomo-patológico e imuno-histoquímico. Até à data, nunca foi possível isolar em cultura este fungo.
A escolha do tratamento depende da distribuição das lesões. A excisão cirúrgica e/ou crioterapia é o tratamento de escolha. Para o correcto e atempado diagnóstico e tratamento é essencial o conhecimento desta patologia, cada vez mais frequente fora de áreas tropicais.

Palavras-chave: Lacazia loboi, micose, Lobomicose.

/ Abstract

Lobomycosis is a chronic, granulomatous, fungal infection, caused by Lacazia loboi. Lobomycosis was first described in 1930, by Jorge Lobo a Brazilian dermatologist. The majority of identified human cases are restricted to tropical regions. Apart from humans, Lobomycosis has also been found in dolphins.
The traumatic implantation of the fungus seems to be the main process of transmission, and most lesions occur in the exposed areas of the skin.
Often, clinical presentation of Lobomycosis is polymorph. Cutaneous lesions are initially of difficult recognition, changing along the time in their volume, color and distribution.
The diagnosis is achieved by mycological, histological or imunohistochemic exams. Culture of the causal fungus was impossible to obtain to this day.

Treatment of choice depends of distribution of the lesions, but in most cases surgical excision or criotherapy are the techniques mostly used. A more profound knowledge of this pathology is crucial for the prompt and correct diagnosis and treatment, which is nowadays increasingly found outside tropical regions.

Key-words: *Lacazia loboi, mycosis, Lobomycosis.*

/ Introdução

A lobomicose é uma infecção fúngica crónica, granulomatosa, causada por *Lacazia loboi*. Afecta a pele e o tecido celular subcutâneo de humanos e membros da família Delphinidae (golfinhos), através da inoculação do fungo, provavelmente, associada a traumatismos.[1,2] A Lobomicose foi descrita pela primeira vez pelo dermatologista brasileiro Jorge Lobo em 1930,num doente do Vale do Amazonas, motivo pelo qual é conhecida também por Doença de Jorge Lobo ou Micose de Jorge Lobo, para além de inúmeros sinónimos: lacaziose, blastomicose queloidal, blastomicose tipo Jorge Lobo, *miraip* ou *piraip* (significa o que queima em linguagem dos índios Tupi), lepra do caiabi, falsa lepra, granulomatose blastocoide, blastomicose da Amazónia.[1]

O objectivo desta revisão teórica sobre uma doença rara que ocorre predominantemente na América do Sul, é alertar para as suas características principais permitindo, em caso da sua ocorrência, um diagnóstico mais rápido, uma vez que Portugal é um país de imigração preferencial de alguns Países desse continente.

/ Agente etiológico

Designado *Lacazia loboi* desde 1999 por Taborda & McGinnis [2], foi também designado ao longo dos tempos por diferentes formas:

- *1941 - Glenosporella loboi* (Fonseca-Leão)
- *1943 - Glenosporopsis amazonica (*Fonseca)
- *1948-49, 1956 - Paracoccidioides loboi* (Almeida Lacaz; Carneiro)
- 1952 - *Blastomyces loboi* (Vanbreuseghem)
- 1956 - *Loboa loboi* (Ciferri, Azevedo e Campos Carneiro)
- 1968 - *Lobomyces loboi* (Borelli–Pradinaud)
- 1992 - *Loboa loboi* (Odds)
- 1999 – *Lacazia loboi* (Taborda)

O termo *Lacazia* foi atribuído em honra de Carlos da Silva Lacaz, micologista brasileiro que contribuiu para a melhor compreensão da doença, enquanto o termo *loboi* homenageia a primeira pessoa a descrever a doença, Jorge Lobo.[1]

Desde a sua descoberta, a classificação taxonómica de *L. loboi* tem sido objecto de vários estudos.

A análise filogenética realizada por Herr *et.al.* em 2001, utilizando a sub-unidade 18s do DNA ribossomal e 600pb do gene CHS2 (quitina sintetase-2) das células leveduriformes classifica *L. loboi* na ordem Onygenales.[3] (Figura 1)

Tendo em conta os vários estudos realizados até à data e de acordo com a classificação filogenética dos Fungos proposta em 2007 por Hibbett *et. al., Lacazai loboi* pertence ao filo ASCOMYCOTA, sub-filo Pezizomycotina, classe Eurotiomycetes, sub-classe Eurotiomycetidae, ordem Onygenales, família Onygenaceae.[3]

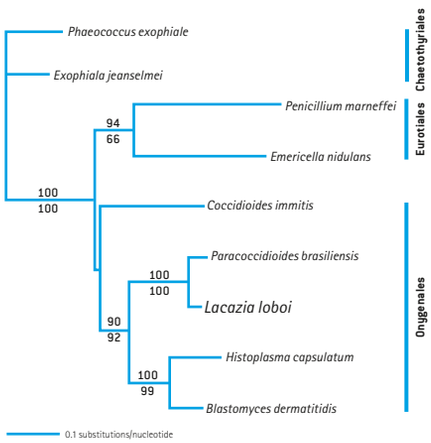


Figura 1 – Árvore filogenética com as sequências 18s do ADN ribossomal mostrando a relação taxonómica de *L. loboi* com outros fungos dimórficos como é o caso do *Paracoccidioides brasiliensis*. A secção da árvore apresentada pertence à ordem Onygenales (Herr et. al.,2001).



/ Epidemiologia

A maioria dos casos humanos descritos, cerca de quatrocentos[5], encontra-se restrita a regiões selváticas, com clima quente e húmido, com abundantes cursos de água e elevada pluviosidade, como a região do Amazonas: Brasil (Pará e Amazonas), Colômbia, Suriname, Guiana Francesa, Equador Venezuela, Perú, Guiana, Bolívia.[6]

Têm sido descritos casos esporádicos noutros países como Estados Unidos da América[7], Canadá[8], México, Espanha[9], França[10], Panamá, Costa Rica e África do Sul[11].

Para além do ser humano, a infecção tem sido descrita em duas espécies de golfinhos que vivem em estuários ou em cativeiro *Tursiops truncatus*[12] e *Sotalia guianensis*[31]. Até à data, a infecção não foi descrita em golfinhos que vivem em águas correntes como o caso dos botos (*Inia geoffrensis*) do rio Amazonas ou os tucuxis (*Sotalia fluviatilis*) do rio Orinoco[14].

No que respeita à infecção em humanos, esta ocorre predominantemente no sexo masculino, entre os 20-45 anos, em pessoas cujas actividades profissionais envolvem traumatismos repetidos e contacto com a água e solo, como os agricultores, pescadores, seringueiros, caçadores ou pesquisadores de pedras preciosas[5,15].

/ Etiopatogenia

A etiopatogenia desta doença permanece por esclarecer, uma vez que, até à data, não foi possível determinar o nicho ecológico do microrganismo.

Trata-se, provavelmente, de um fungo saprófita do solo, vegetação e água.

As suas formas de transmissão ainda são pouco conhecidas mas admite-se ocorrer por inoculação do fungo, nomeadamente através das soluções de continuidade da pele, causadas por traumatismos com fragmentos vegetais e picada de insecto, etc[5,15].

A aquisição da infecção pode, também ocorrer, por contacto com o fungo existente em nichos ecológicos[6,7,8] ou em hospedeiros infectados com *L. loboi* (humanos, golfinhos ou ratos infectados experimentalmente).[16,17]

As infecções experimentais em ratos são causadas pela inoculação de suspensão de células de *L. loboi* obtidas através de lesões de doentes com Lobomicose. A resposta à infecção parece depender da susceptibilidade do hospedeiro ao *agente*.[16]

Não existem até à data registos de transmissão inter-humana.[5]

Uma vez na derme, o fungo é fagocitado iniciando um crescimento e multiplicação lentos. A disseminação da infecção a partir da derme onde o fungo prolifera intensamente, pode ocorrer por continuidade, por via linfática para gânglios linfáticos regionais ou por via hematogénea.[1,5,14]

O período de incubação deste fungo não está definido, parecendo ser longo nos doentes residentes em áreas endémicas. A capacidade que este fungo tem em permanecer no hospedeiro sem provocar a sua morte, permite uma perpetuação da infecção.

Nos casos de infecção de doentes residentes em áreas não endémicas o período de incubação é variável de meses a anos. Por exemplo, num tratador de golfinhos em França, o período de incubação foi de 3 meses[9], numa doente canadiana que viajou para a Venezula e Guiana foi de um ano[8] e num homem que terá adquirido a infecção durante uma viagem à Venezuela, apenas se manifestou 2,5 anos depois.

Salienta-se um caso de inoculação experimental em humano, em que um assistente de laboratório auto-inoculou células leveduriformes provenientes de um doente venezuelano com Lobomicose, observando-se uma lesão com cerca de 33 mm de diâmetro, 4 anos após a inoculação.[19]



Figura 2 – Lesões papulo-nódulares queloidiformes.

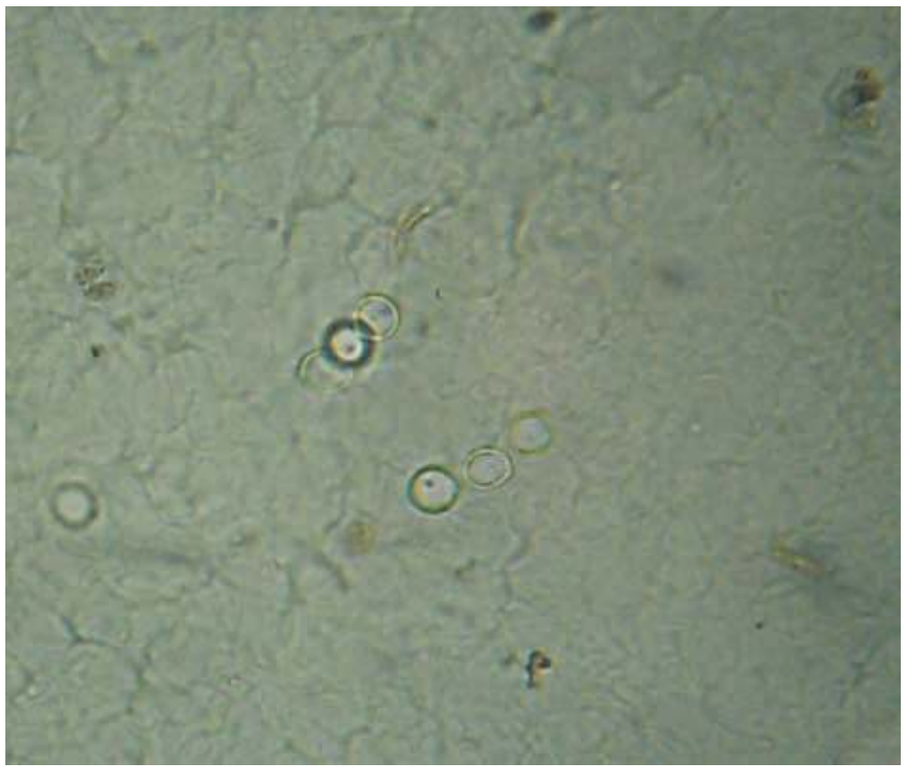


Figura 3 – Esfregaço esfoliativo. Formas uniformemente arredondadas apresentando estruturas com paredes espessas e refrigentes (Exame directo a 400x).

Um caso de Lobomicose acidental ocorreu numa veterinária que trabalhou com células purificadas de *L. loboi*. A doente referiu o aparecimento de um nódulo subcutâneo na face interna do 3.º dedo da mão esquerda, indolor, o qual evolui lentamente durante 10 meses, tornando-se posteriormente incapacitante por limitar a mobilidade do dedo.[17,18]

/ Aspectos imunológicos

Pouco se sabe sobre a resposta imune local à infecção da pele por *L. loboi*. Histologicamente, o aspecto das lesões caracteriza-se por granulomas pouco organizados constituídos, predominantemente, por histiócitos (CD68), nomeadamente células de Langerhans e células gigantes multinucleadas. No entanto, estudos imunohistoquímicos evidenciam, ainda, a existência em pequeno ou moderado número, de células mononucleadas: linfócitos T ($CD3^+$), linfócitos T auxiliadores ($CD4^+$), linfócitos T citotóxicos ($CD8^+$), linfócitos B ($CD20^+$), plasmócitos ($CD79^+$) e células NK ($CD57^+$).[20]

Num estudo de 2005, Vilani-Moreno *et. al.* sugerem que os fungos são fagocitados pelos histiócitos, formando agregados que originam células gigantes cujo processo de maturação dá origem às células gigantes multinucleadas de Langhans, que conduzem à formação dos típicos granulomas.

No sentido de compreender melhor a imunopatogenia da Lobomicose e tendo em conta o envolvimento das células de Langerhans na apresentação de antigénios em diversas infecções, Quaresma et al. realizaram um estudo imuno-histoquímico das células de Langerhans (marcação com CD1) nas lesões cutâneas de lobomicose. Nesse estudo verificou-se que a sua morfologia não diferia da das células normais, tendo sido admitido existir um mecanismo de escape ao sistema imune local, responsável pela evasão à apresentação de antigénios por estas células.[21]

Marcos *et. al.* estudaram a eventual associação entre especificidades antigénicas e o sistema HLA da classe II, não tendo sido evidenciada qualquer associação entre os antigénios HLA e a lobomicose. No entanto, o mesmo estudo revelou uma diminuição na frequência do antigénio HLA-DR7 no grupo doente em relação ao grupo de controlo, o que pode indiciar uma relação negativa (protectora) entre o HLA–DR7 e a lobomicose.[22]

Apesar de serem necessários mais estudos, parece existir uma resposta imunológica com défice da imunidade celular, sem haver alteração da imunidade humoral. [23] Esta resposta imunológica deficiente foi evidenciada pelo atraso na resposta destes doentes a outros antigénios, nomeadamente de *Staphylococcus, Streptococcus, Trycophyton* e *Candida*.[1]

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES DE LOBOMICOSE

Forma		Distribuição		Gravidade	
Monomórfica:	• Queloidiforme, • Verruciforme, • Macular, • Gomatosa, • Ulcerativa, • Infiltrativa	**Localizada – restritas a apenas uma área:**	• Solitária • Múltipla	**Ligeiro**	1 Lesão <5cm
Polimórfica:	Combinação de formas monomórficas	**Multifocal**	se mais de uma área ou região anatómica está envolvida	**Moderado**	>1 lesão; 5-15cm
		Disseminada	se muitas áreas diferentes estão envolvidas	**Grave**	Várias lesões >15cm

TABELA 2 – DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LOBOMICOSE

Diagnóstico diferencial de Lobomicose	
Infecções fúngicas:	• Cromoblastomicose • Esporotricose • Feohifomicose • Histoplasmose • Micetoma • Paracoccidioidose • Pioderma tipo blastomicose
Infecções parasitárias:	• Leishmaniose anergica • Leishmaniose mucocutânea
Infecção por Micobacterias:	• Tuberculose cutânea • Lepra lepromatosa nodular
Tumores:	• Cancro da pele (melanoma ou não melanoma) • Dermatofibrosarcoma • Linfomas (Mycosis fungóides) • Metástases cutâneas • Neoplasias benignas de expressão nodular • Sarcoma de Kaposi
Outros:	• Escleroderma com formas quelóidais • Histiocitose de células não-Langerhans • Psoriase em placa • Queloides verdadeiros • Sarcoidose • S. Ehlers-Danlos tipo IV • Xantomatose (forma esclerótica de xantoma disseminado)

/ Manifestações clínicas

Geralmente, as lesões ocorrem em áreas expostas e por isso susceptíveis de sofrerem traumatismos (ex: picada de insecto) [24,25] e regiões de temperatura mais baixa, em particular a face e as extremidades.[2, 26]

As áreas de ocorrência são por ordem de frequência: membros inferiores (32%), pavilhão auricular (25%), membros superiores (22%), face (7%), sacro (3%), tórax (2%) e pescoço (1%).[5]

As lesões cutâneas são inicialmente imperceptíveis, indolores ou pruriginosas, aumentando ao longo de meses ou anos, alterando não só a sua dimensão mas também a coloração e a distribuição. [24]

As lesões podem ser classificadas quanto à forma em monomórficas ou polimórficas (máculas, pápulas, nódulos, gomas, placas nodulares, verruciformes, cicatriciais até lesões ulcerativas), predominando as lesões nodulares,[5] à distribuição (localizada ou multifocal) e quanto à intensidade, de acordo com o número de lesões, em ligeira, moderada ou grave (Tabela1): [2,27,28]

/ Diagnóstico diferencial [1,5,29, 30]

Devido ao seu polimorfismo a lobomicose pode confundir-se com inúmeras entidades mencionadas na Tabela 2.

/ Diagnóstico

O diagnóstico é efectuado através do exame micológico, anatomopatológico, e imuno-histoquímico. Até à data, nunca foi possível obter uma cultura deste fungo.[31]

O exame micológico directo é obtido através do macerado de fragmento de biopsia cutânea, da escarificação, raspagem, curetagem ou do uso de fita-cola a partir da lesão cutânea.

A visualização dos fungos é evidenciada através das colorações de PAS, e Grocott-Gomori, a fresco ou com calcofluor.[5] (Figura 3). São células leveduriformes esféricas de 6 a 12µm de diâmetro, de membranas birrefringentes, isoladas ou

com gemulações, com distribuição frequentemente em rosário ou em cadeia de 3-9 elementos[1,5].

A coloração com brometo de etídio (marcador de ácidos nucleicos) é útil para evidenciar que a maioria dos fungos encontrados nos infiltrados não é viável , pois são estruturas constituídas por paredes celulares fúngicas sem ácidos nucleicos. [27]

Ao exame anatomo-patológico a epiderme pode ser normal, atrófica, hiperplásica ou ulcerada, com fungos (agregados ou isolados) localizados nos infundibulos hiperplásicos. [32]

Na derme observam-se vasos dilatados, neovascularização, fibrose, infiltrado de linfócitos, histiócitos, células epitelióides, células gigantes, eosinófilos e plasmócitos. Muitos dos histiócitos apresentam fungos no seu interior, o que sugere que sejam fagocitados por estas células, formando células gigantes que após um processo de maturação, dão origem às células gigantes multinucleadas de Langhans[20]. Alguns estudos parecem evidenciar a eliminação transepidérmica dos fungos, que pode ser vista como pequenos pontos negros que corresponderiam à eliminação de fungos associados a resíduos necróticos [32].

/ Tratamento

A escolha do tratamento depende da distribuição das lesões.

No caso de se tratar de uma lesão localizada a excisão cirúrgica e/ou a crioterapia são o tratamento de escolha. Para prevenção da recorrência deverá ser utilizada terapêutica com clofazimina (50mg/d), dapsona (100mg/d) ou itraconazol[17], imediatamente a seguir à cirurgia e durante pelo menos um ano.

No caso de lesões extensas as terapêuticas antifúngicas usadas, habitualmente, com sucesso em outras micoses profundas, não são eficazes na lobomicose.

Os resultados mais favoráveis foram obtidos com clofazimina 300mg/dia (1.º mês), passando a 200mg/d no 2.º mês e a 100mg/d até completar 24 meses. [32] De acordo com Fisher *et. al,.* a associação de clofazimina com itraconazol durante um ano mostrou efeitos benéficos[33].

Bustamante obteve redução de lesões com o uso de pozaconazol durante 75 semanas[5]. Alguns estudos apresentam resultados insatisfatórios com cetoconazol, anfotericina B, 5- fluoruracilo e sulfamidas[34].

O tratamento médico pode ser, complementado com a excisão cirúrgica seriada de algumas lesões.

/ Evolução clínica

Devido ao crescimento extremamente lento do fungo o período de incubação é lento e a evolução clínica é insidiosa demorando meses a anos até se manifestar.

Após um período prolongado de evolução, as lesões podem tornar-se infiltrativas, envolvendo gânglios linfáticos, ou raramente, ocorrer transformação de lesões de lobomicose crónica em carcinoma pavimento celular.[35]

Actualmente trata-se de uma infecção para toda a vida, excepto se tratada precocemente, com remoção cirúrgica da lesão inicial.

/Morbilidade e Mortalidade

Não existem registos de mortes associadas à infecção por *L. loboi.*

Apenas um dos doentes que desenvolveu carcinoma pavimento celular num dos nódulos lobomicótico morreu por metastização pulmonar. [36]

Baruzzi observou durante anos doentes da tribo indígena do Cayabi. Nesse período verificou o desenvolvimento de lesões tumorais tipo couve-flor em lesões cicatriciais de lobomicose, nas quais se confirmou histologicamente tratar-se de um carcinoma de células escamosas. [35]

/ Conclusão

A Lobomicose é uma micose tropical observada em pessoas que vivem ou permaneceram em climas tropicais. Contudo devido à globalização e às viagens por motivos de lazer ou trabalho, os médicos que trabalham em climas temperados deverão estar atentos a situações clínicas que decorrem no regresso das viagens.

Deste modo é essencial pensar neste diagnóstico em pessoas com alterações cutâneas em áreas expostas, susceptíveis a traumatismos, oriundas ou com história de permanência em área endémica, particularmente da América do Sul. Actualmente a cura apenas é possível se a doença for diagnosticada numa fase precoce. Mais estudos serão necessários para clarificar esta entidade nosológica.

/ Bibliografia

1. Ramos-e-Silva M, Aguiar –Santos Vilela F, Cardoso de Brito A, Coelho-Carneiro S. Lobomycosis. Literature review and future prospectives. Actas Dermosifiliogr. 2009; 100;Sup.1:92-100

2. Taborda P, Taborda V, McGinnis MR, *Lacazia loboi* gen. Nov.,comb.nov.,the ethiologic agent of Lobomycosis. J. Clin Microb. 1999, 37(6):2031-2033

3. Herr RA, Tarcha EJ, Taborda PR, Taylor Jw, Ajello L, Mendoza L. Phylogenetic analysis of *Lacazai loboi* places this previously uncharacterized pathogen within dimorphic Onygenales. J Clin Microbiol. 2001; 39:309-14

4. Hibbet DS, Binder M, Bischoff JF, Blackweel, et. al A higher-level phylogenetic classification of the *Fungi*. Myc Res.2007; 111:509-547

5. Brito Ac, Quaresma JAS. Lacaziose (doença de Jorge Lobo): revisão e atualização. An. Bras Dermatol. 2007; 82(5): 461-74

6. Lupi O, Tyring SK, McGinnis MR. Tropical Dermatology: Fungal Tropical diseases. J. Am .Acad Dermatol. 2005, 53(6):932-934

7. Burns RA, Roy JS, Woods C, Padhye AA, Warnock DW. Report of the first human case of Lobomycosis in United States. J. Clin Microb.2000, 38 (3): 183-1285

8. Elsayed S, Kuhn SM, Barber S, Church dl, Adams S, Kasper R. Human case of Lobomycosis. Emerg Inf. Diseas. 2004, 10 (4): 715-718

9. Symmers WS. A possible case of Lobo's disease acquired in Europe from a bottle-nosed dolphin (*Tursiops truncatus*) Bull Soc Pathol Exot Filiales. 1983, 76:777-84.

10. Saint-Blancard P, Maccari F, Le Guyadec T, Lanternier G, Le Vagueresse R Lobomycosis: a mycosis seldom observed in metropolitan France. Ann Pathol. 2000, 20(3):241-4.

11. Al-Daraji WI, Husain E, Robson A; Lobomycosis in African Patients, British J. Dermatol, 2008, 159:231-266.

12. Caldwell DK, Caldwell MC, Woodard JC, Ajello L, Kaplan W, McClure HM. Lobomycosis as a disease of the Atlantic bottle-nosed dolphin (*Tursiops truncates*). Am J Trop Med Hyg.1975; 24:105–14.

13. De Vries GA, Laarman JJ. A case of Lobo's disease in the dolphin *Sotalia guianensis*. Aquatic Mammals. 1973;1:26–33

14. Paniz-Mondolfi AE, Sander-Hoffmann L. Lobomycosis in inshore and estuarine dolphins. Emerg Infect Dis. 2009; 15(4):672-3.

15. Talhari S, Neves R G; Dermatologia Tropical; capítulo 18 – Doença de Jorge Lobo; MEDSI, 1996: 237-253

16. Belone AF, Madeira S, Rosa PS, Opromolla DV: Experimental reproduction of the Jorge Lobo's disease in BALB/c mice inoculated with *Lacazia loboi* obtained from a previously infected mouse. Mycopathologia 2002, 155:191-194.

17. Sammarco P, Soares CT, Belone AFF, Vilela R, Ura S, Filho MC,Mendoza L. Accidental Jorge Lobo's disease in a worker dealing with *Lacazia loboi* infected mice: a case report. J Med Case Reports. 2009; 3: 67.

18. Paniz-Mondolfi AEP, Jaimes OR, Jones LD. Lobomycosis in Venezuela. Inter J. Dermatol. 2007, 46:180-185

19. Borelli, D. Lobomicosis experimental. Dermatol. Venez. 1961;3:72-82

20. Vilani-Moreno FR, Belone AF, Soares CT, Opromolla DVA. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in Jorge Lobo's disease. Rev Iberoam Micol. 2005;22:44-9.

21. Quaresma JA, Unger D, Pagliari C, Sotto MN, Duarte MI, de Brito AC. Immunohistochemical study of Langerhans cells in cutaneous lesions of the Jorge Lobo's disease. Acta Trop. 2010 Apr; 114(1):59-62.

22. Marcos EV, Souza FC, Torres EA, Lauris JR, Opromolla DV. Study of the association between human leukocyte antigens and Jorge Lobo's disease. Rev Soc Bras Med Trop. 2005 Sep-Oct;38(5):399-401

23. Pecher SA, Croce J, Ferri RG. Study of humoral and cellular immunity in lobomycosis. Allergol Immunopathol 1979; 7:439-444

24. Fuchs J, Milbradt R, Pechr SA. Lobomycosis (keloidal blastomycosis): case reports and overview. Cutis 1990; 46: 227-34

25. Azulay RD, Carneiro JA, Andrade LC. Jorge Lobo blastomycosis. Etiology, experimental inoculation, immunology and pathology of the disease. An Bras Dermatol 1970; 45:47-66

26. Rodrigues-Toro G. Lobomycosis. Int J Dermatol. 1993, 32: 324-332

27. Opromolla DVA, Belone A, Taborda P, Taborda V. Correlação clínicopatológica em 40 novos caos de lobomicose. An Bras Dermatol. 2000, 75 (4): 425-434

28. Brito AC; Diógenes MJN, Gonçalves H, Talhari S, Neves R. Lobomicose; Atlas de Dermatologia Tropical; MEDSI, 2ª edição, 2001:217-24

29. Tubilla LHM, Schettini APM, Eiras JC, Graça CZA, Frota MZM. Lacaziosis mimicking borderlin tuberculoid leprosy. An Bras Dermatol. 2008; 83:261-3

30. Talhari C, Oliveira CB, Santos MNS, Ferreira LC, Talhari S. Disseminated lobomycosis. Inter J Dermatol. 2008, 47:582-583

31. Vilela R, Mendoza L, Rosa PS, et al. Molecular Model for Studing the Uncultivated Fungal Pathogen *Lacazai loboi*. J. Clin Microb.2005, 43(8): 3657-3661

32. Miranda M, Bettencourt M. Eliminação transepidermica de parasitas na doença de Jorge Lobo. An Bras Dermato.2010; 85(1): 39-43

33. Silvia D. Traitement de la maladie de Jorge Lobo par la clofazimine. Bull Soc pathol exot.1978; 71:409-12

34. Fisher M, Talhari AC, Reinel D, Talhari S. Lobomykose. Hautarzt. 2002; 53:677-81.

35. Pradinaud R, Talhari S.Lobomycosis. maladies infectieuses. 1996; 8:608-610

36. Baruzzi RG, Rodrigues DA, Michalany NS, Salomão R. Squamous-cell carcinoma and lobomycosis (Jorge Lobo's disease). Int J Dermatol. 1989 Apr;28(3):183-5.

RPDI
Setembro > Dezembro 2011 / Vol. 7 > N.º 3

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Hepatotoxicidade associada aos anti-retrovirais

Hepatic toxicity associated with antiretroviral therapy

/ C. Valente[1] / C. Fernandes[2]

[1] Assistente Hospitalar Graduada de Infecciologia
[2] Interna do Internato Complementar de Infecciologia

Serviço de Doenças Infecciosas
(Dir: Dr António Vieira)
Centro Hospitalar de Coimbra, EPE
Coimbra

Correspondência:

Cristina Valente
Serviço de Doenças Infecciosas
Centro Hospitalar de Coimbra, EPE
Quinta dos Vales
3041-801 S. Martinho do Bispo – Coimbra

Tel: +351 239800155
Fax: +351 239800132
e-mail: cristinavalente@chc.min-saude.pt

/ Resumo

Na era da terapêutica anti-retroviral altamente eficaz, as complicações relacionadas com o fígado são cada vez mais comuns, constituindo a toxicidade hepática uma causa frequente de morbilidade, mortalidade e de descontinuação terapêutica. É difícil determinar qual o contributo de cada fármaco anti-retroviral no desenvolvimento da toxicidade hepática, podendo qualquer um, potencialmente hepatotóxico, ser o responsável pela elevação das enzimas hepáticas. Para além disso, a presença dos vírus das hepatites B (VHB) e C (VHC) aumentam o risco de hepatotoxicidade. Na maioria dos casos, as manifestações clínicas são ligeiras e evoluem sem consequências clínicas. Como as diferentes etiologias têm impacto clínico diferente, é essencial identificar todas as possíveis causas de hepatotoxicidade, de forma a serem aplicadas medidas que minimizem este problema.

Palavras-chave: Terapêutica anti-retroviral, Fígado, Hepatotoxicidade.

/ Abstract

Liver-related complications in human immunodeficiency virus-infected patients are increasing in the highly active anti-retroviral therapy era and liver toxicity is a frequent cause of morbidity, mortality and treatment discontinuation. The contribution of each drug to liver toxicity is difficult to determine, as every anti-retroviral drug has been associated with liver enzyme elevation. In addition the presence of HBV and HCV also complicates anti-retroviral treatment by increasing rates of drug toxicity. In most cases these manifestations are mild and exist without clinical consequence. As different aetiologies have different clinical impact, it is essential to identify all potential causes of liver injury to correctly implement steps to alleviate this condition.

Key-words: *Antiretroviral therapy, Liver, Hepatic toxicity.*

/ Introdução

As alterações das provas da função hepática são causa frequente quer de morbilidade e mortalidade, quer de descontinuação terapêutica nos indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH). Num estudo que envolveu mais de 23 000 doentes, a morte relacionada com o fígado foi a causa não relacionada com o VIH mais vezes identificada e responsável por 14,5% das mortes[1].

Qualquer fármaco anti-retroviral pode ser potencialmente hepatotóxico, apesar de alguns causarem maior lesão hepática do que outros. A toxicidade hepática ocorre mais frequentemente em indivíduos com disfunção hepática subjacente. Há também determinados factores que podem ter um efeito aditivo ou potenciar o efeito tóxico, tais como o álcool, a co-infecção pelos vírus VHB e VHC, para além de outros fármacos (ex: isoniazida, rifampicina).

/ Definição e Mecanismos

A definição mais aceite de hepatotoxicidade é a usada no *AIDS Clinical Trials Group*, considerando-se hepatotoxicidade severa a de grau 3 ou 4 consoante a elevação das transaminases seja superior a 5 ou 10 vezes o valor normal (VN)[2]. No caso de discordância no valor destas enzimas, deve considerar-se o valor mais elevado.

A terapêutica anti-retroviral (TARV) raramente induz hepatotoxicidade severa embora tenha sido descrita em 2-18%, numa metanálise publicada[3]. São vários os mecanismos possíveis envolvidos na etiologia da hepatotoxicidade associada à TARV nomeadamente, um efeito tóxico directo do fármaco, reconstituição imune na presença dos vírus VHB e/ou VHC, reacções de hipersensibilidade (ex: nevirapina) ou fenómenos de toxicidade mitocondrial [ex: análogos nucleosídicos da transcriptase reversa (NRTI)][3,4,5]. A esteatose hepática parece ser também um mecanismo potencialmente envolvido[6].

Apesar da síndroma de reconstituição imune ser controversa, como mecanismo de toxicidade hepática[3,4,5], há dados que a suportam: o dano hepático induzido pelas infecções crónicas pelo VHB e VHC é sobretudo mediado imunologicamente e o défice imunitário causado pelo VIH é o responsável pela reacção atenuada do fígado em indivíduos co-infectados (ex: transaminases normais ou ligeiramente elevadas). A inibição da replicação do VIH com a TARV, desencadeia uma resposta imune restaurada frente aos antigénios do VHB e do VHC presentes nas células hepáticas, ocorrendo um aumento da actividade citolítica contra as células hepáticas infectadas pelo vírus. A subida de CD4 superior a 50 células, após início da TARV, foi descrito como factor independente para hepatotoxicidade[3,4,6,7,8].

/ Manifestações clínicas e factores de risco

As manifestações de hepatotoxicidade têm um amplo espectro que vai desde formas assintomáticas até quadros de insuficiência hepática fulminante. Na maioria dos casos, a hepatotoxicidade associada à TARV é assintomática e limitada à elevação das enzimas hepáticas. Esta resolve de forma espontânea na maioria dos casos e sem necessidade de interrupção terapêutica[9], tratando-se de um processo chamado de "adaptação"[10]. Pelo contrário, uma hepatotoxicidade sintomática está associada a uma significativa morbilidade e mortalidade[11]. Apesar da falência hepática ser rara, há casos isolados descritos associados aos diferentes NRTI, nevirapina, efavirenze, indinavir, atazanavir e darunavir[5]. Saliente-se que, a exposição contínua à TARV, num doente já com manifesta toxicidade hepática sintomática, pode levar a uma falência hepática e morte[11].

Os factores que têm sido claramente associados ao risco de hepatotoxicidade são: 1) valor basal das enzimas hepáticas[12,13], 2) co-infecção pelos VHB e/ou VHC[11,12,14,15,16] e 3) TARV, especialmente a nevirapina[13,17], didanosina ou Inibidores da Protease (IP) potenciados com doses altas de ritonavir[7,8,13,14,16,18]. Foi já demonstrado que o risco de hepatotoxicidade é claramente maior após TARV em indivíduos com maior grau de fibrose hepática[19]. No caso da co-infecção por VHB e VHC, a toxicidade hepática de grau 3 ou 4 é muito mais frequente, estando a presença de VHC associada, só por si, a um risco 3-4 vezes superior[12,15], particularmente em indivíduos com genótipo 3[20,21,22]. Dados publicados na literatura em indivíduos não co-infectados, mostram graus de hepatotoxicidade de grau 4 em 11,2%, enquanto na co-infecção, estão descritas taxas de 14,7% no caso do VIH/VHB e de 16,7% na co-infecção VIH/VHC[14]. Em relação aos fármacos anti-retrovirais, o risco de hepatotoxicidade associado à nevirapina é substancialmente superior em indivíduos VHC positivos[8].

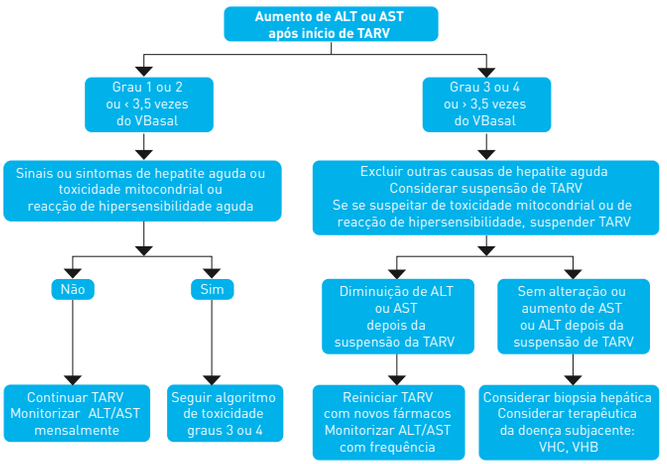
Analisando vários estudos publicados, parece haver uma associação entre a classe dos NNRTI (não análogos nucleosídicos da transcriptase reversa) e o aparecimento de fenómenos de hipersensibilidade, que surgem precocemente após introdução da TARV, particularmente, em indivíduos co-infectados por VHB e/ou VHC. Nestes, o risco de toxicidade hepática é claramente superior[23].

Outros factores de risco têm sido descritos como associados a uma maior propensão para hepatotoxicidade associada à TARV, tais como, idade avançada, sexo feminino, álcool, uso de cocaína, trombocitopenia[8,13], insuficiência renal[8,13], entre outros.

/ Anti-Retrovirais e toxicidade hepática

Os aspectos descritos têm sido contraditórios no que diz respeito ao risco de hepatotoxicidade associada às diferentes classes de anti-retrovirais, até porque, a sua combinação torna naturalmente difícil atribuir o dano hepático a um fármaco em particular.

As manifestações de hepatotoxicidade ocorrem em diferentes fases, consoante as diferentes classes de fármacos: no caso dos NRTI, estes originam uma esteatose



Quadro 1 – Procedimentos perante hepatotoxicidade causada por anti-retrovíricos

hepática, causada provavelmente por toxicidade mitocondrial que habitualmente se manifesta após seis meses de tratamento. Os NNRTI frequentemente causam reacções de hipersensibilidade nas primeiras 12 semanas de tratamento. Com a utilização de IP, os resultados têm sido mais controversos, tendo sido reconhecida hepatotoxicidade em qualquer altura do tratamento[5]. Também os indivíduos co-infectados por vírus das hepatites estão em maior risco com o uso de IP.

1. NRTI

No que diz respeito à classe dos NRTI, a maioria destes fármacos induz toxicidade mitocondrial, que se pode manifestar com ou sem esteatose hepática. A zidovudina, estavudina e didanosina, têm sido os fármacos mais vezes apontadas como mais hepatotóxicos. O quadro clínico consiste em sintomatologia inespecífica, incluindo náuseas, vómitos, mialgias, astenia, dores abdominais e por vezes icterícia e hepatomegália, podendo estar presente um quadro laboratorial misto de citólise/colestase[24].

A acidose láctica é rara mas, potencialmente ameaçadora. Ocorre mais frequentemente com a estavudina, didanosina e menos, com a zidovudina, abacavir ou lamivudina. Constituem factores de risco a obesidade, o sexo feminino, a gravidez, a terapêutica com ribavirina, a diminuição da creatinina e o baixo valor do *nadir* CD4[5]. Fazem parte da sintomatologia queixas inespecíficas, tais como a fadiga, náuseas, vómitos, dores abdominais, perda de peso e dispneia, que podem ter uma evolução lenta ou mais rápida. Laboratorialmente, encontra-se elevação do lactato, com ou sem acidose metabólica, elevação da creatininafosfoquinase (CPK), desidrogenase láctica (LDH), amilase, lipase, gamaglutamil transferase (GGT) e diminuição do valor de bicarbonatos. A ecografia revela a presença de esteatose. Podem ocorrer casos severos de acidose láctica, mesmo antes da lactatémia sintomática. A medição regular dos lactatos não constitui uma rotina e a sua elevação não é preditiva de acidose láctica[25], no entanto, perante a sua suspeita, deve fazer-se uma monitorização adequada.

As reacções de hipersensibilidade (HSR) ao abacavir caracterizam-se por exantema, que é, em geral, mais discreto que o exantema da nevirapina, ocorrendo febre em cerca de 80% dos doentes, bem como sintomas gastrintestinais, tais como náuseas, vómitos, diarreia e dor abdominal. É frequente a elevação das transaminases, fosfatase alcalina, LDH e creatinina. Apesar de rara, a falência hepática já foi descrita[26] e a eosinofilia é rara[24]. O critério a favor de HSR é a ocorrência de um quadro febril nas primeiras 6 semanas de tratamento, acompanhado de sintomas gastrintestinais/respiratórios com agravamento a cada toma[24].

2. NNRTI

A incidência de hepatite sintomática com a nevirapina é de 2,5-11%, variando com o sexo e a situação imunológica do doente[27]: em mulheres com CD4 > 250 cél/mm3, a incidência de hepatotoxicidade sintomática é de 11% *versus* 0,9% em mulheres com < 250 cél/mm3. Vários casos de hepatotoxicidade severa, alguns deles fatais, foram descritos com a utilização de nevirapina em esquemas de profilaxia pós-exposição e no caso de mulheres com CD4 > 250 cél/mm3 pelo que, nestas duas situações, este fármaco não é recomendado.

A toxicidade hepática é muito mais comum com a nevirapina do que com qualquer outro anti-retroviral. Com este fármaco, as manifestações de hepatotoxicidade podem ser precoces, surgindo habitualmente nas primeiras 12 semanas, com um predomínio entre a 4.ª e a 6.ª semana, tratando-se de uma reacção de hipersensibilidade, ou tardias (> 4.º mês de tratamento), associadas ao efeito intrínseco cumulativo do fármaco[28]. Neste último caso, a hepatotoxicidade é menos preocupante, podendo ter uma resolução espontânea com o tempo[3]. Em caso de hipersensibilidade, a febre pode anteceder o exantema, que é habitualmente eritematoso ou maculopapular, pruriginoso, confluindo particularmente no tronco e braços, acompanhado de mialgias, fadiga e mesmo ulcerações mucosas. A eosinofilia é o dado laboratorial mais frequente.

Apesar de ter sido descrita hepatotoxicidade associada ao efavirenze, esta é claramente inferior e mais rara do que a da nevirapina [8,29], o que leva a crer que não se trata de um efeito da classe, mas do fármaco em si[16]. No caso do efavirenze podem ocorrer elevações *minor* da enzimologia hepática.

O exantema associado à nevirapina está descrito em 15-20% dos casos, dos quais 5-10% descontinuam o tratamento. Aquele é menos comum no caso da etravirina e do efavirenze, em que a descontinuação terapêutica ocorre em apenas 2% dos casos[5]. O tratamento deve ser imediatamente descontinuado em caso de envolvimento mucoso, descamação, febre >39ºC ou disfunção hepática [transaminases >5 vezes o valor normal (VN)]. No caso

do exantema associado à nevirapina, para além da descontinuação do fármaco, este não deve ser reintroduzido[5]. Se as manifestações ocorrerem após a 8.ª semana devem ser excluídas reacções de hipersensibilidade a outros fármacos.

3. IP

Em relação aos IP, os vários estudos realizados não comprovaram a potencial hepatotoxicidade desta classe, excepto no que diz respeito à chamada *full-dose* do ritonavir[7]. O uso de IP potenciados não parece induzir um maior risco de hepatotoxidade[3,16] excepto no que diz respeito ao tipranavir, que aparenta ser o mais hepatotóxico, devido à maior dose de ritonavir da associação. Este último não deve ser administrado em indivíduos com classe B ou C da classificação de *Child Pugh*[5] e em indivíduos com alterações basais das transaminases (2xVN), pelo maior risco de desenvolverem graus 3-4 de hepatotoxicidade ou descompensação hepática[4,30].

O atazanavir revelou-se um fármaco seguro, não havendo maior risco de elevação das transaminases em indivíduos com fibrose e/ou cirrose pré-existente. Mesmo em indivíduos com doença hepática terminal este IP não agravou a evolução da doença[31], pelo que constitui uma opção válida em indivíduos com doença hepática avançada.

Saliente-se que cerca de 50% dos indivíduos sob terapêutica com indinavir ou atazanavir desenvolvem hiperbilirrubinémia com valores moderadamente elevados (3 a 5 vezes VN), o que não justifica alterações do esquema terapêutico caso as restantes enzimas estejam dentro dos parâmetros normais.

O mais recente IP, o darunavir, mostrou também tratar-se de um fármaco seguro[32], em indivíduos co-infectados pelo VIH/VHC. Mais recentemente, no estudo *Monet*, verificou-se uma correlação entre a elevação da ALT e a co-infecção pelo VHC, no entanto, aquela foi temporária, normalizando ao fim de algum tempo[33].

4. Outras classes de anti-retrovirais

Relativamente às novas classes de anti-retrovirais, o raltegravir demonstrou ser um fármaco seguro a utilizar em indivíduos co-infectados[34], bem como o inibidor do CCR5 (maraviroc), que se revelou ser bem tolerado e com bom perfil de segurança hepática nestes doentes[4].

/ Manuseio da Hepatotoxicidade

O manuseio da hepatotoxicidade associada à TARV deve basear-se na sua gravidade clínica e nos mecanismos patogénicos subjacentes. Todas as alterações da enzimologia hepática devem ser interpretadas com cautela: são exemplos o aumento da *GGT* com os NNRTI ou a hiperbilirrubinémia associada ao indinavir e ao atazanavir, que não significam lesão hepática[35]. Estão descritos aumentos da *GGT* em 30% dos indivíduos sob terapêutica com nevirapina e em 36,5% dos doentes sob efavirenze[36,37],



associando-se este aumento a uma indução enzimática e não a uma manifestação de hepatotoxicidade. O mesmo se verifica com o abacavir, por haver alterações potenciais do seu metabolismo na presença de doença hepática[36]. Portanto, só quando o aumento da *GGT* coincidir com um aumento da fosfatase alcalina se deve equacionar a hipótese de lesão colestática[4,6]. O mesmo se aplica à bilirrubina, cujo aumento isolado não traduz dano hepático, podendo ser secundário a hemólise ou à utilização de fármacos que inibem a gama glucoronil transferase, originando uma bilirrubinémia indirecta (ex: indinavir, atazanavir). Caso este aumento se acompanhe de uma elevação da fosfatase alcalina, a hipótese de colestase deve ser considerada[37].

Elevações da enzimologia hepática em co-infectados VIH/VHB, podem traduzir *flares*, que são muito comuns na evolução da doença[37] e que, em geral, não traduzem gravidade.

A elevação das transaminases também deve ser atentamente interpretada no contexto clínico. Muitas vezes, a hepatotoxicidade associada à TARV é assintomática, e na maioria dos casos a elevação daquelas enzimas resolve de forma espontânea, sem necessidade de alterar a terapêutica e sem consequências

clínicas relevantes[9]. Saliente-se a importância de excluir outras etiologias como responsáveis pela hepatotoxicidade antes da descontinuação terapêutica.

Logo após a introdução da TARV deve ser feita uma vigilância adequada, dependendo do esquema anti-retroviral prescrito e da presença ou não de doença hepática. A vigilância quinzenal no primeiro mês, mensal nos primeiros quatro meses e trimestral a partir dessa data seria o desejável[9], particularmente, quando alguns fármacos estão envolvidos (nevirapina, tipranavir e alguns NRTI). Em doentes com doença hepática pré-existente esta monitorização deverá ser mais apertada[5].

Sempre que se verifique elevação das AST/ALT (< 3,5 vezes VN) na ausência de sintomatologia, o tratamento deve continuar com atenta monitorização.

Se o valor de transaminases for >3,5 vezes VN, é necessária uma pesquisa etiológica com testes laboratoriais e imagiológicos (ex: ecografia abdominal) e o tratamento não deve ser suspenso excepto, no caso de toxicidade mitocondrial e/ou reacção de hipersensibilidade (ex: nevirapina)[4,38].

No caso do valor das AST/ALT se encontrar entre 5 e 10 VN, o tratamento não deve ser suspenso, na ausência de sintomas, excepto se houver aumento simultâneo de bilirrubina total (> 3-5 VN). Também nestas circunstâncias deve ser feita uma investigação etiológica[4,38].

Finalmente se as transaminases ultrapassarem um valor >10 vezes VN (grau 4), a maioria dos autores sugere a suspensão imediata da terapêutica anti-retroviral mesmo no caso do doente assintomático[4,38]; no entanto outros sugerem que, na ausência de sintomatologia, se proceda a uma vigilância apertada, visto que a maioria dos doentes tende a revelar uma descida daqueles valores, com ou sem descontinuação terapêutica[18].

No caso de elevação tardia de transaminases (> 6 meses), deve considerar–se a hipótese de acidose láctica, reacção alérgica (menos provável), devendo proceder-se a uma investigação laboratorial e imagiológica[5], após exclusão de outras etiologias (ex: infecções pelos vírus citomegálico ou Epstein Barr). Uma biópsia hepática poderá ser útil ao revelar esteatose microvesicular e alterações mitocondriais, identificando assim uma lesão induzida por NRTI e excluindo outras causas de toxicidade hepática[5].

Resumindo, na presença de: 1) icterícia com aumento progressivo da bilirrubina; 2) disfunção hepática grave; 3) sintomatologia de acidose láctica; 4) sintomas de reacção de hipersensibilidade, a TARV deve ser descontinuada na totalidade, nunca devendo ser retirados fármacos isoladamente por se lhe atribuir a provável responsabilidade de hepatotoxicidade[6].

Quanto à reintrodução da TARV, esta é recomendada após desaparecimento dos sintomas, quando o perfil hepático revelar valores de ALT inferiores a 2-3 VN e sempre com estreita monitorização do doente[38]. Aquela nunca deve ser reintroduzida em caso confirmado de reacção de hipersensibilidade à nevirapina[4,5,38].

Concluindo, todos os fármacos anti-retrovirais podem originar hepatotoxicidade pelos mais variados mecanismos. A doença hepática subjacente e o esquema anti-retroviral escolhido são factores que devem orientar a monitorização, que deve ser cautelosa e apertada (Quadro 1). Nos indivíduos co-infectados, o tratamento do VHC deve preferencialmente anteceder a TARV. Aquele, ao reduzir a progressão da doença hepática, reduz a probabilidade de hepatotoxicidade da TARV e condiciona uma melhor tolerância aos fármacos anti-retrovirais[6,39].

/ Bibliografia

1. Kirk O, Olsen C, Mocroft A, Philips A, *et al.* The D:A:D Study. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus. Arch Intern Med 2006; 166: 1632-1641

2. AIDS Clinical Trials Group. Table of grading severity of adult adverse experiences. Rockville, MD: Division of AIDS. National Institute of Allergy and Infectious Disease, Bethesda: 1996

3. Núnez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. J Hepatol 2006; 44: S132-139

4. Soriano V, Puoti M, Garcia-Gascó, *et al.* Antiretroviral drugs and liver injury. AIDS 2008; 22: 1-13

5. Schieferstein-Knauer C, Buhk T. Management of side effects. *In* Hoffmann, Rockstroh, eds. HIV 2009. Hamburg, Germany 2009; p.266-270

6. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, *et al.* Care of coinfected with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV International Panel. AIDS 2007; 21: 1073-1089

7. Sulkowski M, Thomas D, Chaisson R, *et al.* Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with HIV and the role of hepatitis C or B virus infection. J Am Med Assoc 2000; 283: 74-80

8. Sulkowski M, Thomas D, Mehta S, *et al.* Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenze-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C or B virus infections. Hepatol 2002; 35: 182-189

9. Neff G, Jayaweera D, Sherman K. Drug-induced liver injury in HIV patients. Gastroenterol and Hepatol 2006; 2(6): 430-436

10. Kaplowitz N. Drug-induced liver disorders: introduction and overview. In: Kaplowitz N, De Leve L, eds. Drug-induced liver disease. New York: Marcel Dekker 2002; p.1-13

11. McGovern BH, Birch C, Zaman MT, *et al.* Managing symptomatic drug-induced liver injury in HIV-Hepatitis C virus-coinfected patients: a role for interferon. Clin Infect Dis 2007; 45: 1386-1392

12. Monforte A, Bugarini R, Patrizio P, *et al.* Low frequency of severe hepatotoxicity and association with HCV coinfection in HIV-positive patients treated with HAART.). J Acquir Immune Defic Syndr 2001; 28(2): 114-123

13. Servoss JC, Kitch D, Andersen J, *et al.* Predictors of antiretroviral-related hepatotoxicity in the adults AIDS Clinical Trial Group (1989-1999). J Acquir Immune Defic Syndr 2006; 43(3): 320-323

14. Reisler RB, Han C, Burman W, *et al.* Grade 4 events are as important as AIDS events in the era of HAART. J Acquir Immune Defic Syndr 2003; 34(4): 379-386

15. Saves M, Vandentorren S, Daucourt V, *et al.* Severe hepatic cytolisis: incidence and risk factors in patients treated by antiretroviral combinations. AIDS 1999; 13: F115-121

16. Macias J, Castellano V, Merchante N, *et al.* Effect of antiretroviral drugs on liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C: a harmful impact of nevirapine. AIDS 2004; 18: 767-774

17. Martinez E, Blanco J, Arnaiz J, *et al.* Hepatotoxicity in HIV-1 infected patients receiving nevirapine-containing antiretroviral therapy. AIDS 2001; 15: 1261-1268

18. Wit W, Weverling J, Weel J, *et al.* Incidence of and risk factors for severe hepatotoxicity associated with antiretroviral combination therapy. J Infect Dis 2002; 186: 23-31

19. Aranzabal L, Casado L, Moya J, *et al.* Influence of liver fibrosis on highly active antiretroviral therapy-associated hepatotoxicity in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. Clin Infect Dis 2005; 40: 588-593

20. Núnez M, Ríos P, Martin-Carbonero L, *et al.* Role of hepatitis C virus genotype in the development of severe transaminase elevation after the introduction of antiretroviral therapy. J Acquir Immune Defic Syndr 2002; 30: 65-68

21. Maida I, Babudieri S, Selva C, *et al.* Liver enzyme elevation in hepatitis C virus: HIV co-infected patients prior and after initiation of HAART: role of HCV genotypes. AIDS Res Hum Retroviruses 2006; 22: 139-143

22. Torti C, Lapadula G, Puoti M, *et al.* Influence of genotype 3 hepatitis C coinfection on liver enzyme elevation in HIV-1 positive patients after commencement of a new highly active antiretroviral regimen: results from the EPOKA-MASTER Cohort. J Acquir Immune Defic Syndr 2006; 41: 180-185

23. Torti C, Costarelli S, De Silvestri A, *et al.* Analysis of severe hepatic events associated with nevirapine-containing regimens: CD4+T cell count and gender in hepatitis C seropositive and seronegative patients. Drug Saf 2007; 30: 1161-1169

24. Moreno-Cuerda V, Morales-Conejo M, Rubio R. Efectos secundários potencialmente graves del tratamiento anti-retroviral. Med Clin (Barc) 2006; 126(19): 744-749

25. Carr A. Lactic academia in infection with HIV. Clin Infect Dis 2003; 36: S96-100

26. Bjomsson E, Olsson R. Suspected drug-induced liver fatalities reported to the WHO database. Dig Liver Dis 2006; 38: 33-38

27. de Maat M, Ter Heine R, Van Gorp EC, *et al.* Cases series of acute hepatitis in a non-selected group of HIV-infected patients on nevirapine-containing antiretroviral treatment. AIDS 2003; 17: 2209-2214

28. French AL, Benning L, Anastos K, *et al.* Longitudinal effect of antiretroviral therapy on markers of hepatic toxicity: impact of hepatitis C coinfection. Clin Infect Dis 2004; 39: 402-410

29. Martin-Carbonero L, Nunez M, Gonzalez- Lahoz, *et al.* Incidence of liver injury after beginning antiretroviral therapy with efavirenze or nevirapine. HIV Clin Trials 2003; 4: 115-120

30. Chan-Tack K, Struble K, Bimkrant D. Intracranial hemorrhage and liver-associated deaths associated with tipranavir/ritonavir: review of cases from the FDA's Adverse Events Reporting System. AIDS Patient Care STDS 2008; 11: 843-850

31. Pineda J, Santos J, Rivero A, *et al.* Liver toxicity of antiretroviral combinations including atazanavir/ritonavir in patients co-infected with HIV and hepatitis viruses: impact of pre-existing fibrosis. J Antimicrob Chemother 2008; 4: 925-932

32. Bonaventura C, Bellos N, Molina JM, *et al.* Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment experienced patients with HIV-infection in Power 1 and 2. Lancet 2007; 369: 1169-1178

33. Rieger A, Banhegyi D, Schmidt W, *et al.* The MONET trial 96 week analysis: darunavir/ritonavir monotherapy versus DRV/r + 2NRTIs, for patients with HIV RNA < 50 copies/mL at baseline. XVIII International AIDS Conference. July 18-23, 2010. Vienna. Abstract THLBB209.

34. Vispo E, Mena A, Maida I, *et al.* Hepatic safety of Raltegravir in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. J Antimicrob Chemother 2010; 65: 543-547

35. Zucker S, Qin X, Rouster S, *et al.* Mechanism of indinavir-induced hyperbilirrubinemia. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 12671-12676

36. Firouzé B, Patrick M, Eric R, *et al.* Risk factors for grade 3 or 4 gamma-glutamyl transferase elevation in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. AIDS 2008; 22(10): 1234-1236

37. Fokunang C, Banin A, Kouanfack J, *et al.* Evaluation of hepatotoxicity and nephrotoxicity in HIV patients on highly active anti-retroviral therapy. Journal of AIDS and HIV Research 2010; 2(3): 48-57

38. Mathews G, Dore G. HIV and hepatitis C coinfection. J Gastroenterol and Hepatol 2008; 23: 1000-1008

39. Labarga P, Soriano V, Vispo ME, *et al.* Hepatotoxicity of antiretroviral drugs is reduced after successful treatment of chronic hepatitis. J Infect Dis 2007: 196: 670-676

RPDI
Setembro > Dezembro 2011 / Vol. 7 > N.º 3

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Carbapenemases em bactérias de Gram-negativo: o novo desafio terapêutico

Carbapenemases in Gram-negative bacteria: the new therapeutic challenge

/ G. Jorge da Silva[1] / A. Duarte[2]

[1] Centro de Estudos Farmacêuticos e Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra
[2] iMED, Departamento de Microbiologia e Imunologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa

Correspondência:

Gabriela Jorge da Silva
Faculdade de Farmácia, Pólo das Ciências da Saúde da Universidade de Coimbra
Azinhaga de Sta Comba,
3000-548 Coimbra

Telefone: +351 239488460
e-mail: gjsilva@ci.uc.pt

/ Resumo

A emergência e a disseminação da resistência aos carbapenemos no mundo representam uma ameaça significativa no tratamento de infecções adquiridas no hospital. Desde o início de 2000, um número crescente de bactérias Gram-negativo resistentes aos carbapenemos tem sido encontrado, devido à produção de carbapenemases, que inactivam carbapenemos, e frequentemente, outros antibióticos ß-lactâmicos. Estas enzimas são expressas por genes que têm capacidade de transferência entre espécies bacterianas diferentes. São encontradas em três classes diferentes de ß-lactamases (classe A, B e D). Na classe A, a KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase) encontra-se principalmente em isolados de *Klebsiella pneumoniae*, alguns responsáveis por surtos hospitalares. As carbapenemases da classe B são metalo-ß-lactamases (MBL), incluindo a IMP-5 e VIM-2. As carbapenemases de classe D ou OXA-tipo são encontradas principalmente em *Acinetobacter baumannii*, (OXA-23, OXA-40, OXA-58), à excepção da OXA-48, que tem sido encontrada somente nas enterobactérias. Recentemente, tem sido dada muita atenção à metalo-ß--lactamase NDM-1, que constitui um exemplo da rápida transferência de genes para outras espécies bacterianas, e também do comportamento humano na disseminação da resistência aos antibióticos. A identificação de bactérias Gram--negativo produtoras de carbapenemases é essencial, e devem ser implementadas medidas estritas no controlo de infecção sempre que estas sejam detectadas.

Palavras-chave: Carbapenemos; Resistência aos antibacterianos; Epidemiologia; ß-lactamases.

/ Abstract

The emergence and dissemination of carbapenem resistance worldwide represents a significant threat for the management of hospital-acquired infections. Since 2000, we have witnessed an increase recovery of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria due to the production of carbapenemases, ß-lactamases that can inactivate carbapenems, and frequently, other ß-lactam antibiotics. These enzymes are expressed by genes that have the ability to spread between different bacterial species, and are found in three different

ß-lactamase classes (class A, B and D). The carbapenemase KPC is the emergent ß-lactamase in class A, mostly found in Klebsiella pneumoniae isolates, some responsible for several hospital outbreaks. Class B carbapenemases are metallo-ß-lactamases (MBL), including IMP-5 and VIM-2, which have the widest substrate spectrum. Class D OXA-type carbapenemases are found mainly in Acinetobacter baumannii (OXA-23, OXA-40, OXA-58), except for OXA-48, which has been found only in enterobacteria. Recently, main attention has been given to the NDM-1 metallo-ß-lactamase, due to its fast spread between species and geographic locations, which has highlighted the global consequences of human behavior on dissemination of antibiotic resistance. The identification of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria is crucial and more effective infection control measures should be implemented.

Key-words: *Carbapenems; Antimicrobial resistance; Epidemiology; ß-lactamases.*

/ Introdução

O mecanismo de resistência aos antibióticos ß-lactâmicos mais comum é a produção de enzimas denominadas de ß-lactamases, que hidrolisam o anel ß-lactâmico e inactivam a acção terapêutica do antibiótico. Estima-se que existam cerca de 600 ß-lactamases descritas, o que revela a enorme plasticidade bacteriana para se adaptar aos desafios impostos ao longo dos anos pela indústria farmacêutica. Os antibióticos ß-lactâmicos são classificados em quatro grandes grupos: penicilinas, cefalosporinas, monobactamos e carbapenemos. Os carbapenemos (imipenemo, meropenemo, ertapenemo e doripenemo) são compostos que apresentam um largo espectro de acção antibacteriana, estáveis à maioria das ß-lactamases, devendo ser considerados agentes antibacterianos de retaguarda. Contudo, após a introdução do imipenemo na terapêutica na década de oitenta, é descrita em 1990 a primeira carbapenemase em *Serratia marcescens*[1]. Desde então, têm sido encontradas em diferentes áreas geográficas, e principalmente, em bactérias de Gram--negativo. Este facto constitui uma enorme preocupação no tratamento de infecções causadas por microrganismos multirresistentes, em que os carbapenemos são considerados como uma das poucas alternativas terapêuticas.

Neste contexto é importante que se conheça a epidemiologia das carbapenemases, quer pela identificação dos genes responsáveis pela sua expressão, quer pela capacidade que as bactérias têm de disseminar os genes entre si. Este artigo tem como objectivo principal dar uma visão global sobre a epidemiologia das carbapenemases mais frequentemente encontradas, dando ênfase às encontradas em Portugal, e às carbapenemases que podem vir a emergir rapidamente no nosso território, para os quais os clínicos e profissionais de laboratórios de Patologia Clínica devem ser alertados.

/ Classificação de carbapenemases e suas características

As carbapenemases são ß-lactamases que têm a capacidade de hidrolisar os carbapenemos. Em termos clínicos, esta é uma definição muito redutora. Nem todas as carbapenemases hidrolisam os carbapenemos de igual forma e/ou com a mesma eficiência (dependendo do tipo de carbapenemo e da enzima), o que se traduz em concentrações mínimas inibitórias (CMIs) com diferentes valores, situados abaixo ou acima dos valores limites entre o sensível e o resistente. Em bactérias resistentes aos carbapenemos com valores de CMI muito elevados podem eventualmente estar associados outros mecanismos de resistência, como diminuição da permeabilidade de membrana externa e/ou mecanismo de efluxo[2].

TABELA 1 – PRINCIPAIS CARBAPENEMASES SEGUNDO O LOCAL DE ACÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE AMBLER

Serina-ß-lactamases		Metalo-ß-lactamases
Classe A	**Classe D** (Oxacilinases)[a]	**Classe B** (MBLs)
• NMC-A • IMI-1 • SME-1 à SME-3 • GES-1 à GES-17 • KPC-1 à KPC-11	• OXA-23 • OXA-24 (inclui a OXA-40) • OXA-58 • OXA-48	• IMP-1 à IMP-30 • VIM-1 à VIM-30 • SPM-1 • NDM-1 à NDM-4

[a] principais grupos onde estão incluídas diferentes OXA, mas homólogas entre si

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS CARBAPENEMASES EM FUNÇÃO DO MICRORGANISMO

Microrganismo	Classe A (KPC)	Classe D (OXA)	Classe B (MBLs)
Klebsiella pneumoniae	++	++	+++
Escherichia coli	+/-	+	+/-
Outras Enterobactérias	+/-		+/- a +
Pseudomonas aeruginosa	+	+	+++
Acinetobacter baumannii	+/-	+++	+

(Adaptado de referência 4)
+++ Elevada prevalência (> 10%)
++ Moderada prevalência (1 - 10%)
+ Baixa prevalência
+/- Casos isolados

Na classificação de Ambler as ß-lactamases estão distribuídas por quatro grupos de acordo com a sua sequência aminoacídica[3]. As carbapenemases estão incluídas em três delas: classe A ou penicilinases; a classe D ou oxacilinases e a classe B ou metalo--ß-lactamases (MBLs). As duas primeiras classes têm o aminoácido serina como centro activo, enquanto as MBLs têm o ião metal divalente Zn^{++} no centro activo da enzima. Na Tabela 1 apresenta-se esta classificação, mencionando os tipos de enzimas mais frequentemente descritos.

O perfil de susceptibilidade conferido pelas carbapenemases de classe A e D é diferente do conferido pelas MBLs. As primeiras apresentam geralmente baixa eficiência hidrolítica relativamente às MBLs, o que nem sempre se traduz em resistência clínica, a não ser que outros mecanismos de resistência estejam associados. A susceptibilidade aos inibidores dos ß-lactamases é variável. Em contraste, as MBLs podem hidrolisar TODOS os antibióticos ß-lactâmicos, excepto aztreonamo, e são resistentes aos inibidores de ß-lactamases (ácido clavulânico, sulbactam, tazobactam).

/ Epidemiologia global

As primeiras carbapenemases descritas foram as metalo-ß-lactamases do tipo IMP e VIM, principalmente em bacilos Gram-negativo não fermentadores, como *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*. As MBLs do tipo VIM estão muito associadas a *P. aeruginosa*, mas recentemente têm sido descritos numerosos surtos na Grécia em *Klebsiella pneumoniae* produtoras de VIM-1, -2, -3 e -4 (Tabela 2), o que indicia uma endemecidade destas estirpes neste país[4,5]. Até à data, as MBLs têm sido reportadas em casos isolados, quer em *A. baumannii*, quer em enterobactérias, incluindo *Escherichia coli*. No entanto em *K. pneumoniae* e em *E. coli* têm emergido de uma forma extremamente preocupante as MBLs do tipo NDM (New-Delhi Metalo-ß-lactamase)[6,7]. A emergência a nível mundial destas enzimas, NDM-1 ou a sua variante NDM-2, constitui um enorme problema de saúde pública[8,9], porque praticamente todos os casos descritos têm relação com aéreas geográficas onde as estirpes produtoras destas enzimas são endémicas. A NDM-1, por exemplo, foi descrita pela primeira vez em *K. pneumoniae* isolada de um doente sueco que esteve hospitalizado na Índia[6]. Desde então, numerosos isolados, incluindo outras enterobactérias, e também em *A. baumannii*, têm sido descritos em todo o mundo[7,8,10,11,12]. A disseminação de bactérias produtoras desta enzima é definida como uma situação pandémica, para o que contribuem as viagens intercontinentais e o "turismo de saúde" realizado em países como a Índia e Paquistão[11]. Note-se que, estas bactérias além de inactivarem os antibióticos ß-lactâmicos, possuem na maioria das vezes resistência a outros grupos de antibióticos, como quinolonas e aminoglicosídeos, limitando de uma forma preocupante as opções terapêuticas. É de realçar que, a maioria das estirpes produtoras de NDM-1 apresenta uma 16rRNA metilase, que confere resistência a todos aminoglicosídeos[12].

Entre as carbapenemases, com o centro activo a serina, merecem destaque as da classe D ou oxacilinases, onde têm sido encontradas diversas variantes dos principais grupos OXA-51, OXA-24, OXA-48, OXA-58 principalmente em *A. baumannii*[13], e mais recentemente a OXA-143[14]. O facto do gene bla_{OXA-51} ser conservado nesta espécie tem sido proposto, como um marcador de identificação[15]. É de realçar que este microrganismo tem emergido como um importante patogéneo nosocomial oportunista devido em muito à sua multirresistência. Assim, em *A. baumannii* a resistência aos carbapenemos pode estar associada ao sinergismo entre vários mecanismos de resistência independentemente de expressarem uma ou várias oxacilinases[13]. Nas Enterobactérias, incluindo *E. coli*, as oxacilinases têm sido encontradas em casos isolados (Tabelas 2 e 3), embora a OXA-48 esteja disseminada por *K. pneumoniae* na Turquia, Médio Oriente e Norte de África[16,17,18]. No entanto, como se pode ver na Tabela 2 e 3, em *K. pneumoniae* é de salientar, que além das MBLs e as da classe D já referidas, são as carbapenemases da classe A que se têm destacado, nomeadamente as ß-lactamases do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase)[4,19].

A disseminação dos genes que codificam as carbapenemases pode ser por transmissão vertical entre a mesma espécie bacteriana, havendo

TABELA 3 – DISSEMINAÇÃO GLOBAL DE CARBAPENEMASES MAIS COMUNS

Tipo de enzima	Distribuição geográfica	Epidemiologia molecular
NDM (Nova Deli MBL)	Disseminada em Enterobactérias (*E. coli* e *K. pneumoniae*) Índia, Paquistão; Europa, América (casos importados)	Disseminação por plasmídeos entre estirpes e espécies
VIM	Distribuição global. Endémica na Grécia, sobretudo em *K. pneumoniae*.	Disseminação por plasmídeos
IMP	Distribuição global	Maioritariamente por disseminação por plasmídeos
KPC (Klebsiella pneumoniae)	USA desde 1999. Prevalente em Israel e Grécia. Vários surtos na Europa.	Plasmídeos em *K. pneumoniae*, por vezes a outras Enterobactérias. Disseminação clonal.
OXA-48	Disseminada em *K. pneumoniae* na Turquia, Médio Oriente e Norte de África	Plasmídeos e disseminação clonal

disseminação do clone, ou por transferência lateral dos determinantes genéticos localizados em elementos móveis, como plasmídeos, transposons e integrões, entre estirpes e espécies, e que tem um papel fundamental no aparecimento de surtos a nível mundial[20]. A metalo-ß-lactamase NDM pode ser dada como um exemplo. O facto do gene que codifica a NDM-1 estar localizado em plasmídeos conjugativos tem permitido a rápida transferência para outras espécies bacterianas. Note-se que, o conhecimento do contexto genético dos genes que codificam as carbapenemases é crucial para se compreender a sua epidemiologia. Na Tabela 3 apresenta-se a distribuição geográfica das carbapenemases frequentemente encontradas e microrganismos associados, referindo também os elementos genéticos móveis responsáveis pela disseminação.

/ Epidemiologia de carbapenemases em Portugal

É de todo o interesse conhecer quais as carbapenemases que já foram encontradas em Portugal e a sua distribuição geográfica. Este conhecimento permite ao patologista clínico estar sensibilizado para o aparecimento destas enzimas em certas espécies relativamente a outras.

As primeiras carbapenemases a serem encontradas no nosso país foram as MBLs, de acordo com a Tabela 4, IMP-5 em *A. baumannii*, *Acinetobacter* genoespécie 10 e *Pseudomonas aeruginosa*[21,22,23,24]. Os três isolados de *A. baumannii* foram identificados de culturas de urina e sangue, provenientes de doentes internados em diferentes serviços hospitalares (Medicina III Homens, Neurotraumatologia, Medicina Intensiva). Por métodos moleculares de tipificação verificou-se que eram geneticamente relacionados, mas diferentes das estirpes de *A. baumannii* incluídas no clone II Europeu, e que se tornaram epidémicas em Portugal. *Acinetobacter* genoespécie 10 foi isolada de uma amostra de sangue de um doente da Cirurgia, o que sugere que outras espécies menos comuns de *Acinetobacter* spp. poderão ser consideradas patogénicas. É de realçar que, a ß-lactamase IMP-5 foi encontrada em casos isolados, quer no tempo, quer no local, e apenas em Portugal. A IMP-8 foi encontrada em *Pseudomonas mendocina* num sanitário hospitalar[25], o que demonstra que microrganismos ambientais podem constituir um reservatório destas carbapenemases, e tornarem-se patogénios oportunistas em doentes imunodeprimidos. A VIM-2 foi descrita em *P. aeruginosa* em 2002[26], embora o isolado tenha sido identificado em 1995, tem sido encontrada em isolados de doentes com fibrose cística[27], e esporadicamente em isolados hospitalares sem qualquer relação clonal, em Vila Real[28] e em Lisboa[29,30]. Nestes isolados, a resistência ao imipenemo pode apresentar valores de CMI elevados, associados à ausência da porina OprD, específica no transporte deste antibiótico para o interior da célula[31]. Nas Enterobactérias a VIM-2 foi encontrada em três isolados de *Klebsiella oxytoca* num Hospital Pediátrico em Lisboa[32], os quais estavam circunscritos a uma unidade hospitalar e rapidamente foram tomadas medidas de modo a evitar a disseminação a outras unidades. Esta enzima VIM-2 foi encontrada num isolado de *Morganella morganii* identificado da urina de um doente do Hospital Universitário de Coimbra[33].

Não havendo dados oficiais, e tendo como base o que está publicado, os isolados produtores de MBLs têm sido identificados como casos esporádicos, o mesmo não se poderá dizer das carbapenemases que se inserem nos grupos D e A.

As carbapenemases de classe D (oxacilinases) são predominantes em isolados clínicos de *A. baumannii*, principalmente a OXA-40, que foi também encontrada na espécie *A. haemolyticus*[34,35]. Esta carbapenemase está associada a um clone multirresistente de *A. baumannii* endémico em vários hospitais portugueses há já vários anos, e também em Espanha, pelo que foi designado de clone Ibérico[35,36]. Este clone é um sub-linhagem do clone Europeu II[36], que apresenta o grupo clonal ST98[37] (ST, *sequence typing*) e está disseminado no mundo. A importância geográfica assume aqui alguma relevância, e mais uma vez a determinação do grupo clonal ST permite acompanhar temporal e localmente a disseminação

TABELA 4 – EPIDEMIOLOGIA DE CARBAPENEMASES EM PORTUGAL

Classe B MBLs	Microrganismo	Local e data	Referência
IMP-5	*Acinetobacter baumannii*	Hospitais da Universidade de Coimbra, 1998	21
	Pseudomonas aeruginosa	Hospitais: Setúbal, Lisboa (Santa Maria, D.ª Estefânia); 2001, 2002, 2003	23,24
IMP-8	*Pseudomonas mendocina*	Hospital Infante D. Pedro, Aveiro; 2005	25
VIM-2	*Pseudomonas aeruginosa*	Hospital, 1995; 2005; 2006 Ambulatório 1998	26,27,28,29
	Klebsiella oxytoca	Hospital D.ª Estefânia, Lisboa; 2004	32
	Morganella morgannii	Hospitais da Universidade de Coimbra, 2004	33
Classe D	**Microrganismo**	**Local e data**	**Referência**
OXA-40	*Acinetobacter baumannii*	Diversos hospitais do Norte, Centro e região de Lisboa; desde 1999- Sub-grupo do Clone Europeu II, Clone Ibérico	34,35,36,37
	Acinetobacter haemolyticus	Hospital Geral de Sto António, Porto, 2002	34
OXA-58	*Acinetobacter baumannii*	Hospital Santo António dos Capuchos, Lisboa; 2005	39
OXA-23	*Acinetobacter baumannii*	Hospitais do Norte e Centro, 2006-2008 Hospital do Espírito Santo de Évora; 2008, Clone NI	38 NP
Classe A	**Microrganismo**	**Local e data**	**Referência**
KPC 3	*Klebsiella pneumoniae*	Centro Hospitalar Lisboa Norte, 2009	40

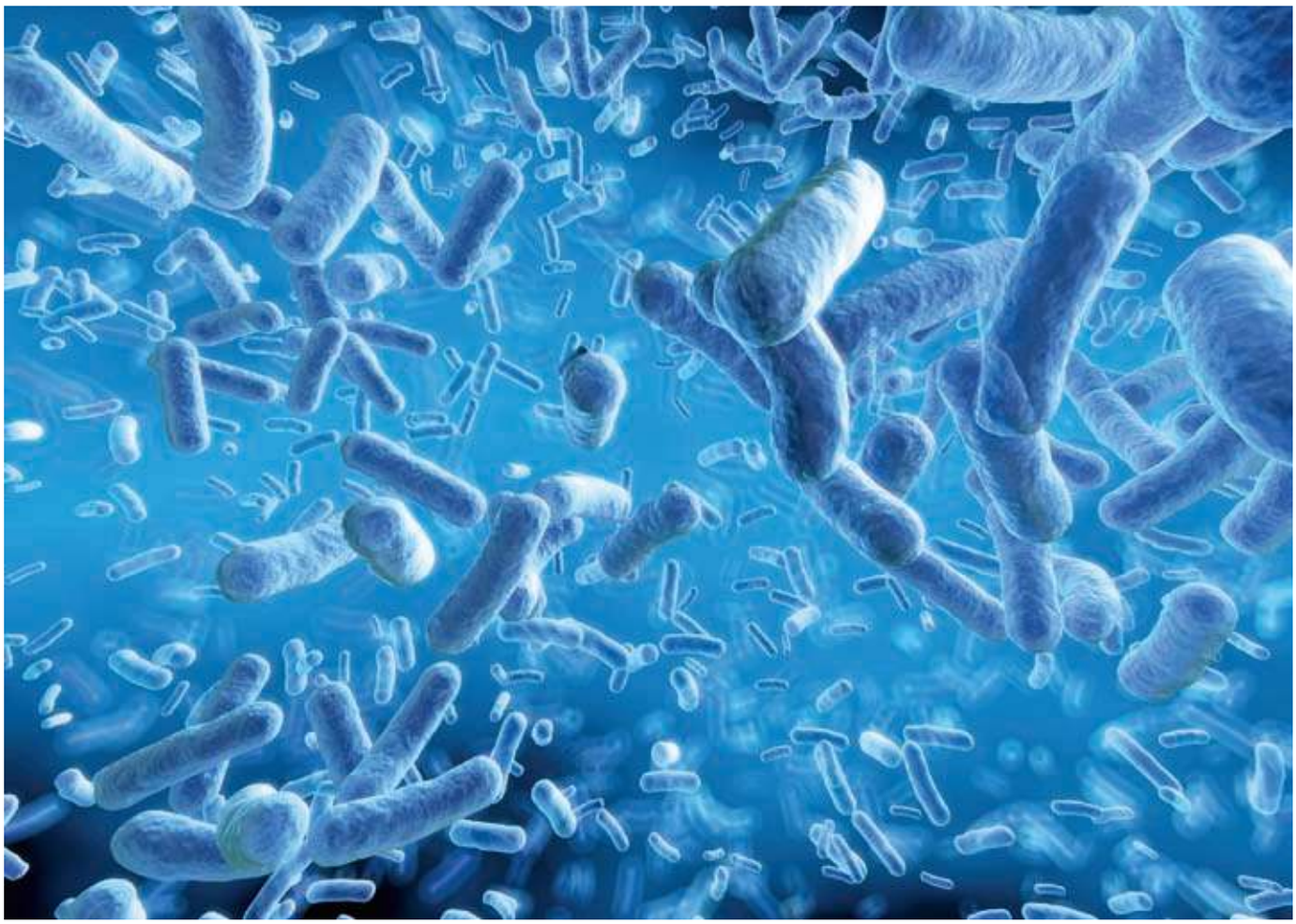
NI – não identificado; NP, não publicado

de bactérias multirresistentes. Tal como acontece mundialmente, também em Portugal têm sido descritas as outras variantes dos principais grupos destas carbapenemases, nomeadamente a OXA-23 associada ao clone ST103[38] no Norte e Centro, e em Évora no Hospital de Espírito Santo, entre 2008 e 2009 (não publicado), embora tenha sido identificado neste hospital maioritariamente o clone ST98 produtor de OXA-40, enquanto em Lisboa na mesma altura foi identificada a OXA-58, também num isolado hospitalar[39]. Nestes isolados a resistência aos carbapenemos está normalmente associada a diferentes mecanismos, em particular a co-existência de oxacilinases com expressão de bombas de efluxo e/ou com alteração de porinas da membrana externa é frequente[31].

Relativamente às carbapenemases de classe A, a KPC-3 foi a primeira enzima encontrada em Portugal, em 2009, num isolado de *K. pneumoniae* proveniente de um doente com leucemia internado no Centro Hospitalar Lisboa Norte. A estirpe apresentava resistência às principais classes de antibióticos disponíveis em clínica, e pertencia ao grupo clonal ST11[40]. O facto do gene bla_{KPC-3} estar num transposão, integrado num plasmídeo conjugativo, facilita a sua disseminação entre géneros diferentes como *E. coli*, *Enterobacter* spp. e, inclusivamente entre estirpes de *K. pneumoniae* de grupos clonais diferentes, o que permite a permanência destas bactérias multiresistentes nas unidades de cuidados de saúde.

/ Impacto clínico e económico

A infecção por uma bactéria produtora de carbapenemase é um verdadeiro desafio terapêutico para o clínico. As MBLs apresentam um espectro de hidrólise alargado a praticamente todos os antibióticos ß-lactâmicos. As carbapenemases dos grupos A e D, embora não sendo tão eficientes, aparecerem vulgarmente em bacilos Gram-negativo não fermentadores, geralmente resistentes a muitos outros grupos de antibióticos. O aparecimento recente de MBLs e KPC em enterobactérias e a sua rápida disseminação constitui um cenário preocupante. Vivemos uma época em que muitos microrganismos de origem clínica são multirresistentes, incluindo enterobactérias, diminuindo as opções terapêuticas drasticamente. A



resistência aos antibióticos prolonga o tempo de infecção, aumenta o sofrimento do doente, em muitos casos, acrescido com maior risco de mortalidade. Antibióticos como as polimixinas, que raramente eram usados devido à sua toxicidade, são um dos últimos recursos terapêuticos. O impacto económico da resistência bacteriana não é de descurar. Acresce o aumento do tempo de hospitalização, dos testes laboratoriais e o recurso a terapêuticas mais dispendiosas. Nos últimos anos têm surgido novos compostos para o tratamento de infecções por bactérias Gram-positivo, o que não acontece com as bactérias Gram-negativo, e infelizmente, os indicadores apontam para uma investigação mais vocacionada para as doenças crónicas e degenerativas, as quais são opções mais vantajosas para os laboratórios farmacêuticos. Portanto, a identificação de estirpes produtoras de carbapenemases e o controlo da sua disseminação é, assim, essencial para melhorar os cuidados de saúde, na medida que o conhecimento atempado de pacientes com infecções por bactérias multiressistentes é crucial e o laboratório de Microbiologia tem um papel essencial na detecção e identificação destas estirpes. Contudo, a identificação precisa da carbapenemase só pode ser feita por métodos moleculares, metodologia a que muitos laboratórios não têm acesso no nosso país. Os laboratórios hospitalares de Bacteriologia e os de Universidades e/ou de Centros de Investigação deveriam associar-se formalmente, sob coordenação das entidades oficiais, criando sinergias no sentido de melhorar a prevenção e o controlo de estirpes resistentes e na generalidade, melhorar a saúde pública em Portugal.

/ Conclusão

O aparecimento de carbapenemases, especialmente em Enterobactérias multirresistentes, expressando outras ß-lactamases e/ou com outros mecanismos de resistência, tem vindo a aumentar mundialmente a uma rapidez alarmante. A rapidez da disseminação tem estimulado a comunidade científica a compreender as bases genéticas para este acontecimento. Contudo, ainda não existe informação adequada para lidar com este problema a nível clínico, e encontrar alternativas terapêuticas. Daí que, um sinergismo entre o laboratório clínico microbiológico e estudos clínicos, em que se comparem sintomas clínicos, evolução da infecção, tipo de microrganismo e enzima envolvidos, seja frutuoso no sentido de se poder eventualmente estabelecer terapêuticas mais eficazes e, essencialmente, de se implementar medidas estritas do controlo de infecção sempre que se detectar carbapenemases.

/ Bibliografia

1. Yang Y, Wu P, Livermore DM. Biochemical characterization of a ß-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenemos from two *Serratia marcescens* isolates. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34: 755-758.

2. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. Int J Med Microbiol 2010; 300: 371-379.

3. Ambler RP. The structure of ß-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1980*;* 289*:* 321–331.

4. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. Int J Antimicrob Agents 2010; 36 Suppl 3: S8-14.

5. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo-ß-lactamases: a last frontier for ß-lactams? Lancet Infect Dis 2011; 11: 381-393.

6. Yong D, Toleman MA, Giske CG et al. Characterization of a new metallo-ß--lactamase gene, bla_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 5046–5054.

7. Struelens MJ, Monnet DL, Magiorakos AP, Santos O'Connor F, Giesecke J. New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae: emergence and response in Europe. Euro Surveill 2010;18;15(46). pii: 19716

8. Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, Gatermann SG, Bonnin RA, Poirel L. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. J Antimicrob Chemother. 2011; 66:1260-1262.

9. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? J Antimicrob Chemother 2011; 66: 689-692.

10. Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. J Antimicrob Chemother 2011; 66 :1255-1259.

11. Chan HL, Poon LM, Chan SG, Teo JW. The perils of medical tourism: NDM-1-positive *Escherichia coli* causing febrile neutropenia in a medical tourist. Singapore Med J. 2011; 52: 299-302.

12. Bogaerts P, Bouchahrouf W, de Castro RR, Deplano A, Berhin C, Piérard D, Denis O, Glupczynski Y. Emergence of NDM-1-Producing Enterobacteriaceae in Belgium. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55 :3036-3038.

13. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 826-836.

14. Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53: 5035-5038.

15. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the $bla_{OXA-51-like}$ carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol. 2006; 44: 2974-2976.

16. Levast M, Poirel L, Carrër A, Deiber M, Decroisette E, Mallaval FO, Lecomte C, Nordmann P. Transfer of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from Turkey to France. J Antimicrob Chemother. 2011; 66: 944-945.

17. Ktari S, Mnif B, Louati F, Rekik S, Mezghani S, Mahjoubi F, Hammami A. Spread of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 {beta}-lactamase in a Tunisian university hospital. J Antimicrob Chemother. 2011; 11. doi: 10.1093/jac/dkr181

18. Benouda A, Touzani O, Khairallah MT, Araj GF, Matar GM. First detection of oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* from Morocco. Ann Trop Med Parasitol. 2010; 104: 327-330.

19. Cuzon G, Naas T, Truong H, Villegas MV, Wisell KT, Carmeli Y, Gales AC, Venezia SN, Quinn JP, Nordmann P. Worldwide diversity of *Klebsiella pneumoniae* that produce beta-lactamase bla_{KPC-2} gene. Emerg Infect Dis. 2010;16: 1349-1356.

20. Andrade LN, Curiao T, Ferreira JC, Longo JM, et al. Dissemination of bla_{KPC-2} by the spread of CC258-*Klebsiella pneumoniae* clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among Enterobacteriaceae species in Brazil. Antimicrob Agents Chemother. 2011; doi:10.1128/AAC.01783-10

21. Da Silva GJ, Correia M, Vital C, Ribeiro G, Sousa JC, Leitão R, Peixe L, Duarte A. Molecular characterization of bla_{IMP-5}, a new integron-borne metallo-beta--lactamase gene from an *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolate in Portugal. FEMS Microbiol Lett. 2002; 215: 33-39.

22. Da Silva GJ, Correia M, Vital C, Ribeiro G, Peixe L, Duarte A. First appearance of a bla_{IMP} gene in an *Acinetobacter* genospecies 10 clinical strain associated with reduced susceptibility to imipenem. *In* Abstract book of 1st FEMS Congress of European Microbiologists, Ljubljana, Slovenia.

23. Brízio A, Grosso F, Conceição T, Da Silva G, Duarte A. IMP-5, metalo-ß-lactamase, em estirpes hospitalares de *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Port D Infecc 2006; 2: 20-30.

24. Brízio A, Conceição T, Pimentel M, Da Silva G, Duarte A. High-level expression of IMP-5 carbapenemase owing to point mutation in the -35 promoter region of class 1 integron among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Int J Antimicrob Agents. 2006; 27: 27-31.

25. Santos C, Caetano T, Ferreira S, Mendo S. First description of bla_{IMP-8} in a *Pseudomonas mendocina* isolated at the Hospital Infante D. Pedro, Aveiro, Portugal. Res Microbiol. 2010; 16: 305-307.

26. Cardoso O, Leitão R, Figueiredo A, Sousa JC, Duarte A, Peixe LV. Metallo-beta--lactamase VIM-2 in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Portugal. Microb Drug Resist. 2002; 8: 93-7.

27. Cardoso O, Alves AF, Leitão R. Metallo-beta-lactamase VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a cystic fibrosis patient. Int J Antimicrob Agents. 2008; 31: 375-379.

28. Carvalho MJ,. Saavedra MJ, Correia A, A.P. Castro, A. Duarte. Metallo-beta-lactamase in clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolate in a Portuguese hospital and identification of a new VIM-2 like enzyme. Clin Microbiol Infect. 2005; 11, Supl 2: 99.

29. Brizio A, Silva A, Canas E, Ferreira T, Lito LM, Melo-Cristino J, Salgado MJ, Duarte A. Spread of In58 containing bla_{VIM-2} among *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect. 2006; 12, 4: 931.

30. Grosso F, Duarte A. Emergência da Resistência aos Carbapenemos. Rev Port D Infecc, 2006; 2: 13-19.

31. Tomás M, Doumith M, Warner M, Turton JF, Beceiro A, Bou G, Livermore DM, Woodford N. Efflux pumps, OprD porin, AmpC beta-lactamase, and multiresistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 2219-2224.

32. Conceição T, Brízio A, Duarte A, Barros R. First isolation of bla_{VIM-2} in *Klebsiella oxytoca* clinical isolates from Portugal. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49: 476.

33. Da Silva GJ, Cardoso O, Domingues S, Bento G, Ribeiro G. First report of a *Morganella morganii* clinical isolate producing VIM-2 carbapenemase. Clin Microbiol Infect. 2008; 14: Supl. 7: S237-38

34. Quinteira S, Grosso F, Ramos H, Peixe L. Molecular epidemiology of imipenem--resistant *Acinetobacter haemolyticus* and *Acinetobacter baumannii* isolates carrying plasmid-mediated OXA-40 from a Portuguese hospital. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51: 3465-3466.

35. Da Silva GJ, Quinteira S, Bértolo E, Sousa JC, Gallego L, Duarte A, Peixe L; Portugese Resistance Study Group. Long-term dissemination of an OXA-40 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clone in the Iberian Peninsula. J Antimicrob Chemother. 2004; 54: 255-258.

36. Da Silva G, Dijkshoorn L, van der Reijden T, van Strijen B, Duarte A. Identification of widespread closely related *Acinetobacter baumannii* strains in Portugal as a subgroup of European clone II. Clin Microbiol Inf. 2007; 13: 190-195

37. Da Silva GJ., Mendonça N, Batista G, Duarte A. Sequence types of Portuguese carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected over 10 years. J Antimicrob Chemother. 2010; 65: 2254-2256.

38. Grosso F, Quinteira S, Peixe L. Understanding the dynamics of imipenem--resistant *Acinetobacter baumannii* lineages within Portugal. Clin Microbiol Infect. 2011; 17: 1275-1279.

39. Caneiras C, Ferreira T, Duarte A, Da Silva G. Identification of an OXA-58 carbapenemase in an unusual Portuguese *Acinetobacter baumannii* clinical isolate. Clin. Microbiol. Infect. 2008; 14, supl 7: S43.

40. Machado P, Silva A, Lito L, Melo-Cristino J, Duarte A. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* ST11-producing KPC-3 carbapenemase at a Lisbon hospital. Clin Microbiol Infec, 2010; 16, Supl 2: S28.

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

A subespeciação do *Echinococcus granulosus* em Portugal

The subspeciation of Echinococcus granulosus in Portugal

/ J. A. David de Morais

Doutoramento e agregação em Parasitologia
Consulta de Hidatidologia do Hospital do Espírito Santo de Évora

Correspondência:

J. A. David de Morais
Rua José Régio, 36
7005-537 Évora

Telefone: +351 266751848
e-mail: joao.morais.10@netvisao.pt

/ Resumo

Desde a criação, em 1786, por Batsch, da espécie *Hydatigena granulosa*, a problemática da especiação e subespeciação em Hidatidologia tem sido objecto de considerável controvérsia. Todavia, depois dos progressos taxonómicos conseguidos com as técnicas morfológicas (até há bem pouco tempo muito valorizadas), o recurso recente às potencialidades da Biologia Molecular veio permitir uma melhor compreensão da filogenia das estirpes do *Echinococcus granulosus*, com benefícios consideráveis no domínio clínico face ao reconhecimento da maior ou menor patogenicidade dos possíveis genótipos presentes em cada região.
Neste trabalho, o autor historia a evolução taxonómica do género *Echinococcus*, e descreve o "estado da arte" em Portugal sobre o conhecimento dos genótipos de *E. granulosus* presentes em território nacional.

Palavras-chave: hidatidose, especiação, subespeciação, Portugal.

/ Abstract

Since the establishment, in 1786, by Batsch, of the Hydatigena granulosa species, the problem of speciation and subspeciation in Hydatidology has been the subject of considerable controversy. However, after the progress achieved with the taxonomic morphological techniques (until quite recently highly valued), the recent appeal to the potential of Molecular Biology has enabled a better understanding of the phylogeny of the strains of Echinococcus granulosus, with considerable benefits in the clinical domain given the recognition of higher or lower pathogenicity of genotypes present in each region.
In this paper, the author describes the taxonomic history evolution of the genus Echinococcus and "the state of the art" in Portugal regarding the knowledge of the genotypes of E. granulosus

Key-words: *hydatid disease, speciation, subspeciation, Portugal.*

/ Introdução

O *Echinococcus granulosus*, única espécie do género *Echinococcus* presente em Portugal, tem como hospedeiros definitivos os canídeos e como hospedeiros intermediários vários herbívoros domésticos. No hospedeiro definitivo desenvolve-se a forma adulta do parasita, com a sua morfologia típica de um Taeniidae, e no hospedeiro intermediário desenvolve-se a forma larvar ou metacéstodo. Acidentalmente, quando o homem ingere ovos de *E. granulosus* poderá desenvolver a forma larvar ou quisto hidático.[1]

No nosso país, esta zoonose parasitária já se revestiu de grande acuidade epidemiológica e clínica, muito em especial na região do Alentejo.[2,3,4] Todavia, a parasitose tem vindo a decrescer, sobretudo face às mudanças socioeconómicas ocorridas no meio rural e à alteração das práticas de maneio de gados (redução drástica dos cães de pastoreio, recurso a parques de criação vedados a arame farpado, etc.).[5,6,7]

A nível mundial, diversos autores consideram que, em vários países, as diferentes espécies de *Echinococcus* conhecem um período de re-emergência.[8,9,10]

Face ao interesse crescente da "abordagem clínica integrada" ou "abordagem clínica holística", assente na tríade agente infeccioso/hospedeiro/terapêutica,[11,12,13] é manifesto que, no caso específico da Hidatidose, o estudo dos genótipos de *E. granulosus* presentes no país se reveste de particular interesse para uma prática racional da medicina hidatidológica, razão que determinou a elaboração deste trabalho.

/Especiação e subespeciação do género *Echinococcus*

Já Hipócrates (460-357 a.C.), na Grécia Antiga, se interrogava sobre a verdadeira natureza dos "tumores do fígado repletos de água" ("*jecur aquâ repletum*"): seriam de origem natural ou divina?[14] Hoje em dia, sabemos que tais "tumores brancos" correspondem a quistos hidáticos, contendo líquido hidático, isto é, à forma larvar do *Echinococcus*.

Obscura é a origem do género *Echinococcus*, mas, filogeneticamente, parece ter-se originado da "forma nórdica" (paleártica) que, a partir do ciclo silvático (lobo/cervídeos) evoluiu para um ciclo sinantrópico (cão/cervídeos), acabando, por fim, por determinar um ciclo doméstico (cão/herbívoros domésticos), que do meio rural extravasou mesmo para o meio urbano.[2,4]

Desde que, em 1786, Batsch propôs a criação da espécie *Hydatigena granulosa*, a problemática da especiação e subespeciação do género *Echinococcus* prestou-se a controvérsias, quer no que respeita à nomenclatura (*Polycephalus hominis* Zeder 1803, *Polycephalus echinococcus* Zeder 1803, *Taenia cateniformis* (*cucumerina* Bloch) Rudolphi 1810, *Echinococcus hominis* (Zeder 1800) Rudolphi 1810, etc., etc.),[2,4] quer no que respeita ao número de supostas espécies (só entre 1910 e 1927 foi proposta a criação de 14 espécies de *Echinococcus*). Assim, apesar de um vasto acervo de investigações sugerindo a criação e a anulação de um número considerável de espécies de *Echinococcus*, a WHO acabou por aceitar apenas a existência de quatro espécies:[15,16]

- *E. granulosus* (Batsch 1786): tem distribuição praticamente por todo o Planeta, sendo que a colonização portuguesa e espanhola contribuíram para a sua disseminação. Esta espécie teria chegado à Austrália a partir do contrabando de ovelhas merinas de Portugal para a Inglaterra, donde seguiram depois para o continente australiano (antes, tinham sido contrabandeadas de Espanha para Portugal).[3] Tem como ciclo principal canídeos/herbívoros.
- *E. multilocularis* (Leuckart 1863): presente na Europa do Centro e Leste, Ásia e América do Norte. O ciclo principal interessa raposas/muróides.
- *E. vogeli* (Rausch *et* Bernstein 1972): ocorre na América Central e América do Sul. O seu ciclo é predominantemente silvático (admite-se a ocorrência de um ciclo sinantrópico),



tendo como hospedeiro definitivo o *Icticyon venaticus* (e também o cão doméstico, mas com menor relevância) e como hospedeiro intermediário o *Cuniculus paca*. No homem, produz grandes disseminações hepáticas e peritoneais.[17,18]

- *E. oligarthrus* (Diesing 1863): distribui-se sensivelmente pelas mesmas áreas geográficas da espécie anterior. Só é conhecido o ciclo silvático, tendo como hospedeiros definitivos felídeos (*Felis concolor*, *F. onca*, etc.) e como hospedeiros intermediários alguns roedores selvagens (*Dasyprocta agouti* e *D. punctata*). Apresenta patogenicidade sobreponível à do *E. vogeli*.[17,18]

Recentemente, foi descrita uma nova espécie nos planaltos do Tibete, o *E. shiquicus*, mas desconhece-se a sua eventual implicação a nível humano.[19]

A proliferação de espécies de *Echinococcus* outrora propostas resultou do facto de então se usarem nos estudos taxonómicos fundamentalmente critérios apenas morfológicos de tipificação dos parasitas. Todavia, presentemente os estudos genéticos, por recurso a técnicas de Biologia Molecular, vieram permitir aclarar muitas dúvidas, quer no campo da especiação quer no da subespeciação.

No que respeita à Europa, é aqui reconhecida apenas a existência do *E. granulosus* e do *E. multilocularis*, este último em expansão na Europa Central, onde, devido à protecção dispensada às raposas, tem vindo a expandir-se, criando problemas mesmo a nível urbano.[20]

Quanto à Península Ibérica, ela tornou-se tradicionalmente uma região de grande endemicidade do *E. granulosus*, devido ao incremento da criação e transumância do carneiro merino.[3,21] Refira-se, todavia, que em Espanha foi assinalada a hipotética ocorrência de infecção humana por *E. multilocularis*,[22] mas essa questão tem suscitado dúvidas, carecendo ainda de um cabal esclarecimento. No que respeita ao nosso país, existe aqui tão-só a espécie *E. granulosus*, e o único caso humano referido de infecção pelo *E. multilocularis* era reconhecidamente de importação: tratava-se de um paciente que residira em França e na Suíça.[23]

A problemática da subespeciação suscitou – e suscita ainda – questões pertinentes, não completamente dilucidadas, tanto mais que a metodologia taxonómica utilizada foi sofrendo valorizações e desvalorizações sucessivas. Outrora, consideravam-se, em especial:

- **Morfologia**: tem sido criticada pelo facto de poder reflectir apenas adaptações fenotípicas a diferentes ecossistemas, e não verdadeiras variações genotípicas. Todavia, baseando-se em características

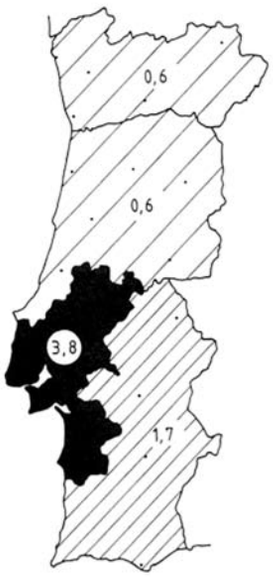


Figura 1 – Índices de rejeições de vísceras de ovinos com quistos hidáticos, por regiões, no quarto de século 1944-1968 (reproduzido de David de Morais, 1998).[4]

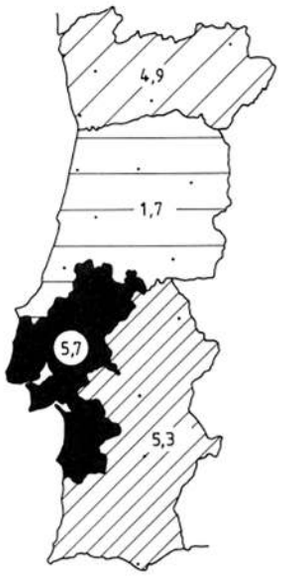


Figura 2 – Índices de rejeições de vísceras de bovinos adultos com quistos hidáticos, por regiões, no quarto de século 1944-1968 (reproduzido de David de Morais, 1998).[4]

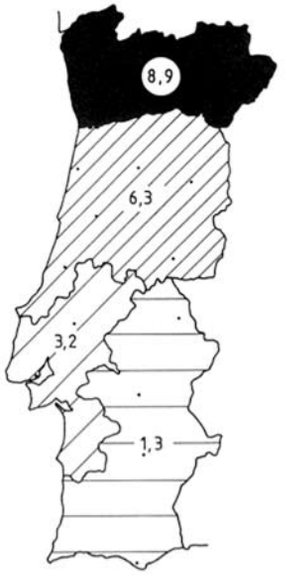


Figura 3 – Índices de rejeições de vísceras de suínos com quistos hidáticos, por regiões, no quarto de século 1944-1968 (reproduzido de David de Morais, 1998).[4]

morfológicas de vermes adultos, Thompson e colab. (1984) individualizaram a estirpe bovina na Suíça.[24]

- **Epidemiologia**: revelou-se importante no discernimento dos hospedeiros definitivos e intermediários implicados na transmissão de estirpes distintas, como ocorreu, por exemplo, na Austrália com os ciclos cão/ovelha e dingo/marsupiais, onde "(...) *the two cycles have the potencial to interact.* (...)"[25]
- **Fertilidade dos metacéstodos**: a ocorrência, em hospedeiros intermediários distintos, de índices de fertilidade baixos ou altos nos quistos hidáticos pode indicar a existência de estirpes diferentes de *E. granulosus*. Com efeito, a estirpe ovina produz, em geral, hidátides estéreis ou degeneradas nos bovinos, sendo que a estirpe bovina produz nesta espécie quistos férteis.
- **Bioquímica**: por exemplo, os lípidos e polissacáridos são mais abundantes na estirpe equina do que na ovina.[26]
- **Experimentação *in vivo***: a título exemplificativo, diremos que a infecção experimental de cães permitiu determinar a existência de uma estirpe suína na Polónia, Bielorrússia e Bulgária.[27]
- **Cultura de protoescólices *in vitro***: a cultura de protoescólices *in vitro*, em meio difásico, permite a evolução do parasita para verme adulto (em meio monofásico conduz antes à vesiculação), mas nas estirpes equina e bovina não ocorre estrobilização; na estirpe caprina, verifica-se estrobilização, mas não diferenciação sexual; todavia, na estirpe ovina, além da estrobilização ocorre também maturação sexual do parasita.[2,4]
- **Patogenicidade para o homem**: entre outros aspectos, ocorre-nos referir que, a meio do século passado, a prevalência da hidatidose em cavalos na Inglaterra aumentou de 35 para 60%,[28] com o correlativo aumento também da equinococose canina, e, todavia, não se verificou nenhum acréscimo de casos humanos; na Polónia, onde domina a estirpe suína, a hidatidose humana é uma raridade: "(...) *In the Poznan area, 31% of pigs and 11% of dogs on private farms were found to be infected with* E. granulosus *but only one case of human echinococcosis was diagnosed at the local hospital during 20 years.* (...)",[29] etc.
- **Genética**: a genética é actualmente a grande 'ferramenta' de estudo da especiação e da subespeciação: "(...) *To avoid arbitrary and misleading designation of strains, the differences (...) should have a genetic basis (...). The discriminatory power of biochemical and molecular techniques, and their growing acceptance in taxonomic determination, have provide the tools necessary for recognition and characterization of variants within the recognized species of* Echinococcus (...)."[30]

Em Biologia Molecular, no que respeita aos marcadores genéticos, existem dois grandes domínios: a análise isoenzimática dos *loci* e a análise do DNA, após amplificação.

Dado que o estudo isoenzimático permite o recurso a um grande número de enzimas – por exemplo, Le Riche *et* Sewell (1978) utilizaram apenas uma enzima,[31] enquanto Lymbery *et* Thompson (1988) utilizaram 30 enzimas diferentes.[32] – técnica isoenzimática permitiu obter resultados muito assinaláveis no estudo da subespeciação do *E. granulosus*.

Modernamente, contudo, a análise genómica das espécies assenta principalmente no estudo do DNA, por recurso à técnica do PCR (*polymerase chain reaction*).

Todavia, alguma polémica surgiu, tendo por base o argumento da exiguidade do segmento de DNA analisado com as sondas correntemente empregues. Lymbery *et* Thompson (1991), por exemplo, lembram que, por exemplo, por recurso a 20 enzimas é possível abranger cerca de 2000 nucleótidos do material parasitário analisado, enquanto com as sondas empregues actualmente na análise genómica só são passíveis de estudo 288 nucleótidos, se bem que o seu número possa vir a ser aumentado no futuro.[33] E para Eckert (1991), "(...) *the DNA restriction fragment-length analysis is not (or not yet) applicable as a single and relatively simple diagnostic tool for the diagnosis of strain differences* (...)."[34]

Em relação aos parâmetros de diferenciação intra-específica, utilizámos neste trabalho, sinonimicamente, os vocábulos subespécie e estirpe (*strain*, em inglês; *souche*, em francês; *ceppo*, em italiano; *cepa*, em castelhano). Todavia, quando essa diferenciação decorre apenas da utilização de métodos de Biologia Molecular, passou a utilizar-se antes a designação genótipo. Assim, com base em múltiplos estudos realizados, admite-se, hoje em dia, a existência dos seguintes 10 genótipos no complexo *E. granulosus*:[35,36,37]

- **Genótipo 1 (G1): estirpe ovina comum**
- Genótipo 2 (G2): estirpe ovina da Tasmânia
- Genótipo 3 (G3): estirpe do búfalo
- Genótipo 4 (G4): estirpe do cavalo (*E. equinus*)
- **Genótipo 5 (G5): estirpe bovina (*E. ortleppi*)**
- Genótipo 6 (G6): estirpe do camelo
- Genótipo 7 (G7): estirpe suína
- **Genótipo 8 (G8): estirpe dos cervídeos**
- Genótipo 9 (G9): estirpe polaca porco/homem
- Genótipo 10 (G10): estirpe cervídea Fennoscandinava

Ora, a determinação, em cada país e região endémica de equinococose-hidatidose dos genótipos aí existentes, reveste-se de grande importância epidemiológica, profilática e clínica, dado que se aceita que existem estirpes que são patogénicas para o homem, enquanto outras não o são ou apenas se revestem de patogenicidade negligenciável. À luz dos conhecimentos actuais, são considerados patogénicos para o homem tão-só os genótipos ovino (G1), bovino (G5) e cervídeo (G8): "(...) *The so-called sheep, cattle and cervid strains of* E. granulosus *are infective to humans, while the horse, camel and pig strains may be less or not infective* (...)".[38] Destes três genótipos, o ovino (G1) é tido como o mais patogénico para o homem, sendo que, infelizmente, é também o que possui a mais ampla difusão mundial.[2]

/ Escorço sobre o conhecimento actual da subespeciação do *E. granulosus* em Portugal

Comecemos por referir que os estudos epidemiológicos nos permitiram, de certo modo, antecipar qual a situação do nosso país no que respeita aos genótipos de *E. granulosus* aqui presentes. Analisando, nas estatísticas oficiais dadas à estampa, as rejeições em matadouros das vísceras contaminadas por quistos hidáticos durante um quarto de século (1944-1968), apurámos os índices de contaminação, expressos nas Figs 1, 2 e 3. Os índices de

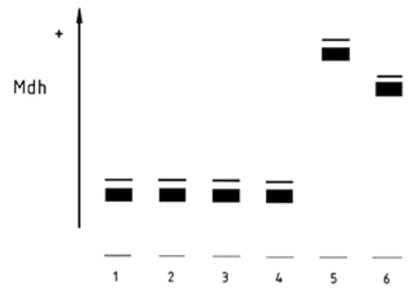


Figura 4 – Zimograma do *locus* MDH. Amostras de quistos hidáticos de: 1: ovelha, Portugal; 2: boi, Portugal; 3: ovelha, Itália; 4: boi, Itália; 5 e 6: tecidos de órgãos de ovelha e boi (controlo) – reproduzido de David de Morais, 1998.[4]

rejeição que calculámos basearam-se nas inspecções sanitárias feitas, em todo o País, em 36 050 851 animais: 16 497 143 ovinos, 5 340 582 caprinos, 2 725 531 bovinos e 11 487 595 suínos (por economia de espaço, não reproduzimos aqui a Fig. respeitante aos caprinos, mas ela não difere, no essencial, da dos ovinos).[2,4] Na análise interpretativa das Figs 1, 2 e 3 deveremos, todavia, abster-nos de considerar os índices de rejeições da Região de Lisboa: é que os animais ali abatidos não são criados nessa Região, mas provêm, sim, dos circuitos de comercialização que para ali canalizam gados para consumo citadino.[2,3,4]

Assim, a análise da Fig. 1 permite a conclusão óbvia de que nos ovinos (o mesmo se passa com os caprinos) a hidatidose cresce, notoriamente, de norte para sul. Quanto aos bovinos (Fig. 2), embora os maiores índices de rejeição tivessem sido registados na Região Sul, eles já apresentam, todavia, valores expressivos na Região Norte. Por fim, no que respeita aos suínos (Fig. 3), a Região Norte supera, significativamente (sete vezes mais), a Região Sul, mas esta espécie acusa também valores muito importantes na Região Centro.

Do exposto resulta bem evidente que a maior biomassa parasitária de *E. granulosus* circula na Região Norte – que é, comparativamente, a de mais exíguo território e de grande densidade populacional, factos relevantes – pelo que seria de esperar que na zona

setentrional do País se registasse a maior incidência de hidatidose humana, face à evidente conspurcação do meio por ovos de *Echinococcus*. Ora, sucede que a Região Norte é exactamente aquela que detém a menor incidência de hidatidose humana! [2,3,4,5,6,7,39,40]

Crescendo em Portugal a hidatidose humana de norte para sul (o Alentejo sempre foi a região de grande endemicidade hidática no País, sendo o distrito de Évora o único com incidência hiper-endémica),[4,5] e crescendo, inversamente, a hidatidose animal de sul para norte, pudemos, em bases epidemiológicas, deduzir que a sul deveria prevalecer uma estirpe de *E. granulosus* de grande patogenicidade, enquanto a norte, contrariamente, deveria prevalecer uma estirpe não patogénica ou de baixa patogenicidade. Ou, coerentemente: na Região Sul – a mais infectada por quistos hidáticos no homem – presumivelmente deveria prevalecer a estirpe ovina (G1), enquanto nas Regiões Centro e Norte – onde a prevalência da hidatidose humana é de diminuta importância – presumivelmente deveria prevalecer a estirpe suína (G7). Fazemos notar que grafámos "prevalecer", o que nos leva a pressupor a possível coexistência de estirpes diferentes num mesmo espaço territorial, mas com dominância de uma delas, reflectindo-se, pois, clinicamente, nos valores da incidência humana desta zoonose parasitária.

No sentido de testarmos a nossa hipótese epidemiológica, efectuámos em Roma, em colaboração com a Professora Lia Paggi, do *Istituto di Parassitologia* da Universidade "*La Sapienza*", estudos genéticos de quistos hidáticos de ovinos e bovinos (fígado e pulmão), que recolhemos nos matadouros de Beja e de Vila Franca de Xira (aqui, os quistos hidáticos eram de animais provenientes da zona de Santarém); para comparação, analisaram-se também quistos hidáticos da Itália Continental (Lazio) e da Sardenha. De acordo com o estado da arte de então (vide supra), recorremos à técnica da electroforese isoenzimática.[41] No estudo foram utilizadas as seguintes 11 enzimas:[2,4,42] malato--desidrogenase (MDH): número da *Enzyme Commission* (E.C.) 1.1.1.37; málico-enzima (ME): E.C. 1.1.1.40; isocitrato-desidrogenase (IDH): E.C. 1.1.1.42; 6-fosfogluconato-desidrogenase (6PGD): E.C. 1.1.1.43; NADH-desidrogenase (NADH-DH): E.C. 1.6.99.3; superoxidase-dismutase (SOD): E.C. 1.51.1.1; glutamato-oxaloacetato-transaminase (GOT): E.C. 2.6.1.1; creatino-kinase (CK): E.C. 2.7.3.2; adenilato-kinase (AK): E.C. 2.7.4.3; manose-fosfato-isomerase (MPI): E.C. 5.3.1.8; e glucose-fosfato-isomerase (GPI): E.C. 5.3.1.9. Os pormenores técnicos e os resultados respeitantes aos *loci* analisados poderão ser compulsados em Mattiucci S, David de Morais JA e colab. (1991), e em David de Morais (1993; 1998).[2,4,42]

Dez enzimas revelaram zimogramas interpretáveis e reprodutíveis (tão-só a SOD não mostrou actividade valorizável). A mero título de exemplo, dentre as várias dezenas de zimogramas executados, reproduzimos na Fig. 4 o zimograma do *locus* enzimático MDH. Como conclusão final, salientamos a total homogeneidade de todo o material analisado: as bandas encontradas nas amostras quísticas de origem ovina eram sobreponíveis às bandas do material de origem bovina, sendo o cotejo entre as duas regiões abrangidas, Portugal e Itália, também perfeitamente coincidente, concluindo-se pela existência de uma única estirpe de *E. granulosus* interessando ambos os países, qual seja a estirpe cão/ovelha. Notaremos ainda que a identidade genética entre o material do Centro e Sul de Portugal e o da Itália confere bastante plausibilidade à hipótese que vimos defendendo: a romanização do País, face à importação coeva de animais para as *villae* romanas, poderá ter estado na origem de uma das vias de introdução da Hidatidose em Portugal (a outra via poderá ter sido a transumância de gados de Espanha para Portugal).[21,43,44]

Posteriormente, surgiram algumas investigações baseadas no isolamento de DNA de metacéstodos (relativamente aos trabalhos que a seguir indicamos, cumpre esclarecer que se sabe que alguns estudos têm sido apresentados em congressos, mas o facto é que não os encontrámos disponíveis, nem em publicações, nem na internet). D. Cartucho e colab. (2000), em colaboração com o Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Madrid, numa comunicação a um congresso de Hidatidologia, referiram a identificação da "estirpe cão/ovelha", num caso humano de Castelo Branco.[45] L. Justo e colab. (2005), num quisto hidático de um ovino da zona do Algarve, identificaram a presença do genótipo G1.[46] A. Castro e colab. (2005) referiram ter efectuado "(...) *um estudo epidemiológico, em diferentes regiões do país* (...)", e que "(...) *os resultados obtidos até ao momento, demonstram a presença do genótipo G1 (em pequenos ruminantes) e G7 (em suínos)* (...)"; dado que o estudo incluiu colaboradores do "Matadouro Carnes de Vinhais" e "Matadouro Regional do Zêzere", presume--se que os suínos possam ter sido da Região Norte e Centro e os "pequenos ruminantes" talvez da Região Centro (Zêzere)[47] – os estudos do Centro de Imunologia e Biologia Parasitária, do Instituto Ricardo Jorge do Porto, assinalando nos concelhos de Vinhais (distrito de Bragança) e de Cantanhede (distrito de Coimbra) a presença em suínos da estirpe G7 foram objecto de um relatório interno.[48] Sílvia Beato (2008), numa dissertação de mestrado, estudou fígados e pulmões de ovinos e de bovinos, "na região centro de Portugal", e do estudo do seu DNA concluiu tratar-se, em ambas espécies, do genótipo G1.[49] Um estudo recente, de S. Beato e colab. (2010), respeitante a quistos hidáticos de ovinos e de bovinos da zona do Interior-Centro, revelou a ocorrência dos genótipos G1 e G3 ("estirpe do búfalo"); todavia, deverá evitar-se extrair daí ilações epidemiológicas e clínicas precipitadas, dado que a análise filogenética mostrou a possível existência de um *cluster* G1-G3.[50] Assim, é provável que a diferenciação genotípica das 10 estirpes do *E. granulosus*, actualmente reconhecidas, venha a ser revista no futuro, talvez com a criação de uma estirpe de *E. granulosus sensu stricto* (*cluster* G1,G2,G3), como aliás já foi sugerido, ou da estirpe *E. granulosus granulosus*.

/ Conclusões

Em concordância com estudos epidemiológicos e clínicos antes publicados,[2,3,4] que sugeriam a existência de uma estirpe de *E. granulosus* mais patogénica no sul do País (na verdade, na nossa Consulta de Hidatidologia do Hospital do Espírito Santo de Évora possuímos muitos casos de hidatidose de assinalável gravidade e tamanho)[5,11,51,52,53] e a predominância de uma estirpe menos patogénica no norte do território nacional (possuímos, na nossa Consulta, alguns doentes de Trás-os-Montes, com quistos hidáticos que há muitos anos se mantém quiescentes ou que responderam muito bem à terapêutica benzimidazólica)[5,6,7] – em concordância com esses estudos epidemiológicos e clínicos, dizíamos nós, diversas investigações confirmaram a ocorrência em Portugal dos genótipos G1 (estirpe ovina) e G7 (estirpe suína).

Todavia, como é óbvio, importará aprofundar a problemática da subespeciação do *E. granulosus* em Portugal, e, face à transumância e ao contrabando de gados que, outrora, ocorria entre os dois países ibéricos,[21,43,44] interessará cotejar os resultados portugueses com os de Espanha – no país vizinho, é reconhecida a existência das estirpes G1 (estirpe ovina), G4 (estirpe equina) e G7 (estirpe suína).[54]

No mapeamento ou zonagem das espécies e estirpes de agentes patogénicos existentes numa dada região ou país, importa:

- evitar abordagens reducionista, optando-se antes por investigações integradas, concatenando elementos epidemiométricos, clínicos, genéticos, ambientais, etc.
- relativamente aos quistos hidáticos que produzem resultados interpretáveis e reprodutíveis, mais do que o *local de abate* dos animais interessa conhecer o *local de criação* dos mesmos. Por exemplo, os quistos hidáticos que recolhemos no antigo matadouro de Vila Franca de Xira respeitavam a ovinos e bovinos criados em propriedades de Santarém. Demais, se já outrora a transumância representou um meio importante de difusão de agentes patogénicos e vectores (ixodídeos, arbovírus, echinococcus, fascíolas, brucelas, babésias, borrélias, leishmânias, rickettsias, ehrlichias, anaplasmas, coxiellas, etc.),[12,21,43,44] o facto é que os modernos circuitos de comercialização e globalização promovem uma ainda maior movimentação de animais para os "quatro quadrantes" do País (basta circular nas estradas portuguesas para verificarmos isso); aliás, historicamente, tal movimentação de gados já acontecia, desde há muito, até mesmo com países estrangeiros: por exemplo, o grande investigador desta problemática, Albert Silbert, registou, desde há séculos, a compra, legalmente organizada, de bovinos à "Barbárie" (Marrocos): "(...) *un détail intéressante [1794]. Il [le* corregedor*] parle des* nombreux troupeaux *que la compagnie (...) 'fait venir de Barbérie', ce qui prouve que le Maroc ne fournissait pas que du blé au Portugal* (...)."[55]

/ Bibliografia

1. Faust EC, Beaver PC, Jung RC. Agentes e Vectores Animais de Doenças Humanas. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987.

2. David de Morais JA. A Hidatidologia em Portugal: Contribuição para o seu Estudo Integrado. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, 1993 (tese de doutoramento).

3. David de Morais JA. The Issue Concerning Diffusion of Echinococcosis/Hydatidosis in Portugal: The Role of Transhumance. Archivos Internacionales de la Hidatidosis 1997; 32: 9-21.

4. David de Morais JA. A Hidatidologia em Portugal (série "Manuais Universitários"). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1998.

5. David de Morais JA. Hidatidose humana. Estudo clínico-epidemiológico no distrito de Évora durante um quarto de século. Acta Med Portuguesa 2007; 20: 1-10. Disponível on-line: www.actamedicaportuguesa.com/arquivo2007.htm

6. David de Morais JA. Ascensão e declínio da hidatidose humana em Portugal. Acta Parasitológica Portuguesa 2009; 16 (1/2): 144-5.

7. David de Morais JA. Progressão e declínio da hidatidose humana em Portugal: análise histórico-epidemiológica. Medicina Interna 2010; 17 (4): 274-85. Errata: Medicina Interna 2011; 18 (1): 58. Disponível on-line: http://www.spmi.pt/revista/vol17/vol17_2010_n4_274_285.pdf

8. Deutz A, Fuchs K, Auer H, Nowotny N. Echinococcosis. An emerging disease in farmers. N Eng J Med 2000; 343 (10): 738-9.

9. Craig P, Pawlowski Z, edit. Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis: an Emergent and Global Problem. Amsterdam: IOS Press (vol. 341 NATO Science Series), 2002.

10. Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. Emerging Infectious Diseases 2006; 12 (2): 296-303.

11. David de Morais JA. Abordagem clínica integrada. Considerações a propósito de um caso de hidatidose múltipla grave. Medicina Interna 2006; 13 (4): 278-88. Disponível em: http://www.spmi.pt/revista/vol13/vol13_n4_2006_278_288.pdf

12. David de Morais JA. Zoonoses emergentes em Portugal: epidemiologia e clínica. Rev Portuguesa Doenç Infec 2009; 5 (3): 95-114.

13. David de Morais. Terapêutica actual da Hidatidose. Rev Portuguesa Doenç Infec 2011; 7 (1): 5-12.

14. Dedola G, Raso AM. Epidemiologia e Profilassi dell'Idatidosi nella Provincia di Nuoro. Nuoro (Sardegna): Edizioni Minerva Medica, 1973.

15. WHO. Guidelines for Surveillance, Prevention and Control of Echinococcosis/Hydatidosis (VPH/81.28). Geneva: World Health Organization, 1981.

16. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. Lancet 2003; 362: 1295-304.

17. D'Alessandro A. Polycystic echinococcosis in tropical America: Echinococcus vogeli and E. oligarthrus. Acta Tropica 1997; 67: 43-65.

18. Tappe D, Stich A, Frosch M. Emergence of polycystic neotropical echinococcosis. Emerging Infectious Diseases 2008; 14 (2): 292-7.

19. Xiao N, Qiu J, Nakao M et al. Echinococcus shiquicus n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. Int J Parasitol 2005; 35 (6): 693-701.

20. Hegglin D, Ward PI, Deplazes P. Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with Echinococcus multilocularis. Emerging Infectious Diseases 2003: 9 (10): 1266-72.

21. David de Morais JA. A Transumância de Gados Serranos e o Alentejo. Évora: Câmara Municipal de Évora, 1998.

22. Alonso CN, Ferreira JG, Fernández AR et al. Hidatidosis alveolar hepática. Rev Esp Enf Digest 1993; 84 (2): 127-9.

23. Sanai T, Romero L, Aníbal J et al. Hidatidose alveolar hepática. Rev Soc Portuguesa Hidatidologia 2003; 1: 37-40.

24. Thompson RCA, Kumaratilake LM, Eckert J. Observations on Echinococcus granulosus of cattle origin in Switzerland. Intern J Parasitol 1984; 14: 283-91.

25. Thompson RCA, Lymbery AJ. The epidemiological significance of biological variation in Echinococcus. Archivos de la Hidatidosis (XV Extraordinary Congress for Celebration of the 50 Years of A.I.H, Rome) 1991; 30: 195-200.

26. McManus DP, Smyth JD. Differences in the chemical composition and carbohydrate metabolism of Echinococcus granulosus (horse and sheep strains) and E. multilocularis. Parasitology 1978; 77: 103-9.

27. Slepnev NK. Host specificity of Echinococcus granulosus from swine in Belorussia. Trudy (Nauchnye Trudy) Nauchno-Issledovatel'skego Veterinarnogo Instituta Belorusskoi 1975; 13: 113-6.

28. Thompson RCA, Smyth JD. Equine hydatidosis: a review of the current status in Great Britain and the results of an epidemiological survey. Veter Parasitol 1975; 1: 107-27.

29. Pawlowski ZS. Epidemiological basis for chemotherapy of human echinococcosis. Int J Clin Pharmacol Res 1985; 5 (2): 75-8.

30. Thompson RCA, Lymbery AJ. The nature, extent and significance of variation within the genus Echinococcus. Advances Parasitol 1988; 27: 209-59.

31. Le Riche PD, Sewell MMH. Identification of Echinococcus granulosus strains by enzyme electrophoresis. Research Veter Scien 1978; 25: 247-8.

32. Lymbery AJ, Thompson RCA. Electrophoretic analysis of genetic variation in Echinococcus granulosus from domestic hosts in Australia. Intern J Parasitol 1988; 18: 803-11.

33. Lymbery AJ, Thompson RCA. Points in question. Genetic diversity in Echinococcus granulosus – a reply to McManus. Intern J Parasitol 1991; 21: 153-4.

34. Eckert J. Experimental research on echinococcosis: update. Archivos de la Hidatidosis (XV Extraordinary Congress for Celebration of the 50 Years of A.I.H, Rome) 1991; 30: 311-20.

35. Obwaller A, Schneider R, Walochnik J et al. Echinococcus granulosus strain differentiation based on sequence heterogeneity in mitochondrial genes of cytochrome c oxidase-1 and NADH dehydrogenase-1. Parasitology 2004; 128: 569-75.

36. Scott JC, Stefaniak J, Pawlowski KS, McManus DP. Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of Echinococcus granulosus. Parasitology 1997; 114: 37-43.

37. Lavikainen A, Lehtinen MJ, Laaksonen S et al. Molecular characterization of Echinococcus isolates of cervid origin from Finland and Sweden. Parasitology 2006; 133: 565-70.

38. Eckert J, Thompson RC. Intraspecific variation of Echinococcus granulosus and related species with emphasis on their infectivity to humans. Acta Tropica 1997; 64 (1-2): 19-34.

39. David de Morais JA. Estudo epidemiológico da Equinococose-Hidatidose no distrito de Évora: problemática metodológica. Rev Portuguesa Doenç Infec 1997; 20 (3): 137-45.

40. David de Morais JA. Nosografia do distrito de Évora: estudos prospectivos de campo. Rev Portuguesa Doenç Infec 1997; 20 (1): 5-14.

41. Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F et al. Technique de Génétique par Électrophorèse des Protéines. Paris: Technique et Documentation (Lavoisier), 1987.

42. Mattiucci S, David de Morais JA, Arru E, D'Amelio S, Orecchia P, Paggi L. Genetic homogeneity within Echinococcus granulosus from sheep and cattle of Portuguese and Italian origin. Archivos de la Hidatidosis (Roma) 1991; 30: 875-8.

43. David de Morais JA. A transumância dos gados serranos em Portugal: escorço histórico e epidemiológico. Medicina na Beira Interior da Pré-História ao Século XXI, Cadernos de Cultura (Castelo Branco) 2005; 19: 125-36.

44. David de Morais JA. A Transumância de gados serranos para o Alentejo: abordagem histórica e antropo-ecológica. In: Cultura Pastoril. Livro de Actas do Seminário. Rosmaninhal, Idanha-a-Nova: Centro Cultural Raiano, Câmara Municipal de Idanha-a-Nova, 26 e 27 de Maio de 2007, pp. 11-30: http://www.cm-idanhanova.pt/pdf/publicacoes_online/Actas_seminario_p.pdf [consultado em Janeiro de 2010].

45. Cartucho D, Daniel K, Marrão G et al. Estirpes de Equinococcus granulosus em Portugal: o que sabemos. Beja: I Congresso Ibérico de Hidatidologia e VII Congresso Nacional de Hidatidologia, 9 a 11 de Novembro de 2000 (comunicação).

46. Justo L, Vilares A, Cuesta-Bandera C, Ângelo H. Estudo das estirpes de Echinococcus granulosus no centro e sul de Portugal. Resultados preliminares. Elvas: III Congresso Ibérico de Hidatidologia, Setembro de 2005 (poster).

47. Castro A, Silva A, Veloso G et al. Genotipagem de Echinococcus granulosus por análise das sequências NADH-dehidrogenase 1 e cytocromo C oxidase 1. Acta Parasitológica Portuguesa 2005; 12 (1-2): 395-6.

48. Castro A, Silva E, Freire L, Conceição A, Correia da Costa JM. Equinococose/Hidatidose. Porto: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de Imunologia e Biologia Parasitária, 2007 (relatório policopiado).

49. Beato SFA. Contributo para a caracterização molecular de Echinococcus granulosus em Portugal. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, 2008 (dissertação de mestrado).

50. Beato S, Parreira R, Calado M, Grácio MA. Apparent dominance of the G1-G3 genetic cluster of Echinococcus granulosus strains in the central inland region of Portugal. Parasitology International 2010; 59 (4): 638-42.

51. David de Morais JA. Chemotherapy of Hydatid disease with Albendazole. First clinical trial carried out in Portugal. Rev Portuguesa Doenç Infec 1992; 15 (2): 95-8.

52. David de Morais JA. Hidatidose esplénica: 20 anos de experiência epidémico-clínica. Rev Portuguesa Doenç Infec 2000; 23: 167-74.

53. David de Morais. Hidatidose abdominal secundária a acidentes traumáticos: a nossa experiência de 20 anos em área endémica. Rev Portuguesa Doenç Infec 2002; 1 (1): 6-15.

54. Mwambete D, Ponce-Gordo F, Cuesta-Bandera C. Genetic identification and host range of the Spanish strains of Echinococcus granulosus. Acta Trop 2004; 91: 87-93.

55. Silbert, Albert. Le Portugal Méditerranéen à la fin de l'Ancien Régime, vols I-III. Lisboa: Instituto de Investigação Científica, 1978: 631.

EVENTOS NACIONAIS DA ESPECIALIDADE >>

/ 8as Jornadas de Actualização em Doenças Infecciosas do Hospital de Curry Cabral
26 e 27 de Janeiro de 2012
Local: Lisboa, Auditório da Caixa Geral de Depósitos (Culturgest)
Secretariado: Merck Sharp & Dohme
Contacto – Eurocongressos
Av. Elias Garcia 147, 5º Esq, 1050-099 Lisboa
E-mail: meet@eurocongressos.pt
www.8jornadascurrycabral.com

/ 17º Infection and Sepsis Symposium
29th February to 2nd March, 2012
Porto Palácio Hotel, Porto
www.acropole-servicos.pt

EVENTOS INTERNACIONAIS DA ESPECIALIDADE >>

/ CROI 2012
March 5-8, 2012 at the Washington State Convention Center
Seattle, USA
http://retroconference.org/

/ The International Conference on Emerging Infectious Diseases 2012
March 11-14, 2012
Hotel Hyatt Regency Atlanta, in Atlanta, Georgia, USA
http://www.iceid.org/

/ 10th European Meeting on HIV & Hepatitis- -Treatment Strategies & Antiviral Drug Resistance
Date: 28-30 March 2012
Location: Fira Palace Hotel,
Barcelona, Spain
http://www.virology-education.com

/ 22st Annual Meeting of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
Date: March 31- April 3, 2012
City: London, United Kingdom
Contact: 22nd ECCMID 2012
Phone: 41 61 686 77 11
Fax: 41 61 686 77 88
E-Mail: basel@congrex.com

/ 15th International Congress on Infectious Diseases
Date: June 13-16, 2012
City: Bangkok, Thailand
Contact: International Society for Infectious Diseases
Phone: (617) 277-0551
Fax: (617) 278-9113
E-Mail: info@isid.org
Web Site: www.isid.org

/ XIX International AIDS Conference
Date: July 22-27, 2012
City: Washington DC, USA
Phone: +41 22-710-0800
E-Mail: info@aids2012.org
Web Site: http://www.aids2012.org

/ 52nd ICAAC
September 9-12, 2012
San Francisco, California

/ 11th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection
11-15 November 2012 Glasgow, UK
http://www.hiv11.com/

/ XVI Congreso Panamericano de Infectología
Date : Abril de 2013
City: Santiago do Chile
Web Site: www.apinfectologia.org

/ 13th Conference of the International Society of Travel Medicine
19-23 May, 2013
Maastrich, The Netherlands
www.istm.org

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://spdimc.org/.

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)



O 1º inibidor da integrase

ISENTRESS®
raltegravir, MSD

Nome do medicamento: ISENTRESS 400 mg. **Forma farmacêutica e composição:** Comprimido com 400 mg de raltegravir, um inibidor da transferência de cadeia da integrase, activo contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH-1). **Indicações terapêuticas:** ISENTRESS é indicado em associação com outros medicamentos anti-retrovíricos para o tratamento da infecção por vírus da imunodeficiência humana (VIH-1) em doentes adultos. **Posologia e modo de administração:** A posologia recomendada de ISENTRESS é de 400 mg administrados via oral, duas vezes por dia com ou sem alimentos. **Contra-indicações, Advertências e precauções especiais de utilização:** Hipersensibilidade à substância activa ou a qualquer um dos excipientes. ISENTRESS contém lactose. **Efeitos indesejáveis:** As reacções adversas frequentemente notificadas (≥ 1%) incluem cefaleia, náuseas, insónia, tonturas, cefaleias, vertigens, diarreia, abdominal dor abdominal, diarreia, flatulência, vómitos, erupção cutânea, astenia, fadiga, aumento da ALT e da AST. Ocasionalmente ocorrem reacções de hipersensibilidade. Foram notificados casos de rabdomiólise em doentes a tratamento prévio e em administração inicial com o início que iniciam a terapêutica com ISENTRESS em combinação com outros medicamentos anti-retrovíricos. Os tipos e taxas de reacções específicas foram pré-determinados numa população com elevada imunodeficiência. Foram observadas anomalias laboratoriais de Grau 2-4 no creatinoquinase em indivíduos tratados com ISENTRESS. Foram notificados hospital e substituídos; no entanto, não se conhece a relação de ISENTRESS com estes acontecimentos. Usar com precaução em doentes que tenham tido hospital ou rabdomiólise ou com risco aumentado para estes problemas. Foram notificados casos de osteonecrose, particularmente em doentes com factores de risco reconhecidos, doença avançada por VIH ou exposição a longo prazo à terapêutica anti-retrovírica combinada (TARC). O perfil de segurança do ISENTRESS em doentes com co-infecção com vírus de hepatite B e/ou hepatite C foi semelhante ao dos doentes sem co-infecção com vírus de hepatite B e/ou hepatite C, embora as taxas de anomalias do AST e ALT tenham sido ligeiramente superiores no subgrupo com co-infecção com vírus de hepatite B e/ou hepatite C para ambos os grupos de tratamento. **Interacções medicamentosas e outras formas de interacção:** Os estudos in vitro indicam que o raltegravir não é um substrato das enzimas do citocromo P450 (CYP), não inibe o CYP1A2, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 ou CYP3A, não induz o CYP3A4 e não inibe a transporte mediado pela glicoproteína P. Com base em estudos in vitro e in vivo, o raltegravir é eliminado principalmente pela metabolização através da via de glucuronidação mediada pela UGT1A1. Embora os estudos in vitro indiquem que o raltegravir não é um inibidor das UDP-glucuronosiltransferases (UGTs) 1A1 e 2B7, um estudo clínico sugeriu que pode ocorrer alguma inibição da UGT1A1 *in vivo*, com base nos efeitos observados na glucuronidação da bilirrubina. Todavia, a magnitude do efeito sugere até pouco provável que resulte numa interacção medicamentosa clinicamente importante. A rifampicina reduz os níveis plasmáticos de raltegravir, desconhece-se o impacto na eficácia do raltegravir. No entanto, se a co-administração com rifampicina não puder ser evitada, pode considerar-se uma duplicação da dose de ISENTRESS.

MSD
Quinta da Fonte, Edifício Vasco da Gama 19
2770-192 Paço de Arcos, PORTO SALVO

Linha Verde MSD
800 20 25 20

www.msd.pt **www.univadis.pt**

Medicamento de receita médica restrita, de utilização reservada a certos meios especializados. Para mais informações, consulte o titular da AIM.

Copyright © (2007) Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, U.S.A. All rights reserved.

7-08 RTG 2007-W-1223739-J SEP-2011 RTG-2008-PT-1528-J