VOLUME 2
03/RPDI
Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas
Orgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica
Setembro > Dezembro 2006
ISSN 1646-3633

Estudo multicêntrico de resistência aos antimicrobianos em nove hospitais portugueses

Comparação de resultados num intervalo de uma década

/07



/16 A virulência *versus* diferenciação do parasita *Toxoplasma gondii*

/22 Sucesso a longo prazo nos doentes com experiência múltipla em anti-retrovirais

/27 Tratamento da hepatite B crónica no adulto

/34 Meningoencefalite: um caso de febre escaronodular complicada

/37 Otite externa maligna e infecção VIH

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



FUZEON®
enfuvirtida

Bloquear a fusão. Redefinir expectativas

Na resposta à terapêutica com **enfuvirtida** foram identificados, nos estudos TORO 1 e TORO 2, **quatro factores de bom prognóstico:**[1]

- Número basal de linfócitos CD4>100/cel/mm³
- Carga vírica basal <100.000 cópias/ml
- <10 ARVs prévios
- 2 ou mais ARVs activos no esquema terapêutico de base

1. Montaner J, et al. Analysis of virological response of enfuvirtide on TORO - implications for patient management. 2nd IAS 2003, Paris, France. Abstract 116
Walmsley S, et al. Efficacy of enfuvirtide in subgroups of patients through 48 weeks of the therapy in the TORO trials. 9th EACS 2003, Warsaw, Poland. Poster. 73/15

Virologia Roche pela Vida

10 Rochenet 10 anos | www.roche.pt

Roche

Roche Farmacêutica Química, Lda.
Estrada Nacional 249 - 1
2720-413 Amadora
Tel. +351 21 425 70 00
Fax +351 21 418 66 77

RCM incluído nesta publicação. Medicamento sujeito a receita médica.

ARVs = anti-retrovíricos

Set.2006-833

RPDI

Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas

Orgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica

Volume 2, N.º 3, Setembro > Dezembro de 2006 | 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. Meliço Silvestre

/ Design e Paginação
Fábrica Mutante

/ Impressão
Papelmunde – SMG, Lda

/ 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.ºB/99 de Junho de 1999.

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

Corpos Gerentes da SPDIMC

/ Direcção
Presidente - Prof. Rui Sarmento e Castro
Vice-Presidente - Dr. Rui Corte-Real
Secretário - Prof. António Sarmento
Tesoureiro - Dr. Kamal Mansinho
Vogal - Mestre Joaquim Oliveira

/ Mesa da Assembleia-Geral
Presidente - Prof. Meliço-Silvestre
Vice-Presidente - Prof. Saraiva da Cunha
Secretário - Dr. António Vieira
Secretário - Dra. Célia Oliveira

/ Conselho Fiscal
Presidente - Prof. Francisco Antunes
Relator - Dra. Maria João Águas
Vogal - Dr. João Machado

Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas

/ Director
Prof. António Meliço-Silvestre

/ Director Honorário
Prof. Carvalho Araújo

/ Conselho Redactorial
Dr. Fernando Maltez
Dr. Germano do Carmo
Prof. Melo Cristino
Prof. Henrique Lecour
Dr. Kamal Mansinho
Prof. Saraiva da Cunha

/ Comissão Executiva
Dr. António Vieira
Dr. Germano do Carmo
Dr. Kamal Mansinho
Prof. Saraiva da Cunha

/ Conselho Científico
Dr. Abílio Morgado (Lisboa)
Dr. Alves Pereira (Porto)
Prof. A. Meliço Silvestre (Coimbra)
Dr. A. Rocha Marques (Porto)
Prof. António Sarmento (Matosinhos)
Dr. António Vieira (Coimbra)
Dr. António Malhado (Lisboa)
Prof. A. Torres Pereira (Lisboa)
Prof. Armando Porto (Coimbra)
Prof. Armindo Filipe (Lisboa)
Dr. Carlos Araújo (Lisboa)
Prof. Cerqueira Magro (Porto)
Prof. David Morais (Évora)
Prof. F. Carvalho Araújo (Lisboa)
Dr. Fermando Maltez (Lisboa)
Prof. Francisco Antunes (Lisboa)
Dr. Germano do Carmo (Lisboa)
Prof. Henrique Lecour (Porto)
Prof. J. Mello Vieira (Lisboa)
Prof. J. Saraiva da Cunha (Coimbra)
Dr. Jorge Nóbrega Araújo (Funchal)
Dr. José Poças (Setúbal)
Dr. José Neves (Lisboa)
Dr. Kamal Mansinho (Lisboa)
Dra. Leonor Carvalho (Lisboa)
Dr. Nogueira Lemos (Coimbra)
Dra. Maria João Águas (Almada)
Prof. Melo Cristino (Lisboa)
Prof. Mota Miranda (Porto)
Dr. Pita Groz Dias (Lisboa)
Dr. Rui Côrte-Real (Coimbra)
Dr. Rui Proença (Lisboa)
Prof. Rui Sarmento e Castro (Porto)

/ *In Memoriam*
Prof. Francisco Cambournac
Dr. José Luís Champalimaud
Prof. Júlio Machado Vaz
Prof.ª Laura Ayres
Prof. R. Carrington da Costa
Dr. Rui Dias de Sousa

03/RPDI
Setembro > Dezembro de 2006



EDITORIAL / *EDITORIAL*

05 Os 25 anos de infecção por VIH e a infecciologia portuguesa
/ Rui Sarmento e Castro

ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

07 Estudo multicêntrico de resistência aos antimicrobianos em nove hospitais portugueses
Comparação de resultados num intervalo de uma década
/ J. Melo-Cristino / A. F. Alves / J. M. Amorim / J. Diogo / L. M. Lito / P. Lopes / J. Marques / T. Marques / F. Martins / L. Monteiro / I. Nascimento / M. A. Pessanha / J. Piedade / M. H. Ramos / G. Ribeiro / A. Rodrigues / M. J. Salgado / L. Sobral / O. Spencer

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

16 A virulência *versus* diferenciação do parasita *Toxoplasma gondii*
/ A. Vilares / H. Ângelo

22 Sucesso a longo prazo nos doentes com experiência múltipla em anti-retrovirais
/ Maria João de Matos Águas

27 Tratamento da hepatite B crónica no adulto
/ AM Horta e Vale

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

34 Meningoencefalite: um caso de febre escaronodular complicada
/ José Roberto Silva / Adelino Carragoso / Orlando Gaspar

37 Otite externa maligna e infecção VIH
A propósito de 2 casos clínicos ou de uma entidade antiga num contexto novo
/ S Lourenço / T Martins / MC Catarino / P Rodrigues / F Maltez

41 Forum
42 Agenda / *Notebook*

EDITORIAL / *EDITORIAL*

Os 25 anos de infecção por VIH e a infecciologia portuguesa



/ Rui Sarmento e Castro
Presidente da Sociedade Portuguesa de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica

Completaram-se, em Junho de 2006, 25 anos sobre a divulgação na MMWR dos primeiros cinco casos de SIDA. Calcula-se que, neste período, o VIH infectou mais de 65 milhões de indivíduos, em todos os continentes, dos quais terão falecido cerca de 25 milhões.

Podemos considerar duas fases distintas na evolução da pandemia de SIDA. A primeira, correspondente aos primeiros 15 anos, caracterizou-se pelo desalento e traduziu-se por elevada morbilidade e mortalidade, sendo a infecção, em geral, fatal. Nos últimos dez anos tem sido possível controlar, de forma mais eficaz, a replicação do VIH, daí resultando um maior optimismo dos profissionais e dos doentes, justificado pela diminuição dos óbitos e pela constatação de que a infecção passou a adquirir um carácter crónico.

Podemos afirmar que a história da infecção VIH/SIDA tem sido feita de sucessos e insucessos. A redução da taxa de transmissão vertical com a utilização do AZT e, posteriormente, com outros fármacos, constituiu uma vitória muito importante. O mesmo se pode dizer do controlo farmacológico de muitas das infecções oportunistas. A introdução, em 1995/96, dos inibidores da protease e, mais tarde, dos não nucleosídeos, deu um real contributo para a melhoria da qualidade de vida dos doentes e para o aumento da sua sobrevivência. Os inibidores da protease de segunda geração, os inibidores da fusão e da integrase são também contributos de realçar na luta contra a infecção pelo VIH. A nível laboratorial o isolamento dos vírus da imunodeficiência, o conhecimento das suas estruturas e do ciclo de replicação, o desenvolvimento de testes de detecção, a quantificação da carga vírica e o conhecimento das alterações genéticas indutoras de resistências, foram, sem dúvida, avanços importantes.

A existência de cerca de 40 milhões de portadores do VIH, dos quais a imensa maioria vive em regiões subdesenvolvidas, atesta que a prevenção da infecção foi, em muitos aspectos, ineficaz e que não foram implementadas estruturas de saúde que permitissem fazer chegar os fármacos anti-retrovíricos às populações mais carenciadas. Apesar do sucesso da HAART continua a não ser possível controlar, de forma eficaz, a adesão ao tratamento, que constitui um aspecto decisivo do sucesso e continuamos a ter esquemas de tratamento com elevado número de cápsulas/comprimidos e com toxicidade significativa (particularmente nas terapêuticas de segunda linha), factores que também prejudicam a adesão. Não encontramos fármacos ou combinações que permitam erradicar o VIH o que obriga a que o tratamento deva ser feito com grande regularidade e para toda a vida. E, não vislumbramos para um futuro próximo o desenvolvimento de uma vacina. O conhecimento atempado dos novos casos e o seu tratamento são e serão factores decisivos de interrupção da cadeia de transmissão do VIH.

A epidemia VIH em Portugal teve um impacto significativo na Infecciologia e nos respectivos Serviços de Doenças Infecciosas. Coube aos infecciologistas, desde os primeiros casos registados no País, dar resposta aos desafios colocados por esta nova patologia. A indicação inicial de que era à Infecciologia que cabia o atendimento destes doentes, a escassez de Serviços de Infecciologia, estabelecidos, no início da epidemia, apenas nas grandes

cidades e a decorrente escassez de especialistas, levou a que os Serviços fossem submergidos por casos de SIDA. Apesar da elevada mortalidade registada no início da epidemia, devido à ausência de fármacos anti-retrovíricos eficazes, o número de novos casos ultrapassava largamente os óbitos o que levou a que os serviços de internamento admitissem, quase exclusivamente doentes de SIDA. Por incompreensão, foram, por vezes, internados nos nossos Serviços doentes cuja patologia de base deveria ser tratada por especialistas de outras áreas.
A escassez de camas de internamento e a recusa de alguns Serviços de outras especialidades em internarem infectados por VIH, levou a que muita patologia infecciosa clássica tivesse de ser atendida noutros sectores, com prejuízo para a formação dos novos especialistas. Nas condições actuais, em que o sucesso dos anti-retrovíricos conduziu a uma menor ocupação dos internamentos, cabe aos infecciologistas, em cada Hospital, definir claramente com os seus pares que patologias devem ser observadas em Doenças Infecciosas.
A referida escassez de infecciologistas tem sido colmatada, de forma positiva, pelo envolvimento na área clínica, de colegas de Medicina Interna, de Pediatria, de Obstetrícia e, em alguns Hospitais, de Pneumologia.

Trabalhar com doentes infectados por VIH constitui um desafio. A renovação de conhecimentos faz-se a ritmo acelerado obrigando a que quem trabalha nesta área tenha de estar permanentemente actualizado. Temos defendido, há vários anos, a criação de uma competência em SIDA (ou outra figura legal) que permita abranger colegas de várias especialidades e introduza programas de actualização obrigatórios e com avaliação. Pensamos que vale a pena lutar por este objectivo, que, aliás, parece ser consensual para quem trabalha nesta área, porque uma terapêutica adequada é essencial para a sobrevivência dos doentes, para a diminuição dos efeitos adversos e para evitar gastos desnecessários com combinações mais dispendiosas. Vivemos numa época de restrições e em que, cada vez mais, seremos responsabilizados pelas nossas atitudes.

A infecção VIH, ao introduzir alguma monotonia no nosso trabalho, poderá ter contribuído para o alheamento dos médicos internos e mesmo de muitos especialistas de aspectos relacionados com a formação e a investigação o que tem sido um aspecto negativo da infecciologia portuguesa. A ausência de estímulos tem contribuído para a escassez de projectos, de comunicações orais e escritas, quer em reuniões nacionais quer em congressos internacionais. E que dizer da participação em reuniões promovidas pela SPDI, pela APECS e outras estruturas? É importante discutir o futuro da infecciologia como especialidade para impedir o seu esvaziamento. A creditação da actividade dos internos durante a formação, pode ser um elemento importante de renovação da especialidade, de introdução de critérios de qualidade e de compensação daqueles que mais se esforcem. É decisivo antecipar o futuro!

Porto, 26 de Dezembro de 2006

ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Estudo multicêntrico de resistência aos antimicrobianos em nove hospitais portugueses

Comparação de resultados num intervalo de uma década

/ J. Melo-Cristino[1,2] / A. F. Alves[3] / J. M. Amorim[4] / J. Diogo[5] / L. M. Lito[2] / P. Lopes[6] / J. Marques[7] / T. Marques[8] / F. Martins[9] / L. Monteiro[2] / I. Nascimento[5] / M. A. Pessanha[9] / J. Piedade[8] / M. H. Ramos[4] / G. Ribeiro[10] / A. Rodrigues[5] / M. J. Salgado[2] / L. Sobral[6] / O. Spencer[7]

[1] Laboratório de Microbiologia. Faculdade de Medicina. Universidade de Lisboa.

[2] Laboratório de Bacteriologia, Hospital de Santa Maria. Lisboa.

[3] Laboratório de Bacteriologia, Centro Hospitalar de Coimbra.

[4] Serviço de Microbiologia, Hospital de Santo António, Porto.

[5] Laboratório de Bacteriologia, Hospital Garcia de Orta, Almada.

[6] Laboratório de Bacteriologia. Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia.

[7] Laboratório de Bacteriologia, Hospital de São José, Lisboa.

[8] Laboratório de Bacteriologia, Hospital de Santa Cruz, Carnaxide.

[9] Laboratório de Bacteriologia, Hospital de São Francisco Xavier, Lisboa.

[10] Laboratório de Bacteriologia, Hospitais da Universidade de Coimbra.

Correspondência:
J. Melo Cristino
Instituto de Microbiologia
Faculdade de Medicina de Lisboa
Av. Prof Egas Moniz
1649-028 Lisboa
Tel.: 217985180 / Fax: 217999459
E-mail: melo_cristino@fm.ul.pt

/ Resumo

A susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias mais frequentemente isoladas nos laboratórios de bacteriologia foi avaliada em nove hospitais nacionais em 2003. Verificou-se resistência à ciprofloxacina em 23,4% das estirpes de *Escherichia coli* (estudadas cerca de 11000), 18,0% em *Klebsiella* (c.2850), 17,5% em *Proteus mirabilis* (c. 1850) e 18,1% em *Enterobacter* (c.1180). A resistência à ceftazidima e cefotaxima, indicadora de presença de beta-lactamases de espectro estendido, encontrou-se em 6% de *E. coli*, 23,9% de *Klebsiella* e 2,4% de *P. mirabilis*. Em *Pseudomonas aeruginosa* (c. 5880) demonstraram-se valores de resistência entre 10% e 30% em relação a todos os antimicrobianos ensaiados. Em *Acinetobacter baumannii* (c. 1360) verificaram-se valores muito elevados de resistência, superiores a 80% para quase todos os antibióticos, com excepção da tobramicina (25,7%) e da amicacina (44,1%). Em *Staphylococcus aureus* (c.7000) a resistência à meticilina foi elevada (47,5%), embora com diferenças significativas nos diversos hospitais, e nas espécies *Staphylococcus epidermidis* (c. 2880) e *Staphylococcus haemolyticus* (c. 530) os valores foram superiores, respectivamente 76,9% e 84,0%. Não se encontraram estirpes de estafilococos com susceptibilidade diminuída ou com resistência à vancomicina. Em *Enterococcus faecalis* (c. 2700) a resistência à ampicilina foi baixa (1,5%) e à vancomicina foi de 3,5%, situação muito distinta do que se verificou na espécie *Enterococcus faecium* (c. 620) onde as resistências à ampicilina e à vancomicina atingiram valores de 85,7% e 31,8%, respectivamente. Na comparação dos resultados obtidos em 2003 com os encontrados em 1993 e 1994 nos mesmos hospitais salientam-se, nas bactérias gram-negativas, um aumento acentuado da resistência às quinolonas nas *Enterobacteriaceae*, uma diminuição da resistência à gentamicina e o aumento de resistência às cefalosporinas de 3ª geração em *E. coli* e *Proteus*, para além de *Klebisella*, já frequente há 10 anos. Nas bactérias Gram-positivas verificou-se a persistência de resistência elevada à meticilina em *Staphylococcus* e um aumento da resistência à vancomicina em *Enterococcus*.

/ Abstract

Antimicrobial susceptibility of the most frequently isolated bacteria in clinical bacteriology laboratories was studied in nine Portuguese hospitals in 2003. Ciprofloxacin resistance was detected in 23.4% Escherichia coli isolates (c. 11000 were tested), 18% Klebsiella (c.2850), 17.5% Proteus mirabilis (c.1850) and 18.1% Enterobacter (c.1180) isolates. Resistance to ceftazidime or cefotaxime, suggesting extended-spectrum beta-lactamase production, was found in 6% E. coli, 23.9%

Klebsiella and 2.4% P. mirabilis isolates. Among Pseudomonas aeruginosa isolates (c. 5880) resistence levels ranged between 10% and 30% with respect to all antimicrobials tested. Very high levels of resistance were detected in Acinetobacter baumannii isolates (c. 1360), higher than 80% for all antimicrobials tested except tobramycin (25.7%) and amikacin (44.1%). Methicillin resistance in Staphylococcus aureus (c. 7000) was high (47.5%), although significant differences were found among hospitals. In the coagulase negative species Staphylococcus epidermidis (c. 2880) and Staphylococcus haemolyticus (c. 530) methicillin resistance was even higher, 76.9% and 84.0% respectively. No vancomycin resistance was detected among staphylococci. In Enterococcus faecalis (c. 2700) ampicillin resistance was low (1.5%) and vancomycin resistance was 3.5%. In contrast, in Enterococcus faecium (c.620), ampicillin resistance was 85.7% and vancomycin resistance 31.8%. The comparison of these results with those obtained in 1993 and 1994 in the same hospitals shows a sharp increase in quinolone resistance and lower gentamicin resistance levels among Enterobacteriaceae, and the upsurge of resistance to 3rd generation cephalosporins in E. coli and P. mirabilis. Among Gram-positive bacteria, the high levels of methicillin resistance in staphylococci persisted and among enterococci there was an increase in vancomycin resistance.

/ Introdução

A resistência aos antimicrobianos é um problema crescente e de grande importância em saúde pública a nível global. A situação actual em diversos países é muito preocupante porque o isolamento de certas espécies bacterianas multirresistentes é cada vez mais frequente, o que coloca sérias dificuldades na terapêutica etiotrópica. Contudo, há diferenças muito acentuadas em diversas regiões geográficas e, mesmo em países vizinhos, ela pode ocorrer de forma muito significativa. A situação é dinâmica e, por vezes, observam-se variações marcadas no mesmo local em intervalos de tempo não muito longos.

As razões referidas, aliadas ao interesse do conhecimento objectivo da resistência aos antimicrobianos em Portugal, levou um grupo de microbiologistas de vários hospitais nacionais à divulgação conjunta, desde há uma década, da realidade nacional, espelhada pelos resultados observados nesses hospitais.

O trabalho agora apresentado inclui informação actualizada sobre a situação referente às bactérias Gram-negativas e Gram-positivas mais frequentemente isoladas em laboratórios hospitalares, oriundas tanto de doentes hospitalizados como da comunidade, permitindo o conhecimento da realidade nacional em hospitais de cinco cidades do País.

A divulgação destes resultados possibilita ainda analisar a evolução, numa década, das resistências nos diferentes microrganismos, detectar o aparecimento de novas resistências, avaliar a importância de estirpes multirresistentes em cada hospital e comparar a situação nacional com a de outros países, mesmo os geograficamente mais próximos.

Finalmente, a presente informação fornecerá um conhecimento mais actualizado e alargado aos clínicos, aspecto importante para a fundamentação da terapêutica, antes de ser conhecido o agente etiológico específico e sua susceptibilidade aos antimicrobianos.

/ Material e métodos

Hospitais participantes

Participaram no estudo nove hospitais: Da região norte o Hospital de Santo António do Porto e o Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia. Da região centro os Hospitais da Universidade de Coimbra e o Centro Hospitalar de Coimbra. Da região sul o Hospital de Santa Cruz, Hospital de Santa Maria, Hospital de São Francisco Xavier e Hospital de São José, todos de Lisboa e o Hospital Garcia de Orta de Almada.

Microrganismos e agentes antimicrobianos seleccionados

Os microrganismos e agentes antimicrobianos seleccionados foram:

Bactérias Gram-negativas:
Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella spp. e *Enterobacter* spp.: Ampicilina, cefalotina, cefotaxima, ceftazidima, co-trimoxazol, ciprofloxacina e gentamicina.
Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp.: Gentamicina, tobramicina, amicacina, piperacilina + tazobactamo, aztreonamo, imipenemo, ceftazidima, ciprofloxacina.

Bactérias Gram-positivas:
Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis e *Staphylococcus haemolyticus*: Penicilina, meticilina/oxacilina, eritromicina, gentamicina, ciprofloxacina, vancomicina e co-trimoxazol.
Enterococcus faecalis e *Enterococcus faecium*: Ampicilina, gentamicina (alta concentração), estreptomicina (alta concentração) e vancomicina.

Em cada laboratório foram incluídos no estudo todos os microrganismos isolados de produtos biológicos desde que valorizados como potenciais agentes de infecção.

Determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos

As metodologias para a determinação da susceptibilidade *in vitro* aos antimicrobianos foram as seguidas por rotina nos nove laboratórios participantes e são internacionalmente reconhecidas como adequadas. Cada laboratório pratica um programa interno de controlo de qualidade específico para a metodologia que utiliza e participa no UKNEQAS (United Kingdom National Externe Quality Assessment Scheme for Microbiology), um prestigiado programa internacional de avaliação externa da qualidade que inclui a determinação da susceptibilidade a antimicrobianos.

QUADRO I – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *ESCHERICHIA COLI* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Ampi	Cefra	Ceftaz	Cefotax	Cotri	Cipro	Genta
HUC	1635 (52,4)	1635 (19,0)	1635 (8,0)	1635 (8,0)	1635 (31,0)	1635 (26,0)	1635 (10,0)
CHC	1237 (50,9)	1237 (11,9)	1237 (7,6)	1237 (7,6)	1237 (23,6)	1237 (10,0)	1237 (8,6)
SFX	315 (63,5)	315 (33,0)	315 (9,8)	315 (9,8)	315 (33,0)	315 (23,8)	315 (13,3)
HSC	777 (58,0)	777 (47,2)	777 (4,8)	777 (4,8)	777 (43,0)	777 (31,0)	777 (8,2)
HSM	2497 (56,1)	2497 (23,2)	2486 (4,9)	2490 (4,9)	2494 (33,0)	2432 (20,5)	2477 (9,2)
HSJ	635 (61,9)	635 (20,9)	635 (11,0)	635 (11,0)	635 (37,0)	635 (33,1)	635 (13,1)
HSA	1973 (61,9)	1973 (72,2)	1973 (5,0)	1973 (5,0)	1973 (42,0)	1973 (32,5)	1973 (14,5)
VNG	984 (60,6)	984 (68,2)	984 (2,0)	984 (1,7)	984 (29,7)	984 (22,9)	984 (4,2)
HGO	1049 (56,6)	1049 (30,8)	1049 (3,2)	1049 (3,2)	1049 (31,2)	1049 (13,3)	1049 (4,1)
Total	11 102	11 091	11 095	11 095	11 099	11 037	11 082
R (%)	**57,3**	**36,6**	**6,0**	**6,0**	**33,9**	**23,4**	**9,6**

Ampi - ampicilina; **Cefra** - cefradina; **Ceftaz** - ceftazidima; **Cefotax** - cefotaxima; **Cotri** - Co-trimoxazol; **Cipro** - ciprofloxacina; **Genta** - gentamicina.
HUC - Hospitais da Universidade de Coimbra; **CHC** - Centro Hospitalar de Coimbra; **SFX** - Hospital de São Francisco Xavier; **HSC** - Hospital de Santa Cruz; **HSM** - Hospital de Santa Maria; **HSJ** - Hospital de São José; **HSA** - Hospital de Santo António; **VNG** - Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia; **HGO** - Hospital Garcia de Orta.
R (%) - média de resistência em percentagem; **ND** - não determinado.

/ Resultados

Os valores de susceptibilidade aos antimicrobianos das estirpes estudadas no ano de 2003 estão apresentados nos Quadros I a XI. Indicam-se, para cada microrganismo, o número total de estirpes estudadas, o valor percentual da resistência para cada um dos antimicrobianos ensaiados em cada hospital e a média global de resistência.

/ Discussão

A apresentação conjunta da experiência de vários laboratórios hospitalares, entre eles os pertencentes aos hospitais nacionais de maior dimensão, não é tarefa fácil e tem algumas limitações que deverão ser consideradas. Os hospitais participantes apresentam diferenças em aspectos relevantes como a sua dimensão, a existência de serviço de urgência permanente e valências médicas contempladas, a população que serve e as especialidades médicas ou cirúrgicas para que estão mais dirigidos.

Todos os laboratórios participantes estudam produtos oriundos tanto de doentes hospitalizados como de doentes em ambulatório. Contudo, não foi possível caracterizar a amostra nos componentes hospitalar e comunitário porque, apesar de a maioria dos produtos estudados ter origem em doentes hospitalizados, não foi obtida informação sistemática sobre o tempo de internamento em cada caso, o que impossibilitou a individualização de uma parcela que reflectisse infecção hospitalar.

Para a avaliação da susceptibilidade aos agentes antimicrobianos os microrganismos estudados foram escolhidos pela elevada frequência com que são isolados (estão contemplados todos os microrganismos mais vezes isolados em todos os laboratórios participantes) e também pela importância clínica e condicionalismos terapêuticos que as infecções por eles causadas podem colocar.

Os agentes antimicrobianos ensaiados foram seleccionados não só pelo seu potencial interesse terapêutico como também pelo interesse epidemiológico e ecológico que a resistência, quando detectada, poderá significar.

De entre os bacilos Gram-negativos, as enterobacteriacias são os mais frequentemente isolados nos laboratórios hospitalares. Destas, predominam largamente *E. coli*, seguida de *Klebsiella* spp. e são também frequentes os géneros *Enterobacter* e *Proteus*.

No presente trabalho estudaram-se mais de 11 000 estirpes de *E. coli*. Ao contrário do que se verificava há cerca de uma década, os valores de resistência encontrados sofreram alterações importantes e, nalguns casos, preocupantes. Nos antibióticos beta-lactâmicos, houve um aumento da resistência à ampicilina (de 47,7% para 57,3%), à cefalotina (de 12% para 36,6%) e às cefalosporinas de 3ª geração, por exemplo a ceftazidima e cefotaxima (de 1,5% para 6,0%). Esta última é sugestiva de produção de beta-lactamases de espectro estendido e é particularmente significativa. De facto, em 1993 e 1994[1,2] a situação não se verificava na maioria dos hospitais participantes e, nos casos em que foi detectada, a prevalência era muito reduzida, ao contrário da actualidade em que a situação é observada em todos os hospitais e, em alguns casos, atinge valores de cerca de 10% da totalidade dos microrganismos isolados. Outro aumento muito acentuado verificou-se na resistência às quinolonas (ciprofloxacina), passando o valor médio de 6,3% para os 23,4% actuais. Apenas em relação ao co-trimoxazol não se observaram alterações e estas foram também discretas na resistência à gentamicina.

Do género *Klebsiella* foram incluídas mais de 2800 estirpes. A resistência à ampicilina é característica da espécie e em relação às cefalosporinas, apesar de se terem verificado valores médios mais

QUADRO II – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *KLEBSIELLA* SPP. EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Ampi	Cefra	Ceftaz	Cefotax	Cotri	Cipro	Genta
HUC	648 (100)	648 (48,0)	648 (41,9)	648 (41,9)	648 (50,0)	648 (13,0)	648 (11,9)
CHC	196 (96,9)	196 (30,6)	196 (29,6)	196 (25,0)	196 (34,2)	196 (16,3)	196 (26,0)
SFX	77 (100)	77 (27,3)	77 (10,4)	77 (10,4)	77 (23,4)	77 (3,9)	77 (11,7)
HSC	110 (97,3)	110 (35,5)	110 (12,3)	110 (15,5)	110 (38,2)	110 (32,0)	110 (6,4)
HSM	757 (96,1)	759 (32,2)	758 (14,6)	758 (15,1)	757 (28,1)	730 (13,8)	760 (20,0)
HSJ	236 (100)	236 (24,6)	236 (17,8)	236 (18,6)	236 (26,3)	236 (17,8)	236 (14,8)
HSA	1973 (100)	1973 (46,6)	1973 (21,4)	1973 (21,8)	1973 (62,5)	1973 (39,2)	1973 (22,4)
VNG	224 (100)	224 (41,1)	224 (18,0)	224 (18,0)	224 (25,9)	224 (21,4)	224 (5,4)
HGO	191 (100)	191 (29,3)	191 (3,1)	191 (3,1)	191 (12,6)	191 (1,1)	191 (4,7)
Total	2855	2857	2856	2856	2855	2828	2858
R (%)	**98,7**	**37,7**	**23,8**	**23,8**	**37,2**	**18,0**	**15,6**

QUADRO III – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *PROTEUS MIRABILIS* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Ampi	Cefra	Ceftaz	Cefotax	Cotri	Cipro	Genta
HUC	296 (44,9)	296 (23,0)	296 (6,1)	296 (1,0)	296 (42,9)	296 (17,9)	296 (15,9)
CHC	211 (27,0)	211 (5,2)	211 (0,0)	211 (0,5)	211 (26,0)	211 (6,6)	211 (6,6)
SFX	59 (44,1)	59 (15,3)	59 (6,8)	59 (6,8)	59 (44,1)	59 (11,9)	59 (20,3)
HSC	102 (47,1)	102 (23,5)	102 (0,0)	102 (1,0)	102 (44,0)	102 (21,6)	102 (15,7)
HSM	416 (34,3)	416 (23,5)	416 (0,0)	416 (0,0)	416 (26,4)	404 (7,6)	413 (9,9)
HSJ	174 (50,0)	174 (13,2)	174 (0,0)	174 (0,0)	174 (39,1)	174 (21,3)	174 (13,2)
HSA	294 (55,4)	294 (53,4)	294 (11,5)	294 (10,5)	294 (54,8)	294 (40,2)	294 (26,5)
VNG	126 (39,7)	126 (41,3)	126 (0,8)	126 (0,8)	126 (38,9)	126 (18,3)	126 (14,3)
HGO	186 (34,9)	186 (12,4)	186 (0,0)	186 (0,0)	186 (24,7)	186 (9,1)	186 (7,0)
Total	1864	1864	1861	1861	1864	1852	1861
R (%)	**41,4**	**22,5**	**3,4**	**3,4**	**36,9**	**17,5**	**14,1**

elevados do que há uma década (30,6% para 37,7% na cefalotina, e 21,6% para 23,8% na ceftazidima respectivamente), este aumento não foi muito expressivo, ao contrário do que aconteceu em *E. coli*. Pode constatar-se assim que a produção de beta-lactamases de espectro estendido era então um problema em *Klebsiella*, sendo-o agora também noutras espécies de enterobacteriacias. Também digno de registo é a preocupante situação actual observada nos dois hospitais da região centro, com valores de resistência à ceftazidima de 29,6% no Centro Hospitalar de Coimbra e de 41,9% nos Hospitais da Universidade de Coimbra.

Em relação à ciprofloxacina verificou-se um aumento acentuado na resistência (de 3,1% para 18,0%), continuando a encontrar-se os valores mais elevados no Hospital de Santo António (12,7% em 1994 e 39,2% em 2003). Curiosamente, no Hospital Garcia de Orta, a resistência à ciprofloxacina quase não se detectou nestes microrganismos em 2003 (1,1%). Para a gentamicina demonstrou-se haver uma diminuição muito acentuada nos valores de resistência, para metade em relação há uma década (28,0% para 15,6%), situação observada tanto na média global como na generalidade dos hospitais individualmente.

Nos géneros *Proteus* e *Enterobacter* não existem dados comparativos. A espécie *Proteus mirabilis*, da qual foram estudadas mais de 1850 estirpes, não revelou resistências elevadas. Merecem ser salientados os valores médios para o co-trimoxazol (36,9%) e ciprofloxacina (17,5%) que poderão reflectir a proveniência maioritária destes microrganismos de infecções urinárias. Deve também ser salientado que 3,4% das estirpes estudadas eram resistentes à ceftazidima, mostrando que a provável produção de beta-lactamases de espectro estendido se começa a detectar também nesta espécie.

As mais de 1200 estirpes de *Enterobacter* spp. estudadas revelaram os valores esperados de resistência natural à ampicilina e cefalotina e também valores importantes de resistência às duas cefalosporinas de 3ª geração incluídas no estudo. Neste género é característica a

QUADRO IV – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *ENTEROBACTER* SPP. EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Ampi	Cefra	Ceftaz	Cefotax	Cotri	Cipro	Genta
HUC	314 (100)	314 (100)	314 (47,1)	314 (26,4)	314 (23,6)	314 (32,8)	314 (9,2)
CHC	110 (93,6)	110 (90,9)	110 (46,4)	110 (19,1)	110 (13,6)	110 (4,5)	110 (18,2)
SFX	28 (75,0)	28 (75,0)	28 (35,7)	28 (35,7)	28 (3,6)	28 (10,7)	28 (10,7)
HSC	53 (83,0)	53 (75,5)	53 (32,1)	53 (32,1)	53 (7,6)	53 (22,6)	53 (5,7)
HSM	231 (97,8)	231 (99,1)	228 (18,8)	229 (16,5)	231 (16,0)	232 (3,8)	231 (13,9)
HSJ	138 (98,6)	138 (97,8)	138 (21,0)	138 (21,0)	138 (13,8)	138 (7,2)	138 (9,4)
HSA	214 (100)	214 (100)	214 (48,6)	214 (48,6)	214 (26,2)	214 (31,7)	214 (13,6)
VNG	93 (100)	93 (100)	93 (24,7)	93 (23,7)	93 (6,5)	93 (10,8)	93 (9,7)
HGO	58 (100)	58 (100)	58(22,4)	58 (22,4)	58 (25,8)	58 (8,6)	58 (3,4)
Total	1239	1239	1237	1237	1239	1240	1239
R (%)	**97,6**	**97,2**	**36,1**	**27,5**	**18,3**	**18,1**	**11,3**

QUADRO V – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Genta	Tobra	Amica	Pi/Ta	Cipro	Imip	Ceftaz	Aztreo
HUC	1033 (31,1)	1033 (13,0)	1033 (10,0)	1033 (20,0)	1033 (22,3)	1033 (28,0)	1033 (35,0)	1033 (46,0)
CHC	659 (19,8)	659 (16,7)	659 (13,1)	659 (15,9)	659 (27,0)	659 (11,9)	659 (10,9)	659 (14,3)
SFX	178 (21,9)	178 (9,6)	178 (19,7)	178 (37,6)	178 (33,7)	178 (14,0)	178 (34,8)	178 (40,4)
HSC	189 (32,8)	189 (18,5)	189 (9,5)	189 (32,8)	189 (38,6)	189 (24,9)	189 (39,7)	189 (38,1)
HSM	1555 (31,3)	1549 (12,5)	1552 (9,9)	1554 (5,7)	1544 (24,4)	1535 (17,5)	1537 (8,1)	1111 (14,4)
HSJ	886 (12,0)	886 (9,0)	886 (5,0)	886 (12,0)	886 (33,0)	886 (10,9)	886 (12,0)	886 (16,9)
HSA	658 (20,0)	658 (10,3)	658 (13,8)	658 (20,0)	658 (30,0)	658 (20,7)	658 (21,7)	658 (40,2)
VNG	447 (51,0)	447 (27,7)	447 (20,6)	447 (44,1)	447 (44,1)	447 (20,1)	447 (31,1)	447 (51,7)
HGO	278 (25,5)	ND	278 (12,6)	278 (15,1)	278 (21,6)	278 (9,7)	278 (14,7)	278 (27,7)
Total	883	5605	5880	5882	5872	5863	5865	5439
R (%)	**26,8**	**13,6**	**11,2**	**17,1**	**28,3**	**18,1**	**19,2**	**29,4**

Tobra - tobramicina; **Amica** - amicacina; **Pi/Ta** - piperacilina/tazobactamo; **Imip** - imipenemo; **Aztreo** - aztreonamo.

presença de beta-lactamases cromossómicas que poderão justificar os valores encontrados[3]. A resistência à ciprofloxacina e à gentamicina revelou valores próximos dos encontrados nas outras enterobacteriacias incluídas no estudo.

A elevada frequência com que se isolam enterobacteriacias produtoras de beta-lactamases de espectro extendido é um dos aspectos mais preocupantes da actualidade nos hospitais portugueses e têm sido, recentemente, caracterizadas novas enzimas[4,5]. Estes microrganismos devem ser considerados resistentes à generalidade dos antibióticos beta-lactâmicos, incluindo as cefalosporinas de 1ª, 2ª e 3ª gerações, sendo habitualmente apenas os carbapenemos indicados para a terapêutica[6]. O seu aumento é, por vezes, associado ao uso excessivo de cefalosporinas de 3ª geração[6].

Também o aumento da resistência às quinolonas (no presente caso representadas pela ciprofloxacina) tem sido associado ao uso excessivo[7,8]. Esta resistência foi a que maior expressão alcançou no intervalo de 10 anos nas enterobacteriacias estudadas. Como estas integram os microrganismos mais frequentemente responsáveis por infecção urinária e dado que é prática corrente a prescrição de quinolonas para estas infecções no nosso País, poderá existir uma correlação entre as duas situações.

Foram estudadas mais de 5800 estirpes da espécie *P. aeruginosa* e, apesar das médias de resistência para cada antibiótico não serem muito diferentes do que se verificou em 1993 e 1994 (apenas nos aminoglicosideos se encontrou um valor mais baixo e na ceftazidima mais alto), diminuiram as grandes amplitudes nos valores percentuais de resistência então observados nos diferentes

QUADRO VI – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *ACINETOBACTER BAUMANII* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Genta	Tobra	Amica	Pi/Ta	Cipro	Imip	Ceftaz	Aztreo
HUC	319 (80,9)	319 (8,2)	319 (1,9)	319 (82,1)	319 (85,0)	319 (83,1)	319 (85,0)	ND
CHC	63 (66,6)	63 (26,9)	63 (15,8)	63 (79,4)	63 (49,2)	63 (69,8)	63 (74,6)	63 (39,7)
SFX	73 (90,4)	73 (11,0)	73 (82,2)	73 (82,2)	73 (97,3)	73 (90,9)	73 (98,6)	73 (84,9)
HSC	3 (0,0)	3 (0,0)	3 (0,0)	3 (33,3)	3 (66,7)	3 (33,3)	3 (66,7)	3 (100,0)
HSM	196 (79,0)	183 (75,9)	195 (70,2)	ND	196 (83,1)	194 (72,1)	193 (80,3)	168 (90,4)
HSJ	398 (89,9)	398 (12,1)	398 (67,8)	398 (89,9)	398 (94,0)	398 (88,9)	398 (91,0)	398 (94,7)
HSA	253 (91,3)	253 (40,3)	253 (45,0)	253 (91,0)	253 (94,0)	253 (93,3)	253 (95,6)	253 (100,0)
VNG	51 (60,8)	51 (9,8)	51 (11,8)	51 (82,4)	51 (70,6)	51 (66,7)	51 (70,6)	51 (94,1)
HGO	14 (14,3)	ND	14 (7,1)	14 (42,8)	14 (14,3)	14 (7,1)	14 (35,7)	14 (92,9)
Total	1370	1343	1369	1174	1370	1368	1367	1051
R (%)	83,4	25,7	44,1	85,9	86,7	83,7	87,2	88,8

QUADRO VII – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM OITO HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Peni	Meti	Vanco	Eritro	Genta	Cipro	Cotri
HUC	1658 (95,9)	1658 (66,0)	1658 (0,0)	1658 (64,1)	1658 (41,6)	1658 (36,8)	1658 (44,6)
CHC	447 (72,0)	617 (63,0)	617 (0,0)	617 (59,5)	617 (49,8)	617 (61,9)	617 (60,6)
SFX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HSC	288 (88,9)	288 (55,9)	288 (0,0)	288 (54,5)	288 (41,3)	288 (65,3)	288 (37,8)
HSM	1573 (89,0)	1560 (25,5)	1560 (0,0)	1559 (29,4)	1568 (23,7)	1520 (20,9)	1499 (15,3)
HSJ	945 (89,4)	945 (60,6)	945 (0,0)	945 (63,4)	945 (59,3)	945 (66,8)	945 (39,0)
HSA	975 (93,0)	975 (43,2)	975 (0,0)	975 (42,7)	975 (18,2)	975 (47,9)	975 (16,7)
VNG	576 (92,2)	576 (39,2)	576 (0,0)	576 (45,8)	576 (18,9)	576 (22,2)	576 (12,8)
HGO	435 (92,2)	435 (20,0)	435 (0,0)	435 (18,4)	435 (13,3)	435 (20,2)	435 (8,3)
Total	6897	7054	7054	7053	7054	7014	6993
R (%)	90,6	47,5	0,0	49,5	33,9	40,1	30,0

Peni - penicilina; **Meti** - meticilina; **Vanco** – vancomicina; **Eritro** - eritromicina.

hospitais. Não obstante em alguns casos se terem isolado estirpes multirresistentes, os valores médios de resistência em relação aos antimicrobianos não foram muito elevados. Continuaram a observar-se no Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia os valores de resistência mais altos para alguns antibióticos (tobramicina, piperacilina/tazobactamo e ciprofloxacina), apesar das diferenças ocorridas no intervalo em apreciação.

A espécie *Acinetobacter baumannii* foi incluída porque representa, actualmente, um dos microrganismos mais resistentes em hospitais europeus[9] . Há mesmo uma estirpe endémica em vários hospitais nacionais[10] que é resistente à totalidade dos antimicrobianos disponíveis para a terapêutica em Portugal, com excepção da colistina. Os valores encontrados nos cerca de 1350 isolamentos estudados são muito elevados, superiores a 80% em relação a todos os antibióticos ensaiados, com excepção da amicacina (44,1%) e da tobramicina (25,7%). Resultados obtidos nos mesmos hospitais no ano de 1995 (dados não publicados) mostraram valores de resistência inferiores a 50% aos mesmos antibióticos sendo de salientar que, nesse ano, apenas 1,4% de 632 estirpes estudadas eram resistentes ao imipenemo. No ano de 2003 o valor foi de 83,7% em 1368 isolamentos.

Do género *Staphylococcus* estudaram-se as três espécies mais vezes isoladas nos hospitais, *S. aureus, S. epidermidis* e *S. haemolyticus.* Foram incluídas mais de 7000 estirpes de *S. aureus* e, a exemplo do que havia já sido feito há uma década, analisaram-se em separado as estirpes susceptíveis (MSSA) e as resistentes à meticilina (MRSA). As estirpes MSSA (foram incluídas cerca de 3700) eram, na sua grande maioria (86,2%), resistentes à penicilina. Este valor seria de

QUADRO VIII – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Peni	Meti	Vanco	Eritro	Genta	Cipro	Cotri
HUC	812 (93,0)	812 (78,0)	812 (0,0)	812 (53,9)	812 (50,0)	812 (60,0)	812 (41,0)
CHC	154 (94,8)	256 (86,3)	256 (0,0)	256 (63,3)	256 (56,6)	256 (57,0)	256 (48,4)
SFX	60 (95,0)	60 (85,0)	60 (0,0)	60 (81,4)	60 (70,0)	ND	60 (23,7)
HSC	167 (97,6)	167 (76,6)	167 (0,0)	167 (61,1)	167 (59,9)	167 (69,5)	167 (58,7)
HSM	387 (94,8)	387 (78,8)	387 (0,0)	387 (70,0)	379 (57,2)	384 (62,5)	386 (37,5)
HSJ	172 (93,0)	172 (79,1)	172 (0,0)	172 (72,1)	172 (41,3)	172 (52,3)	172 (19,2)
HSA	430 (93,0)	430 (73,0)	430 (0,0)	430 (60,7)	430 (44,8)	430 (52,3)	430 (37,0)
VNG	559 (92,5)	559 (71,2)	559 (0,0)	559 (70,8)	559 (46,3)	559 (53,8)	559 (72,5)
HGO	139 (93,5)	139 (75,5)	139 (0,0)	139 (63,3)	139 (51,1)	139 (46,8)	139 (32,4)
Total	2880	2982	2982	2982	2974	2919	2981
R (%)	93,6	76,9	0,0	62,6	50,6	58,2	45,5

QUADRO IX – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Peni	Meti	Vanco	Eritro	Genta	Cipro	Cotri
HUC	200 (90,0)	200 (84,0)	200 (0,0)	200 (79,0)	200 (70,0)	200 (74,0)	200 (38,0)
CHC	18 (94,4)	37 (97,3)	37 (0,0)	37 (67,6)	37 (78,4)	37 (78,4)	37 (32,4)
SFX	11 (100,0)	11 (81,8)	11 (0,0)	11 (100.0)	11 (90,9)	ND	11 (72,7)
HSC	19 (94,7)	19 (84,0)	19 (0,0)	19 (73,7)	19 (94,7)	19 (94,7)	19 (94,7)
HSM	52 (84,4)	52 (86,5)	52 (0,0)	52 (82,6)	51 (80,3)	51 (74,5)	51 (25,4)
HSJ	38 (94,7)	38 (92,1)	38 (0,0)	38 (81,6)	38 (78,9)	38 (86,8)	38 (47,4)
HSA	58 (91,4)	58 (79,3)	58 (0,0)	58 (93,1)	58 (75,8)	58 (75,8)	58 (46,5)
VNG	87 (96,6)	87 (83,9)	87 (0,0)	87 (89,7)	87 (82,8)	87 (82,6)	87 (50,6)
HGO	37 (94,6)	37 (67,6)	37 (0,0)	37 (97,3)	37 (75,7)	37 (72,9)	37 (56,8)
Total	520	539	539	539	538	527	538
R (%)	92,3	84,0	0,0	83,5	76,6	78,2	44,1

esperar dado que a produção de beta-lactamases nesta espécie é uma situação corrente e estável há décadas. Também em relação aos restantes antimicrobianos ensaiados os valores apurados foram semelhantes aos de há uma década, tendo sido encontrados valores globais baixos de resistência à eritromicina, gentamicina, ciprofloxacina e co-trimoxazol. Analisando os resultados individualmente verificou-se um comportamento semelhante em todos os hospitais, merecendo apenas serem referenciadas como excepções a resistência à eritromicina nos Hospitais de Santa Cruz (21,3%) e São José (18,5%), à gentamicina nos Hospitais de Santa Maria (9,4%) e São José (12,4%) e à ciprofloxacina também nos Hospitais de Santa Cruz (21,3%) e São José (18,5%), em todos os casos com valores duas vezes superiores à média encontrada nos restantes hospitais.

A percentagem global de estirpes MRSA (foram estudadas mais de 3300) foi neste ano de 47,5%, um valor muito elevado mas idêntico ao encontrado há uma década, 49,2% em 1993 e 47,3% em 1994[1,2]. Outro dado relevante que se mantém inalterado é a não identificação, até à data, de estirpes com susceptibilidade intermédia ou resistentes à vancomicina nos nossos hospitais, apesar da sua recente descrição noutras áreas geográficas[11].

Contudo, apesar das duas importantes semelhanças salientadas, verificaram-se diferenças dignas de registo em duas situações. A primeira diz despeito aos restantes antimicrobianos ensaiados. Neste sub-grupo de MRSA, ao contrário do que se verificou no subgrupo MSSA, os valores globais de resistência à eritromicina, ciprofloxacina, co-trimoxazol e, sobretudo, gentamicina, foram inferiores aos encontrados na década passada. Como tem sido recentemente descrito em vários países europeus o isolamento de estirpes MRSA oriundas da comunidade que, entre outras características, revelam resistência aos antibióticos beta-lactâmicos e susceptibilidade a antimicrobianos de outras classes

farmacológicas[12], esta situação merece esclarecimento posterior. Como já referido, no presente trabalho não foi possível separar os microrganismos oriundos da comunidade dos hospitalares, pelo que a apreciação deste aspecto fica prejudicada. A experiência anterior nestes hospitais, onde a prevalência de MRSA sempre foi elevada, mostrou que estas estirpes eram sempre hospitalares e multirresistentes.
A segunda situação relevante contempla a acentuação da diferença na prevalência de estirpes MRSA nos diferentes hospitais. Os valores mais elevados foram neste ano encontrados nos Hospitais da Universidade de Coimbra (66,0%), Centro Hospitalar de Coimbra (63,0%) e Hospitais de São José (60,6%) e de Santa Cruz (55,9%) e os mais baixos nos Hospitais de Santa Maria (25,5%) e Garcia de Orta (20,0%). Não é fácil explicar as diferenças encontradas entre os diversos hospitais mas para elas poderão contribuir, para além do hipotético isolamento de estirpes oriundas da comunidade, as características específicas de cada hospital também já referidas, as práticas locais de controlo de infecção e de prescrição de antimicrobianos e a existência ou não de clones dominantes que poderão ser responsáveis por um número importante de isolamentos, como foi já anteriormente demonstrado em estudos efectuados com estirpes MRSA oriundas de alguns dos hospitais participantes[13,14,15].
Das espécies não produtoras de coagulase estudaram-se cerca de 2900 estirpes de *S. epidermidis* e 530 de *S. haemolyticus*. Como já verificado há 10 anos, os valores de resistência encontrados foram muito elevados e superiores aos de *S. aureus* em relação a todos os antimicrobianos ensaiados. Apenas em relação à vancomicina também não se encontraram microrganismos resistentes nos nossos hospitais. Deve salientar-se a resistência à meticilina que em *S. epidermidis* foi de 76,9%, um valor superior ao de 1994 (70%) e em *S. haemolyticus* de 84,0%, um valor semelhante. Em relação aos restantes antimicrobianos verificou-se também uma subida nos valores de resistência que eram já muito elevados há 10 anos.

QUADRO X – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *ENTEROCOCCUS FAECALIS* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Ampi	Genta	Estrepto	Vanco
HUC	502 (1,0)	502 (35,0)	502 (22,9)	502 (2,9)
CHC	256 (3,2)	256 (23,0)	256 (24,2)	256 (4,3)
SFX	63 (1,6)	63 (17,5)	63 (17,5)	63 (1,6)
HSC	192 (10,4)	192 (32,3)	192 (35,9)	192 (11,5)
HSM	551 (0,3)	511 (25,8)	521 (26,1)	549 (1,4)
HSJ	386 (0,3)	386 (56,5)	386 (56,5)	386 (1,0)
HSA	408 (0,5)	408 (22,3)	408 (40,9)	408 (2,0)
VNG	226 (0,0)	226 (28,8)	226 (42,9)	226 (11,1)
HGO	155 (0,6)	155 (25,8)	155 (41,9)	155 (1,2)
Total	2739	2699	2709	2737
R (%)	1,5	31,6	34,7	3,5

Estrepto - estreptomicina.

QUADRO XI – RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM *ENTEROCOCCUS FAECIUM* EM NOVE HOSPITAIS PORTUGUESES EM 2003

HOSPITAL	Ampi	Genta	Estrepto	Vanco
HUC	199 (93,0)	199 (49,2)	199 (28,6)	199 (54,8)
CHC	47 (76,6)	47 (36,2)	47 (21,3)	47 (44,7)
SFX	28 (85,7)	28 (53,6)	28 (32,0)	28 (14,3)
HSC	9 (88,9)	9 (66,7)	9 (55,6)	9 (44,5)
HSM	168 (86,3)	136 (68,4)	136 (33,1)	166 (4,8)
HSJ	44 (61,4)	44 (59,1)	44 (68,2)	44 (11,4)
HSA	111 (91,0)	111 (46,8)	111 (18,9)	111 (45,0)
VNG	24 (75,0)	24 (33,3)	24 (25,0)	24 (20,8)
HGO	22 (68,1)	22 (72,7)	22 (4,5)	22 (4,5)
Total	652	620	620	650
R (%)	85,7	53,4	29,7	31,8

Finalmente do género *Enterococcus* estudaram-se as duas espécies mais frequentes, *E. faecalis* e *E. faecium*.
Foram analisadas cerca de 2700 estirpes de *E. faecalis*. Em relação ao estudo de há 10 anos verificou-se que a resistência à ampicilina continua a ser muito baixa, com valor global de 1,5%, embora com expressão significativa (10,4%) apenas no Hospital de Santa Cruz. Este antibiótico é o de escolha para a terapêutica das infecções por esta espécie. Também em relação aos aminoglicosídeos ensaiados os valores globais de resistência não sofreram alterações significativas. Contudo, em relação à vancomicina, verificou-se uma subida na resistência de 1,0% em 1994 para 3,5% neste ano e, ao contrário do que se verificava anteriormente, isolaram-se estirpes resistentes em todos os hospitais participantes e, em dois deles (Hospital de Santa Cruz e Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia), o valor de resistência foi superior a 10%.
A espécie *E. faecium* (foram estudadas mais de 600 estirpes) continuou a revelar os resultados mais preocupantes. Os valores de resistência aos aminoglicosídeos não

sofreram alterações muito significativas, a resistência à ampicilina subiu de 72% em 1994 para 85,7%, mas a resistência à vancomicina atingiu o muito preocupante valor global de 31,8%, quando no estudo anterior era de 9%[2]. Para além da subida global, deve assinalar-se, mais uma vez, a existência de diferenças marcadas entre os hospitais, havendo valores iguais ou superiores a 45% em alguns (Hospital de Santa Cruz, Hospital de Santo António, Centro Hospitalar de Coimbra e Hospitais da Universidade de Coimbra) e de 5% noutros (Hospital Garcia de Orta e Hospital de Santa Maria). Como a amostra, nesta espécie, é reduzida em alguns hospitais, estes resultados deverão ser apreciados com prudência.

Apesar dos valores encontrados para a resistência à vancomicina, os resultados deste estudo português estão em consonância com outros estudos europeus e são contrários à situação relatada nos Estados Unidos da América, onde a resistência a glicopéptidos é mais prevalente[16,17]. Contudo, as infecções por enterococos resistentes à vancomicina continuam a colocar problemas terapêuticos importantes porque os antimicrobianos disponíveis e activos nestas situações são escassos.

Estudos desta natureza são essenciais e deverão prosseguir, eventualmente alargando o seu âmbito, para permitirem, entre outros, um melhor conhecimento da realidade nacional, uma comparação da realidade do País com terceiros, um acompanhamento próximo da evolução contínua dos diferentes microrganismos (sobretudo os mais frequentes ou problemáticos quando causam infecção) e uma detecção precoce de novas resistências e suas implicações clínicas, epidemiológicas e ecológicas. Com aplicação clínica directa, a presente informação contém um conjunto de dados relevantes para a fundamentação da terapêutica empírica nos hospitais.

/ Bibliografia

1. Melo Cristino, J., Alves, A.F., Calado, E., Costa, D., Costa, M.N., Ferro, L., Correia da Fonseca, Lito, L., Marques, J., Marques, T., Sarabando Moreira, J., Ramos, M.H., Ribeiro, C.G., Ribeiro, G., Salgado, M.J. Microrganismos isolados em laboratórios hospitalares portugueses. Experiência de sete hospitais centrais. Rev. Port. D. Infec. 1994; 17: 147-154.

2. Melo Cristino, J., Calado, E., Costa, Calheiros I.M., D., Costa, M.N., Diogo, J., Felício, M.L., Ferro, M.L., Correia da Fonseca J. Guimarães, M.A., Lito, L., Marques, J., Marques, M.T., Martins, F., Pais, M.A., Pinto, M., Ramos, M.H., Ribeiro, G., Rodrigues, L.A., Salgado, M.J., Simões, J., Sobral, M.L., Toscano, C. Estudo multicêntrico de microrganismos isolados e de resistência aos antimicrobianos em dez hospitais portugueses em 1994. Acta Méd. Port. 1996; 9: 141-150.

3. Conceição, T., Faria, N., Lito, L., Melo Cristino, J., Salgado, M.J., Duarte, A. Diversity of chromosomal AmpC beta-lactamases from *Enterobacter cloacae* isolates in a Portuguese hospital. FEMS Microbiol. Lett. 2004; 230:197-202.

4. Correia, M., Boavida, F., Grosso, F., Salgado, M.J., Lito, L.M., Melo Cristino, J., Mendo, S., Duarte, A. Molecular characterization on a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 2003; 47:2838-2843.

5. Duarte, A., Boavida, F., Grosso, F., Correia, M., Lito, L.M., Melo Cristino, J., Salgado, M.J. Outbreak of GES-1 beta-lactamase-producing multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a university hospital in Lisbon, Portugal. Antimicrob. Agents Chemother. 2003; 47: 1481-1482.

6. Bradford, P.A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat. Clin. Microbiol. Rev. 2001; 14: 933-951.

7. Ruiz, J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. J. Antimicrob. Chemother. 2003; 51: 1109-1117.

8. Wise, R. Maximizing efficacy and reducing the emergence of resistance. J. Antimicrob. Chemother. 2003; 51: Suppl. 1: 37-42.

9. Van Looveren M., Goossens, H. and the ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10: 694-704.

10. Silva, G., Correia, M., Semedo, T., Quaresma, J., Lito, L.M., Melo Cristino, J., Salgado, M.J., Araújo, O., Chantre, O., Marques, J., Pessanha, M.A., Martins, F., Peixe, L., Tenreiro, R., Duarte, A. Caracterização genotípica de uma estirpe endémica de *Acinetobacter baumannii*: disseminação intra e inter-hospitalar. Rev. Port. D. Infec. 2005 (em publicação).

11. Chang, S., Sievert, D.M., Hageman, J.C., Boulton, M.L., Tenover, F.C., Downes, F.P., Shah, S., Rudrik, J.T., Pupp, G.R., Brown, W.J., Cardo, D., Fridkin, S.K., for the vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* investigative team. Infection with vancomycin-
-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 1342-1347.

12. Stefani, S., Varaldo, P.E. Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 1179-1186.

13. Couto, I., Melo-Cristino, J., Fernandes, M.L., Garcia, T., Serrano, N., Salgado, M.J., Torres-Pereira, A., Sanches, I.S., de Lencastre, H. Unusually large number of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Portuguese hospital. J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 2032-2035.

14. Oliveira, D., Santos-Sanches, I., Mato, R., Tamayo, M., Ribeiro, G. Costa, D. de Lencastre, H. Virtually all methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the largest Portuguese teaching hospital are caused by two internationally spread multiresistant strains: the "Iberian" and the "Brazilian" clones of MRSA. Clin Microbiol Infect 1998; 4: 373-384.

15. Amorim, M.L., Aires de Sousa, M., Sanches I.S., Sá-leão, R., Cabeda, J.M., Amorim, J.M., de Lencastre, H. Clonal and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from a Portuguese hospital over time. Microb. Drug Resist. 2002; 8: 301-309.

16. Bonten, M.J., Willems, R., Weinstein, R.A. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from? Lancet Infect. Dis. 2001: 5: 314-325.

17. Goosens, H., Jabes, D., Rossi, R., Lammens, C., Privitera, G., Courvalin, P. European survey of vancomycin-resistant enterococci in at-risk hospital wards and in vitro susceptibility testing of ramoplanin against these isolates. J. Antimicrob. Chemother. 2003; 51: Suppl. 3: 5-12.

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

A virulência *versus* diferenciação do parasita *Toxoplasma gondii*

/ **A. Vilares** / **H. Ângelo**
Centro de Parasitologia, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

Correspondência:
Anabela Vilares
Centro de Parasitologia
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
Av. Padre Cruz
1649-016 Lisboa
Tel.: +351217519295 / Fax: +351217519294
E-mail: anabela.vilares@insa.min-saude.pt
anabela.vilares@clix.pt

/ Resumo

A tipagem de elevada diferenciação em *Toxoplasma gondii* é essencial para compreender as diferentes manifestações de doença e as características de transmissão das estirpes. Os métodos correntes de tipagem dividem as estirpes de *T. gondii* em três linhagens clonais com poucas diferenças entre si. O presente artigo descreve alguns métodos de diferenciação, bem como novos marcadores moleculares ("loci" variáveis) de *T. gondii*. Estes "loci" variáveis, conhecidos como microssatélites, são mais polimórficos do que as enzimas, do que as sequências detectadas por restricção enzimática de fragmentos de ADN e do que a variação encontrada nas sequências de intrões. Estes microssatélites são seis vezes mais diferenciativos do que qualquer outro marcador genético descrito para *T. gondii*, permitindo a diferenciação dos isolados nas três linhagens clonais existentes, bem como em estirpes atípicas e recombinantes. No entanto, ainda não foi possível associar a virulência das estirpes de *T. gondii* na infecção humana com a genotipia deste parasita.

/ *Abstract*

High-resolution typing of Toxoplasma gondii is essential to understand the effect of genetic differences among strains on the variation in disease manifestation and transmission patterns. Current typing methods discern 3 lineages with minimal within-lineage variation. This review describes different methods of typing T. gondii, and new variable loci. These loci, the microsatellites, were more polymorphic than enzymes, restriction fragment length polymorphisms, and sequence variation in introns. Most importantly, these loci revealed, for the first time, substantial within--lineage variation that was over 6-fold higher than that detected by other markers. Genotyping at these loci facilitates classification of isolates beyond the lineage level (atypical and recombinant strains).

/ Introdução

Toxoplasma gondii é o agente etiológico da toxoplasmose, pode infectar a grande maioria dos animais de sangue quente (mamíferos e pássaros) incluindo os humanos.
T. gondii é prevalente em todo o mundo, sendo de grande importância médica e veterinária[1,2].

Na maioria dos indivíduos imunocompetentes, a parasitose é assintomática.
A toxoplasmose pode ser grave ou mesmo levar à morte, quando associada, seja ao hospedeiro imunocomprometido (com infecção por HIV, transplantados, etc.) devido à reactivação dos pseudoquistos, seja à infecção primária materna por

transmissão ao feto durante a gestação por causar aborto ou doenças congénitas graves (encefalites, corioretinites, linfoadenopatias, etc.)[3].
A infecção por *T. gondii* é uma das causas importantes da corioretinite nos Estados Unidos e na Europa, sendo normalmente consequência de uma infecção congénita[4].
Nos Estados Unidos registam-se anualmente 750 mortes por toxoplasmose e cerca de cinquenta por cento destas infecções são de origem alimentar, fazendo da toxoplasmose a terceira causa de morte desta origem nos Estados Unidos e a primeira causa de infecção por ingestão de águas contaminadas ou carnes infectadas[5]. No entanto, na América Central e Sul a prevalência de *T. gondii* apresenta-se ainda mais elevada do que no resto do continente americano[6-11]. Em Portugal, a prevalência desta parasitose na população varia entre 35% no Sul e 60% no Norte do País, estimando-se que se verifiquem, em média, onze casos de infecção congénita por 10.000 nados vivos[12].
A transmissão da infecção toxoplásmica dá-se por ingestão de qualquer uma das formas de resistência, sejam os pseudoquistos contidos nas carnes de animais infectados ou os oocistos expelidos nas fezes dos felinos[3] que contaminam alimentos e águas e também verticalmente por via placentária através da passagem dos taquizoitos da mãe para o feto[2]. Alguns estudos revelaram que, os oocistos são resistentes à inactivação química ou ambiental e podem sobreviver por meses ou mesmo anos no meio ambiente[13].
Nos casos de toxoplasmose, relacionados seja com a infecção congénita ou com a infecção nos imunodeprimidos, são observadas variações substanciais na progressão e severidade da infecção e estas diferenças têm sido atribuídas a factores genéticos do hospedeiro e do parasita[14].
T. gondii tem sido agrupado em três linhagens clonais, nomeadamente tipo I, II e III, com base no estudo das sequências polimórficas de diferentes genes[14-17]. Outros estudos, nomeadamente, genéticos e filogenéticos, demonstraram que *T. gondii* se subdividia em dois grupos clonais[18, 19] que englobavam as três tipologias anteriormente referidas. O tipo I e III estão contidos no grupo clonal dois enquanto que o tipo II está no grupo clonal um[18]. Os três genótipos são predominantes e foram originados pelo cruzamento de duas estirpes parentais[20]. Su *et al.* demonstraram que este cruzamento se realizou há apenas 10.000 anos atrás[21].
Nas linhagens clonais predominantes (tipo I, II, III) as diferenças ao nível das sequências de ADN são inferiores a 2%[20]. Existem algumas explicações para a existência da estrutura clonal das populações de *T. gondii*. Primeiro, o parasita pode ser transmitido entre os hospedeiros intermediários pela via carnívora[21]. Segundo, apesar da transmissão por ingestão de oocistos ser uma das vias de contaminação dos hospedeiros e destas formas resultarem do ciclo sexual onde existe a possibilidade de recombinação tendo esta sido descrita ocasionalmente[16], está confirmado que muitos macrogâmetas do parasita permanecem no intestino do gato sem serem fertilizados, mas conseguem formar oocistos por partenogénese[22]. Terceiro, segundo alguns autores, é raro na natureza, o hospedeiro definitivo infectar-se simultaneamente com diferentes estirpes, o que origina por si só uma barreira temporal à recombinação[23-31].

/ Virulência das estirpes

A virulência das estirpes de *T. gondii* tem sido objecto de estudo para muitos investigadores desde longa data. O modelo animal escolhido tem sido, na maioria dos casos, o ratinho de laboratório. Para este animal, os isolados de *T. gondii* exibem diferentes virulências[17, 32]. As estirpes virulentas apresentam um LD_{100} (dose letal) em ratinhos "Swiss outbred" menor que dez taquizoitos, enquanto que as estirpes não virulentas têm um LD_{100} superior a 10^3 taquizoitos[17].
A virulência de *T. gondii* no ratinho de laboratório depende de vários factores, seja do estádio do parasita inoculado, da via de inoculação, da dose, da estirpe do animal usado, e da estirpe do parasita. Das três formas capazes de infectar um hospedeiro (oocistos, bradizoitos e taquizoitos), são os oocistos que apresentam maior infecciosidade. Alguns estudos têm mostrado que as estirpes do genótipo I desenvolvem sempre infecções mortais na inoculação primária em ratinhos de laboratório[33].
A estirpe RH de *T. gondii* (tipo I) é considerada a mais virulenta, matando os ratinhos num período inferior a duas semanas após a inoculação intraperitoneais (i.p.). Esta estirpe foi isolada em 1939 do cérebro de uma criança de seis anos de idade. Desde esta data, tem sido mantida na forma de taquizoito em ratinhos, em diferentes laboratórios, não tendo sido descrita qualquer alteração da sua virulência nos últimos 50 anos[34]. No entanto, os ratinhos originalmente inoculados por via i.p. e intracraniana (i.c.) com o cérebro da criança não morreram até ao vigésimo dia[35].
As sucessivas inoculações i.p. de taquizoitos no ratinho, segundo alguns autores, tornam as estirpes mais virulentas para esse animal qualquer que seja o seu comportamento na inoculação primária[34, 36]. Grigg *et al.* afirmaram, no entanto, que a passagem sucessiva de estirpes avirulentas no mesmo animal não altera as suas características de virulência[20].
Recentemente, Grigg *et al.*[20] levantaram a hipótese de que a virulência de *T. gondii* para os animais de laboratório seja o reflexo da virulência alélica. Estes investigadores referem que o cruzamento de duas estirpes não virulentas dão origem a algumas estirpes recombinantes mais virulentas que as suas progenitoras e associaram-na à combinação dos alelos nos cromossomas III e IV[20] enquanto Howe *et al.* associaram a virulência com marcadores existentes no cromossoma VIII[37].
Outros autores tentaram comprovar esta associação para estirpes do tipo I, sem resultados[1]. Terry *et al.* utilizaram segmentos de ADN repetitivos (REP) para caracterizar a virulência de isolados de *T. gondii*. Os isolados virulentos apresentavam REP's idênticos, enquanto que os não virulentos apresentavam REP's distintos entre si[38].
Nos últimos anos, a diferenciação de estirpes de *T. gondii* tem sido bastante estudada por vários autores. Estes estudos têm sido limitados pelas dificuldades de isolamento e manutenção de certas formas do parasita (ex. taquizoitos).
Os taquizoitos de *T. gondii* têm por vezes dificuldade em infectar culturas de células, *in vitro*, provavelmente devido à perda de receptores

das células em passagens elevadas, e são destruídos com a congelação e inactivados em algumas semanas a 4ºC[2]. Assim, os isolados têm sido mantidos em ratinhos de laboratório ao longo dos anos[34].

/ Diferenciação de estirpes

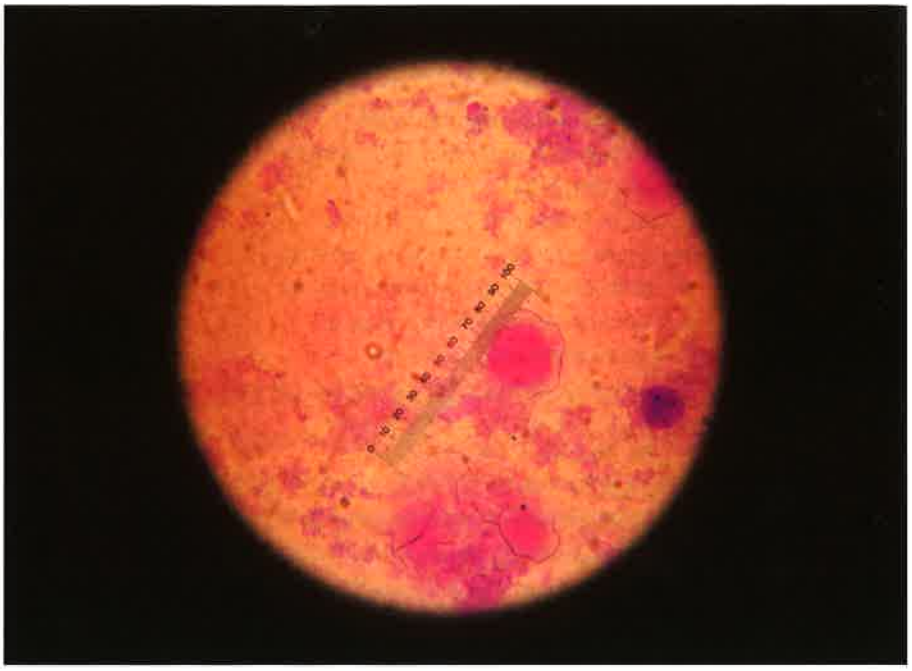
Recentemente, várias técnicas utilizando marcadores fenotípicos, serológicos, e genéticos têm sido utilizadas para diferenciar as estirpes de *T. gondii* na tentativa de correlacionar a diferenciação de estirpes com a virulência.

Electroforese enzimática

Esta técnica utiliza as isoenzimas extraídas dos taquizoitos, e consiste na análise de perfis electroforécticos após uma corrida em gel de poliacrilamida ou de agarose. O valor da electroforese multilocus de enzimas como técnica de análise tem sido largamente demonstrado. A diversidade alélica tem como vantagem o facto de ser bastante baixa na maioria dos marcadores genéticos (dois a quatro alelos) que têm sido utilizados, no entanto, para a sua execução são necessários cerca de $7x10^6$ taquizoitos, o que é um factor limitante da técnica. Estas concentrações de taquizoitos purificados são difíceis de obter em estirpes de divisão lenta, o que implica diversas passagens levando ao sacrifício de vários animais. Os sistemas isoenzimáticos polimórficos (marcadores isoenzimáticos) mais utilizados nesta técnica são os: amilase, aminotransferase de aspartato, esterase propionílica, fosfatase ácida, isomerase fosfato-glucose, glutationa redutase[23, 39].

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

A RFLP, como o nome indica, é realizada com enzimas de restrição directamente no ADN total do parasita. No entanto subsiste o mesmo problema na obtenção e purificação do material, e os padrões genéticos obtidos são de difícil interpretação. Esta técnica tem sido descrita por alguns autores na tipagem por "fingerprints" de isolados selvagens e de laboratório, fornecendo um perfil específico para cada estirpe[17, 40-42].



Dado o problema da concentração do material que as duas técnicas referidas anteriormente apresentam, tem sido usada a técnica de "Polymerase Chain Reaction" (PCR) para amplificação de fragmentos de ADN, que posteriormente possibilitam a diferenciação das estirpes de *T. gondii* por outras técnicas de biologia molecular.

"Random Amplified Polymorphic ADN Polymerase Chain Reaction" (RAPD-PCR)

A RAPD-PCR é uma dessas técnicas e consiste na amplificação de fragmentos de ADN, por PCR, com "primers" não específicos que discriminam os perfis de estirpes virulentas das não virulentas para o ratinho de laboratório[43]. Com o desenvolvimento dos estudos genéticos sobre o parasita, as técnicas que utilizam "primers" específicos têm sido mais frequentemente utilizadas tais como PCR--RFLP, sequenciação e microssatélites.

PCR-RFLP

A tipagem de *T. gondii* por PCR-RFLP consiste na utilização de enzima(s) de restrição sobre um produto de PCR. Esta técnica tem sido aplicada em diversos genes de *T. gondii* e é a técnica mais utilizada para a tipagem deste parasita em genes de apenas uma cópia[14, 16, 17, 44-47]. Os genes mais usados na tipagem de *T. gondii* são aqueles que codificam para os antigénios granulosos (GRA6, GRA8), para os antigénios de superfície (SAG1, SAG2) e outros antigénios (ROP1)[48].

Sequenciação

A sequenciação de ADN pode ser utilizada directamente como um método de genotipagem na detecção de deleções, de polimorfismos nucleotídicos numa sequência de pares de bases[20, 26, 49-53] ou como um método de detecção de zonas polimórficas de restrição de endonucleases para desenvolver ou confirmar as técnicas de PCR-RFLP. Na sequenciação são utilizados diferentes genes de uma única cópia, como os que codificam para antigénios, os que codificam para outros produtos como a actina, α-tubulina, β-tubulina, dihidrofolato redutase, trifosfatase nucleosídica e alfa DNA polimerase[26, 45, 54] e ainda, aqueles em que não é conhecida a sua função, como o C19, L328, 226, 850 e o 62B[16, 20, 55].
A maior capacidade discriminativa deste método é exemplificada no estudo do GRA6: na técnica de PCR-RFLP desenvolvida para este gene apenas se diferenciam três linhagens do parasita, mas

na sequenciação verifica-se que este gene é bastante mais polimórfico, revelando nove sequências alélicas[53].
A técnica de PCR-RFLP e sequenciação também têm sido realizadas em genes de múltiplas cópias, com funções desconhecidas, como é o caso do gene B1[55, 56] ou as TGR. As TGR são uma família de sequências que estão repetidas no genoma de *T. gondii* e que após a análise por PCR-RFLP revelaram dez perfis diferentes numa população de vinte e dois isolados de *T. gondii* onde foram estudados[40, 42]. No entanto, após a sequenciação, cada isolado revelou uma sequência de TGR única e própria[57]. Assim a sequenciação dos perfis dos isolados originados pelos marcadores, TGR e REP, já anteriormente referidos, facilitam estudos epidemiológicos em surtos humanos e/ou animais[58].

"Enzyme Linked Immunosorbent Assay" (ELISA)

Este método imunoenzimático permite a tipagem das estirpes utilizando como produto o soro do paciente, tirando vantagem dos perfis distintos gerados pela infecção com diferentes estirpes. A utilização desta técnica tem a vantagem de ser rápida, barata, relativamente não invasiva e evita o viés que pode ser originado com as múltiplas inoculações nos ratinhos de laboratório. No entanto, é pouco discriminatória, distinguindo apenas estirpes do tipo II e não II, porque as estirpes do tipo I e III processam alelos idênticos para algumas proteínas utilizadas (GRA2, GRA3, GRA6 e GRA7) nesta diferenciação[59].

Microssatélites

Os microssatélites pertencem a outra classe de marcadores genéticos. Os microssatélites são pequenas sequências repetidas de dois a seis nucleotídeos. Estas sequências repetidas são muito polimórficas devido à grande variação de tamanho que apresentam, consequentemente exibem múltiplos alelos, fazendo destes óptimos marcadores para os estudos genéticos. Os microssatélites polimórficos podem ser amplificados por PCR, com pequenas concentrações de ADN, e o tamanho dos alelos é calculado por sequenciação automática com "primers" fluorescentes. Esta técnica assegura resultados reprodutíveis e fidedignos[60, 61].
A origem genética da variabilidade destes marcadores é diferente da dos outros marcadores genéticos citados anteriormente. A hipervariabilidade genética dos microssatélites é explicada pela acumulação de mutações em extensão originada pela polimerase intra alélica na sequência do microssatélite durante a replicação.
A identificação dos microssatélites é considerada como a técnica mais informativa no estudo de polimorfismos de ADN. Ajzenberg *et al*[18] calcularam, através do Índex de Simpson, que o poder discriminatório da associação de oito marcadores de microssatélites numa população de oitenta e três isolados de *Toxoplasma* é de 0,997 (o máximo é igual a um), o que indica a elevada capacidade da técnica para a classificação das estirpes.
Uma vantagem desta técnica, relacionada com o poder discriminatório, é que ao contrário da análise de monolocus permite a identificação de alelos atípicos ou recombinantes. Outra particularidade, é permitir a identificação de infecções mistas. Como *T. gondii* é um parasita haploide, origina apenas um pico na análise dos microssatélites e quando se obtêm mais picos, isso indica que estamos perante uma infecção mista[61].
O poder discriminatório da associação destes oito microssatélites pode ainda ajudar em estudos epidemiológicos e no controlo genotípico de estirpes no laboratório.

/ Epidemiologia

Qualquer um dos três genótipos tem a capacidade de causar infecções humanas. Contudo, o genótipo II predomina na toxoplasmose humana e nos infectados por HIV[14, 16, 27].
Em França e nos EUA, o genótipo II tem sido identificado como maioritário nas colecções de estirpes isoladas de infecções humanas e animais[14-16, 42, 47].
Em Inglaterra, de dezanove casos de toxoplasmose congénita, 32% (6) pertenciam ao tipo I enquanto que 37% (7) pertenciam ao tipo II e em 31% (6) dos casos foram identificadas infecções mistas do tipo I e II[62]. Estudos efectuados em Espanha demonstraram que 75% das estirpes responsáveis por infecções congénitas pertencem ao genótipo I[63]. Em Portugal, até 2004, em casos humanos de toxoplasmose congénita, apenas tinham sido classificadas estirpes do tipo I, pelo gene SAG2[64]. Num estudo recente efectuado em São Paulo no Brasil, de uma população de vinte e cinco galinhas assintomáticas 64% (16) pertenciam ao tipo I e 36% (9) ao tipo III, não tendo sido isolada e identificada nenhuma estirpe do tipo II[65].
O número de isolados do tipo I em Portugal, em Espanha, Inglaterra e no Brasil é superior ao número encontrado em França e nos Estados Unidos. Esta diferença pode ter várias explicações, tais como a origem geográfica dos isolados, os hospedeiros envolvidos, a situação clínica e o número de amostras das colecções estudadas[62-66].
Genótipos recombinantes ou com alelos atípicos representam apenas cerca de 5 a 10% na maioria dos isolados[16, 23], sendo encontrados maioritariamente em África e no Brasil e em diferentes espécies de hospedeiros[20, 23-25, 27, 67].

/ Infecção humana *versus* genótipo

Em França, na infecção congénita apenas foram isoladas estirpes do tipo II. Estes isolados foram encontrados em infecções congénitas de diferente gravidade desde infecção letal, envolvimento neurocular severo, coriorretinites e toxoplasmose latente[15, 60]. A severidade da toxoplasmose congénita, depende essencialmente da idade de gestação na data da contaminação materna e do tempo de exposição do feto ao parasita. As estirpes do tipo II que não são virulentas para o ratinho podem ser extremamente agressivas para o feto. Algumas estirpes do tipo I e atípicas são muito virulentas para o Homem, nomeadamente na infecção congénita[58].
No imunodeprimido, as genotipagens têm sido efectuadas pelo estudo de genes de uma só cópia e por técnicas como a PCR-RFLP[16, 68].
No entanto, como já foi referido esta técnica não permite identificar estirpes recombinantes ou atípicas, o que pode originar uma classificação incompleta e equívoca. Das estirpes estudadas foram identificadas.maioritariamente estirpes do tipo II (75%), contudo as restantes 15% de estirpes foram classificadas como tipo I, o que

sugere que as estirpes deste genótipo podem formar pseudoquistos[58].
No imunocompetente, a infecção por *T. gondii* pode originar adenopatias e toxoplasmose ocular. Dardé descreveu que nas linfoadenopatias apenas se isolaram estirpes do tipo II[39], mas outros autores referem que em coriorretinites foram isoladas estirpes do tipo I e recombinantes[20, 40, 52].
Na Guiana Francesa, indivíduos imunocompetentes apresentaram falência de múltiplos órgãos, após o consumo de gamos infectados com estirpes atípicas o que sugere uma menor adaptação do sistema imunitário humano as estas estirpes[66, 67, 69].

/ Conclusões

Vários marcadores moleculares têm sido utilizados para diferenciar o parasita *T. gondii*. O desenvolvimento do projecto "*Toxoplasma* genome" tem facilitado a descoberta destes marcadores moleculares[70, 71]. Neste momento, mais de 73.000 genes e "expressed sequence tags" (EST) estão disponíveis no GenBank[72].
Apesar de todos estes estudos, ainda não foi possível associar a virulência das estirpes das infecções humanas com a genotipia do parasita, ou seja, ainda não foram encontrados os genes/proteínas responsáveis pelas patologias associadas ao comportamento da infecção no Homem. No entanto, de todos os marcadores moleculares descritos, são os microssatélites os mais informativos, permitindo a identificação de infecções mistas, de estirpes recombinantes e atípicas, sendo por isso, cada vez mais utilizados para a diferenciação de *T. gondii*.

/ Referências Bibliográficas

1) Su, C., D. Howe, J. Dubey, J. Ajioka et D. Sibley. 2002. Identification of quantitative trait loci controlling acute virulence in *Toxoplasma gondii*. PNAS. 99:10753-8.

2) Tenter, A., A. Heckeroth et L. Weiss. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int. J. Parasitol. 30:1217-58.

3) Luft, B. et J. Remington. 1992. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin. Infect. Dis. 15:211-22.

4) Montoya, J. et J. Remington. 1996. Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. Clin. Infect. Dis. 23:277-82.

5) Mead, P., L. Slutsker, V. Dietz *et al.* 1999. Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis. 5:607-25.

6) Lamb, G. et H. Feldman. 1968. A nationwide serum survey of Brazilian military recruits, 1964. III. Toxoplasma dye test antibodies. Am. J. Epidemiol. 87:323-8.

7) Remington, J. S., B. Efron, E. Cavanaugh, J. Simon et A. Trejos. 1970. Studies on toxoplasmosis in El Salvador. Prevalence and incidence of toxoplasmosis as measured by the Sabin-Feldman dye test. Transactions RSTMH. 64:252-67.

8) Frenkel, J. K. et A. Ruiz. 1980. Human toxoplasmosis and cat contact in Costa Rica. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29: 1167-80.

9) Coutinho, G., W. de Souza, L. Coura, M. Marzochi et M. Amendoeria. 1981. Levantamento dos resultados das reações de imunofluorescência indireta para toxoplasmose em 6079 pacientes de ambulatório ou gestantes no Rio de Janeiro realizadas durante os anos de 1971 a 1977. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 23:48-56.

10) Frenkel, J., K. Hassanein, R. Hassanein, E. Brown, P. Thulliez et R. Nunez. 1995. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five--year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. Am. J. Trop. Med. Hyg. 53:458-68.

11) Jones, J., D. Moran, M. Wilson, G. McQuillan, T. Navin et J. McAuley. 2001. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am. J. Epidemiol. 154:357-65.

12) Ângelo, H. 2003. Dispositions légales et stratégies préventives de la toxoplasmose congénitale au Portugal. Archives de pédiatrie. 10:25-6.

13) Yilmaz, S. et S. Hopkins. 1972. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. J. Parasitol. **58:**938-9.

14) Howe, D., S. Honoré, F. Derouin et L. Sibley. 1997. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 35: 1411-4.

15) Dardé, M. et D. Ajzenberg. 2003. Toxoplasmosis polymorphism and its clinical consequences. Archives de pédiatrie. 10:45-6.

16) Howe, D. et L. Sibley. 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with humann disease. J. Infect. Dis. 172: 1561-6.

17) Sibley, L. et J. Boothroyd. 1992. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. Nature. 359:85-8.

18) Ajzenberg, D., A. Banuls, N. Tibayrenc et M. Dardé. 2002. Microssatellite analysis of *Toxoplasma gondii* of population shows a high polymorphism structured into two main clonal groups. Int. J. Parasitol. 32:37-8.

19) Lehmann, T., C. Blackston, S. Parmley, J. Remington et J. Dubey. 2000. Strain typing of *Toxoplasma gondii*: comparison of antigencoding and housekeeping genes. J. Parasitol. 86:960-71.

20) Grigg, M., S. Bonnefoy, A. Hehl, Y. Suzuki et J. Boothroyd. 2001a. Success and virulence in *Toxoplasma* as result of sexual recombination between two distinct ancestries. Science. 294:161-5.

21) Su, C., D. Evans, R. Kissinger, J. Ajioka et L. Sibley. 2003. Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. Science. 299:414-6.

22) Ferguson, D. 2002. *Toxoplasma gondii* and sex: essential or optional extra? Trends of Parasitol. 18:355-9.

23) Dardé, M. 1996. Biodiversity in *Toxoplasma gondii*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 219:27-41.

24) Bossi, P., E. Caumes, L. Paris, M. Dardé et F. Bricaire. 1998. *Toxoplasma gondii* - associated Guillain Barré syndrome in an immunocompetent patient. J. Clin. Microbiol. 36:3724-5.

25) Cole, R., D. Lindsay, D. Howe *et al.* 2000. Biological and molecular characterizations of *Toxoplasma gondii* strains obtained from southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). J. Parasitol. 86:526-30.

26) Lehmann, T., D. Graham, E. Dahl *et al.* 2003. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. Infect. Genet. Evol. 3:135-41.

27) Grigg, M., J. Ganatra, J. Boothroyd et T. Margolis. 2001b. Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. J. Infect. Dis. 184:633-9.

28) Carme, B., F. Bissuel, D. Ajzenberg *et al.* 2002. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J. Clin. Microbiol. 40:4037-44.

29) Ghosn, J., L. Paris, D. Ajzenberg *et al.* 2003. Atypical toxoplasmic manifestation after discontinuation of maintenance therapy in a human immunodeficiency virus type 1-infected patient with immune recovery. Clin. Infect. Dis. 37:112-4.

30) Miller, M., M. Grigg, C. Kreuder *et al.* 2004. An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. Int. J. Parasitol. 34:275-84.

31) Ajzenberg, D., A. Bañuls, C. Su *et al.* 2004. Genetic Diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 34:1185-96.

32) Suzuki, Y, F. Conley et J. Remington. 1989. Differences in virulence and development of encephalitis during chronic infection vary with the strain of *Toxoplasma gondii*. J. Infect. Dis. 159:790-4.

33) Sibley, L., D. Mordue et D. Howe. 1999.

Experimental approach to understanding virulence in toxoplasmosis. Immunobiology. 201:210-24.

34) Dubey, J. P. 1977. "*Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidian of man and animals". In: Kreier, J. P. (Ed.). Parasitic Protozoa, Academic Press, New York, 101-237.

35) Sabin, A. 1941. Toxoplasmic encephalitis in children. J. Am. Med. Associat. 116:801-7.

36) Jacobs, L. et M. Melton. 1954. "Modifications in virulence of a strain of *Toxoplasma gondii* by passage in various hosts. Am. J. Trop. Med. Hyg. 3:447-57.

37) Howe, D., B. Summers and L. Sibley. 1996. Acute virulence in mice associated with markers on chromosome VII in *Toxoplasma gondii*: analysis. Infect. immun. 64:5193-8.

38) Terry, R., J. Smith, P. Duncanson et E. Petersen. 2001. MGE-PCR: a novel approach to the analysis of *Toxoplasma gondii* strain differentiation using mobile genetic elements. Int. J. Parasitol. 31:155-61.

39) Dardé, M., B. Bouteille et M. Perstreal. 1992. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiologic implications. J. Parasitol. 78:909-12.

40) Cristina, N., M. Liaud, F. Santoro, B. Oury et P. Thomas. 1991. A family of repeated DNA sequences in *Toxoplasma gondii*: cloning, sequence analysis, and use in strain characterization. Exp. Parasitol. 73:73-81.

41) Howe, D. et L. Sibley. 1994. *Toxoplasma gondii*: analysis of different laboratory stocks of the RH strain reveals genetic heterogeneity. Exp. Parasitol. 78:242-5.

42) Literák, I., I. Rychilk, V. Svobodova et Z. Pospisil. 1998. Restriction fragment length polymorphism and virulence of Czech *Toxoplasma gondii* strains. Int. J. Parasitol. 28:167-74.

43) Guo, Z., U. Gross et A. Johnson. 1997. *Toxoplasma gondii* virulence markers identified by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. Parasitol. Res. 83:458-63.

44) Parmley, S., U. Gross, A. Sucharczuk, T. Windeck, G. Sgarlato et J. Remington. 1994. Two alleles of the gene encoding surface antigen P22 in 25 strains of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. 80:293-301.

45) Binas, M. et A. Johnson. 1998. A polymorphism in a DNA polymerase alpha gene intron differentiates between murine virulent and avirulent strains of *Toxoplasma gondii*. Int. J. Parasitol. 28:1033-40.

46) Mondragon, R., D. Howe, J. Dubey et L. Sibley. 1998. Genotypic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs. J. Parasitol. 84:639-41.

47) Owen M. et A. Trees. 1999. Genotyping of Toxoplasma gondii associated with abortion in sheep. J. Parasitol. 85:382-4.

48) Lin, A., E. Shin, T. Kim et J. Park. 2005. Genetic characteristics of the Korean isolate KI-1 of *Toxoplasma gondii*. Korean J. Parasitol. 43:27-32.

49) Luton, K., M. Gleeson et A. Johnson. 1995. rRNA gene sequence heterogeneity among *Toxoplasma gondii* strains. Parasitol. Res. 81:310-5.

50) Rinder, H., A. Thomschke, M. Dardé et T. Löscher. 1995. Specific DNA polymorphisms discriminate between virulence and non-virulence to mice in nine *Toxoplasma gondii* strains. Mol. Biochem. Parasitol. 69:123-6.

51) Meisel, R., S. Stachelhaus, M. Mévélec, G. Reichmann, J. Dubremetz et H. Fischer. 1996. Identification of two alleles in the GRA4 locus of *Toxoplasma gondii* determining a differential epitope which allows discrimination of type I versus type II and III strains. Mol. Biochem. Parasitol. 81:259-63.

52) Windeck, T. et U. Gross. 1996. *Toxoplasma gondii* strain-specific transcript levels of SAG1 and their association with virulence. Parasitol. Res. 82:715-9.

53) Fazaeli, A., P. Carter, M. Dardé et T. Pennington. 2000. Molecular typing of *Toxoplasma gondii* strains by GRA6 gene sequence analysis. Int. J. Parasitol. 30:637-642.

54) Asai, T., S. Miura, L. Sibley, H. Okabayashi et T. Takeuchi. 1995. Biochemical and molecular characterization of nucleoside triphosphate hydrolase isoenzymes from the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. J. Biol. Chem. 270:11391-7.

55) Grigg, M. et J. Boothroyd. 2001c. Rapid identification of virulent type I strains of the protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* by PCR--Restriction fragment length polymorphism analysis at the B1 gene. J. Clin. Microbiol. 39:398-400.

56) Burg, J., C. Grover, P. Pouletty et J. Boothroyd. 1989. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 27:1787-92.

57) Hogdall, E., J. Vuust, P. Lind et G. Hide. 2001. Characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) of the non-coding *Toxoplasma gondii* (TGR)-gene sequences. Int. J. Parasitol. 30:853-8.

58) Dardé, M. 2004. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. Annali dell'Istituto Superiore di Sanita. 40:57-63.

59) Kong, J., M. Grigg, L. Uyetake, S. Parmley and J. Boothroyd. 2003. Serotyping of *Toxoplasma gondii* infections in humans using synthetic peptides. J. Infect. Dis. 187:1484-95.

60) Costa, J., M. Dardé, B. Assouline, M. Vidaud et S Bretagne. 1997. Microssatellite in beta-tubulin gene of *Toxoplasma gondii* as new genetic marker for use in direct screening of amniotic fluids. J. Clin. Microbiol. 35:2542-5.

61) Ajzenberg, D., A. Dumètre et M. Dardé. 2005. Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. J. Clin. Microbiol. 43:1940-3.

62) Aspinall, T., E. Guy, K. Roberts *et al.* 2002. Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales: public health implications. Int. J. Parasitol. 33:97-103.

63) Fuentes, I., J. Rubio, C. Ramírez et J. Alvar. 2001. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human Toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. J. Clin. Microbiol. 39:1566-70.

64) Vilares, A., L. Reis et H. Ângelo. 2003. Genetical characterization of portuguese strains of *Toxoplasma gondii* from human congenital infections. Acta Parasitológica Portuguesa. 10:58-9.

65) Dubey, J., D. Graham, C. Blackston *et al.* 2002. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. Int. J. Parasitol. 32:99-105.

66) Bossi, P., P. Luc, E. Caumes, C. Katlama et F. Bricaire. 2001. Severe acute disseminated toxoplasmosis acquired by an immunocompetent patient in French Guiana. Scan. J. Infect. Dis. 34:311-4.

67) Dardé, M., I. Villena, J. Pinon et I. Beguinot. 1998. Severe toxoplasmosis caused by a *Toxoplasma gondii* strain with a new isoenzyme type acquired in French Guiana. J. Clin. Microbiol. 36:324.

68) Honoré, S., A. Couvelard, Y. Garin *et al.* 2000. Génotypage des souches de *Toxoplasma gondii* chez des patients immunodéprimés. Pathologie Biologie. 48:541-7.

69) Debord, T., P. Eono, J. Rey et R. Roué. 1996. Les risques infectieux chez les militaries en operation. Méd. Mal. Infect. 24:402-7.

70) Ajioka, J., J. Boothroyd, B. Brunk *et al.* 1998. Gene discovery by EST sequencing in *Toxoplasma gondii* reveals sequences restricted to the apicomplexa. Gen. Res. 8:18-28.

71) Manger, I., A. Hehl, S. Parmley *et al.* 1998. Express sequence tag analysis of the bradizoite stage of *Toxoplasma gondii*: identification of developmentally regulated genes. Infect. Immun. 66:1632-167.

72) Khan, A., S. Taylor, C. Su *et al.* 2005. Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. Nucleic Acids Res. 33:2980-92.

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Sucesso a longo prazo nos doentes com experiência múltipla em anti-retrovirais

/ Maria João de Matos Aguas
Chefe de Serviço de Infecciologia e Directora do Serviço de Infecciologia do Hospital Garcia de Orta, EPE, Almada

Correspondência:
Maria João de Matos Aguas
Serviço de Infecciologia
Hospital Garcia de Orta
Av. Torrado da Silva
2811-997 Almada
Tel.: +351 212727163 / Fax: +351 212727346
E-mail: mjaguas@hgo.min-saude.pt

/ Resumo

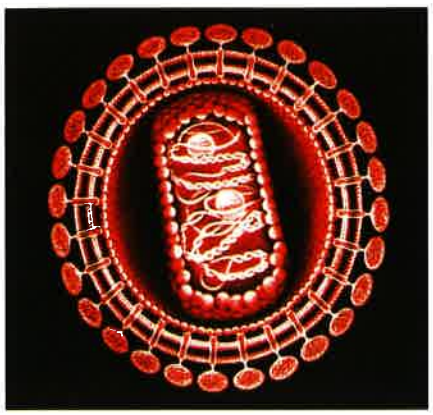
Não foram completamente validadas por estudos clínicos as estratégias para o tratamento dos doentes infectados por VIH1 com experiência múltipla em anti-retrovirais. É possível contudo identificar alguns princípios gerais que nos ajudem a construir regimes com capacidade para tornar indetectável a carga viral e mantê-la controlada. A chave para o sucesso terapêutico é a utilização de maior número possível de novos fármacos, associados a um esqueleto anti-retroviral optimizado, construído na base da história terapêutica, dos testes de resistência prévios e de um teste de resistência sob o regime em falência. Outras estratégias incluem as mega-terapêuticas (*mega-HAART*) e a dupla potenciação de inibidores da protease, embora actualmente menos indicadas. A continuação de um regime em falência, que mantenha estabilizada a função imunológica e previna a progressão da doença, pode ainda ser considerada se não existirem outras opções para tratamento. O desenvolvimento de novos fármacos e de novas classes de anti-retrovirais, com diferentes perfis de resistência e com actividade sobre os actuais mutantes virais resistentes, antecipa um futuro mais promissor para muitos destes doentes.

/ Palavras-chave: terapêutica anti-retroviral, terapêutica de resgate, falência terapêutica, resistência.

/ Abstract

Strategies for treatment of highly antiretroviral-experienced HIV-1 infected-patients have not been completely evaluated in clinical trials. It is nevertheless possible to identify some general principles that can provide guidance in the design of regimens with capacity to drive viral replication to undetectable levels. The key to success is to use as many drugs as possible in combination with an optimized antiretroviral backbone that considers drug exposure history, previous resistance testing and resistance testing at the time of treatment failure. Other strategies include mega-highly active antiretroviral treatment (mega-HAART) and double-boosted protease inhibitors, although actually less indicated. Continued viral replication that maintains stabilized the immune function and prevents clinical progression may be considered for patients that have no other options left. With the development of newer drugs and classes of drugs, with different resistance profiles and activity against resistant virus, a more promising future is anticipated for many of these patients.

***Keywords**: anti-retroviral therapy, salvage therapy, treatment failure, drug resistance.*



/ Introdução

A resistência aos anti-retrovirais é uma das causas mais frequentes de falência virológica nos doentes infectados por VIH. Depois de estabelecida, torna-se irreversível, estendendo-se para além dos fármacos utilizados, devido à resistência cruzada intra-classes. Pode assim comprometer, em maior ou menor grau, os esquemas terapêuticos seguintes.

É possível que esta ocorrência seja, a longo prazo, inevitável, mesmo com a utilização dos potentes esquemas anti-retrovirais actuais, uma vez que nenhuma combinação terapêutica comprovou até hoje ser capaz de inibir por completo a replicação viral.

O aparecimento de resistências é em geral efeito de uma pressão farmacológica selectiva em presença de replicação viral. Tal acontece mais rapidamente quando se utilizam terapêuticas anti-retrovirais parcialmente supressivas ou quando os níveis séricos dos fármacos utilizados são insuficientes por razões farmacocinéticas, características metabólicas individuais, interacções medicamentosas ou adesão irregular, ou ainda porque a penetração de alguns fármacos é inadequada em determinados reservatórios virais.

Felizmente, alguns estudos recentes revelam que o número de doentes sob tratamento anti-retroviral em falência virológica tem diminuído ao longo dos anos[1,2]. Esta redução das taxas de falência virológica está provavelmente relacionada com a existência actual de melhores combinações terapêuticas, mais potentes, menos tóxicas e mais fáceis de adaptar à rotina diária dos doentes e, seguramente, com um maior conhecimento de como prescrever e sequenciar os anti-retrovirais, mesmo perante o doente com experiência anterior carregada.

Os doentes actualmente mais problemáticos são os que por razões históricas iniciaram esquemas terapêuticos pouco supressivos, como monoterapias sequenciais e terapêuticas duplas com inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (INTR), os que receberam esquemas anteriores contendo fármacos com interacções negativas ou limitações farmacocinéticas e os que falharam na adesão aos regimes terapêuticos. Somam-se agora, infelizmente, os doentes recentemente infectados com vírus multi-resistentes.

A abordagem destes doentes consiste na construção de regimes terapêuticos que, de forma geral, não foram completamente validados por estudos clínicos, quanto à sua eficácia, segurança e interacções.

/ Falência virológica e resistências

Confirmação de falência virológica e avaliação das razões para falência

Se, por um lado, subidas isoladas do nível do ARN do VIH1 (*blips*), variando entre 50-500 cópias/ml, não têm em geral consequências clínicas, se não se repetirem com frequência, uma elevação confirmada da virémia deve obrigar a uma avaliação rápida e cuidadosa da situação do doente. Na sua base estão por vezes factores corrigíveis, nomeadamente uma exposição sub-óptima aos fármacos, como anteriormente mencionado, sendo exemplo frequente a adesão incompleta ao esquema terapêutico. Nestes casos, a falência terapêutica não é necessariamente sinónimo de aquisição de novas resistências e o tratamento pode com frequência prosseguir após a correcção destes factores.

A falência virológica confirmada por uma segunda análise, na ausência de factores condicionando uma exposição deficiente aos fármacos, deve implicar de imediato a realização de um teste de resistência sob o esquema em falência.

Avaliação das resistências

Devem ser considerados todos os conhecidos ou prováveis mutantes virais resistentes, através de uma avaliação exaustiva da história terapêutica pregressa e actual, dos testes de resistência anteriores, se os houver, e de um teste de resistência sob o esquema em falência.

Alguns ensaios randomizados demonstraram que a identificação de mutações de resistências, através da execução de um teste genotípico associado à opinião de um perito, melhorava a resposta virológica a um novo esquema terapêutico[3,4]. Mesmo no doente mais experimentado, os testes de resistência, quando conjugados com o historial terapêutico, fornecem ainda informação valiosa. Podem indicar os fármacos potencialmente activos, evitar a utilização dos que são ineficazes, capitalizar a presença de mutações que confiram redução da *fitness* viral ou hipersusceptibilidade e ajudar assim a construir uma base anti-retroviral optimizada que maximize a actividade de novos fármacos.

/ Estratégias terapêuticas após confirmação de falência terapêutica

Novos anti-retrovirais em combinação com uma base anti-retroviral optimizada

Com algumas excepções alcançar virémia indetectável é o primeiro objectivo para a maioria dos doentes. Deve proceder-se a uma alteração rápida do esquema terapêutico logo que confirmada a falência, de forma a impedir a sucessiva acumulação de novas mutações de resistência. São excepção, os doentes para os quais não existam de momento opções terapêuticas válidas, podendo considerar-se nestes casos a manutenção de um esquema em falência.

A chave para o sucesso do futuro regime terapêutico é a utilização do maior número possível de fármacos activos, se possível três, no mínimo dois, associados a uma base anti-retroviral com suficiente capacidade supressiva[5,6].

O tipranavir (TPV), um novo inibidor da protease (IP) já disponível, quando potenciado com ritonavir (RTV), é um fármaco que pode jogar um papel

importante numa terapêutica de resgate. Comparado a outros fármacos mais antigos da mesma classe, revela maior eficácia, mesmo perante uma extensa resistência basal a IP[7]. Os recentes dados sobre outro novo IP, o darunavir (TMC114), que se aguarda para breve, são animadores ao revelarem uma actividade melhorada no doente com múltiplas mutações de resistências no gene da protease viral[8].
A enfuvirtida (ENF) é o primeiro fármaco da nova classe de anti-retrovirais, os inibidores da fusão. Os dados mais actuais já o recomendam na terapêutica de resgate, associado a um novo IP potenciado[5,6].
Para muitos doentes, mantém-se premente o desenvolvimento de novos anti-retrovirais. Vislumbra-se, felizmente, a chegada de novos fármacos, uns de classes já existentes, com menos potencial para resistência cruzada intra-classe, como os inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (INNTR) de segunda geração, etravirina e TMC-278, e ainda fármacos de classes diferentes, como os inibidores do co-receptor CCR5, maraviroc, os inibidores da integrase, MK-0518 e GS-9137, e o inibidor da maturação, PA-457.

Potenciação e dupla potenciação de IP

Embora os IP sejam fármacos potentes e eficazes, muitos impõem a toma diária de um grande número de comprimidos e requerem administrações frequentes para compensar a sua farmacocinética desfavorável (grande variabilidade individual, baixa biodisponibilidade e curta semi-vida). As doses padrão de muitos IP não potenciados resultam em C_{min} próximos da IC_{50}, podendo facilitar a emergência de mutantes virais resistentes. Actualmente, estes factores negativos podem ser ultrapassados através da potenciação farmacocinética, com baixas doses de RTV, sendo excepção o nelfinavir[9]. A potenciação com RTV, ao reduzir o metabolismo de primeira passagem e a depuração sistémica pós-absorção do IP, aumenta a sua concentração plasmática e consequentemente a sua barreira genética. Permite simplificar o tratamento, reduzindo o número de tomas e comprimidos diários.
A dupla potenciação de IP, que consiste na utilização de dois IP simultaneamente potenciados por uma baixa dose de RTV, tem sido utilizada quando são escassas as alternativas a nível de INTR e INNTR ou quando existem resistências conhecidas na classe dos IP[10,11]. A ideia subjacente no último caso é a de que os altos níveis plasmáticos alcançados pelos dois IP consigam superar as resistências existentes e que cada um retenha actividade contra as variantes virais resistentes ao outro. A dupla potenciação de IP é hoje uma estratégia cada vez menos recomendada, dadas as complicadas interacções farmacocinéticas, a toxicidade acrescida e a possibilidade actual de utilizar novos IPs potenciados, associados a novas classes de fármacos.

Manter comprometida a *fitness* viral

As mutações do genoma do VIH1 que conferem resistência aos anti-retrovirais reduzem em geral a capacidade de replicação viral e têm, deste modo, um impacto negativo na *fitness* viral.
Muitos doentes em tratamento, com opções terapêuticas limitadas, mantêm, apesar da emergência de vírus resistentes e de cargas virais detectáveis, alguma supressão viral e contagens de células $TCD4^+$ estáveis ao longo do tempo. Em caso de não ser possível construir um esquema anti-retroviral mais potente e supressivo, o objectivo passa a ser dificultar a replicação viral e manter uma contagem de células $TCD4^+$ em valores que não impliquem um risco imediato de progressão da doença, até que surjam novos fármacos mais activos. É preciso não esquecer que a pressão selectiva continuada pode contudo ser suficiente para que se continuem a acumular mutações de resistência, que poderão comprometer cada vez mais um regime terapêutico futuro.
As mutações que classicamente mais condicionam a redução da *fitness* viral são as mutações M184V, L74V, K65R, D30N e I50L. Opta-se muitas vezes na prática clínica pela manutenção nos esquemas terapêuticos de alguns fármacos indutores destas resistências.
Pode ser ainda interessante tirar partido de interacções entre diferentes mutações induzidas por determinados fármacos. Verificou-se, por exemplo, que a mutação M184I/V, induzida essencialmente pela lamivudina e emtricitabina, aumentava a susceptibilidade aos análogos nucleosídeos da timidina e ao tenofovir e atrasava a emergência de TAMs. Existe ainda uma interacção importante entre as TAMs e a mutação K65R: o aparecimento desta última é incomum em doentes com prevalência alta de TAMs e os vírus com a mutação K65R mantêm-se susceptíveis à zidovudina. Estudos recentes sugerem que as variantes de VIH1 com múltiplas mutações conferindo resistência aos INTR parecem ser mais susceptíveis ao efavirenze e a outros INNTR do que o HIV1 selvagem[12]. O mesmo foi descrito relativamente a mutações que conferem resistência a IP[13]. Assim, a mutação N88S, que pode emergir durante o tratamento com nelfinavir e, em menor grau, com o indinavir, confere hipersusceptibilidade ao amprenavir. Também, a mutação I50L, que confere resistência ao atazanavir, pode induzir hipersusceptibilidade ao amprenavir e a outros IP. É prática comum o aproveitamento destes conhecimentos, ao incluir, por exemplo, a lamivudina num esquema de resgate que contenha tenofovir. Alguns estudos clínicos demonstraram já uma correlação entre a hipersusceptibilidade e uma resposta virológica melhorada, apesar de se desconhecer ainda toda a relevância clínica deste fenómeno[12,13].

Mega-terapêuticas anti-retrovirais

As mega-terapêuticas anti-retrovirais (*mega-HAART*) referem-se à estratégia de tratamento com cinco ou mais agentes, muitos deles reciclados de terapêuticas prévias e apesar da presença de resistência a muitos dos componentes individuais. A utilização de vários fármacos simultaneamente pode oferecer um benefício de supressão viral cumulativa. A ideia subjacente é a de que cada fármaco mantenha actividade contra alguns mutantes virais e que a soma destas acções individuais tenha potência suficiente para suprimir a replicação viral no seu todo. Infelizmente em muitos casos a toxicidade a longo prazo destes

esquemas terapêuticos supera o seu benefício.

Interrupção estruturada do tratamento anti-retroviral

A tentativa de reverter as mutações de resistência, ao retirar as pressões farmacológicas selectivas e promover a repopulação por vírus selvagens mais sensíveis em doentes com múltiplas falências e sem opções terapêuticas válidas, falha frequentemente em restaurar a eficácia anti-viral de um regime de resgate e é clinicamente perigosa. Verificou-se em muitos estudos que o vírus selvagem, com maior capacidade replicativa, conduzia a uma depleção importante da contagem de células $TCD4^+$ [14,15]. Dado o risco aumentado de progressão da doença, incluindo o aparecimento de infecções oportunistas, a interrupção estruturada do tratamento anti-retroviral não está recomendado na prática clínica.
A suspensão da terapêutica só pode ser considerada se o valor de $TCD4^+$ que levou à sua introdução estiver acima dos valores actualmente recomendados para início de tratamento.

Estratégias terapêuticas após falência de um primeiro regime com dois INTR e um IP

O teste de resistência é essencial para identificar quais os INTR e o IP, caso se opte pela manutenção desta classe, a incluir no próximo regime. Com a utilização actual de IP potenciados, os testes de resistência revelam em geral mutações de resistência apenas aos INTR de menor barreira genética, permitindo a manutenção de um IP no novo regime.
Outra opção é alterar ambos os INTR e substituir o IP por um INNTR, caso não exista resistência cruzada extensa entre os INTR. A baixa barreira genética natural dos INNTR não aconselha a sua utilização isolada com INTR em caso de alta resistência cruzada entre INTR, dado o alto risco de uma nova falência virológica.
Nesta situação, a melhor opção é a utilização de um novo IP potenciado, associado a um INNTR e a um ou dois INTR.

Estratégias terapêuticas após falência de um primeiro regime com dois INTR e um INNTR

Mais uma vez o teste de resistência aos anti-retrovirais serve de guia na escolha dos INTR que, neste caso, podem associar-se a um IP potenciado.

Estratégias terapêuticas após falência de um primeiro esquema com três INTR

Por terem uma actividade virológica sub-óptima, os regimes com três INTR não estão indicados como terapêutica de primeira linha. Poderão ser considerados ocasionalmente em circunstâncias muito particulares, estando de todo desaconselhados os esquemas que não contenham um análogo da timidina.
Em caso de falência de um destes esquemas, o número e o padrão de mutações no gene da transcriptase reversa indicarão o grau de resistência cruzada entre INTR, apontando a existência ou não de pelo menos dois INTR ainda activos.
Caso se verifique resistência cruzada limitada entre INTR, pode optar-se por um esquema que inclua dois novos INTR mais um IP potenciado ou um INNTR. Em caso de resistência cruzada importante entre INTR, a melhor opção é iniciar um esquema que contenha um IP potenciado mais um INNTR e um ou dois INTR.

Estratégias terapêuticas após falência de dois ou mais regimes

Apesar de não existirem estudos comparativos e aleatorizados que orientem a escolha de um tratamento após falência de dois ou mais regimes, é possível, mesmo assim, delinear linhas básicas orientadoras para o prescritor.
Alcançar virémia indetectável mantém-se como objectivo principal, mesmo para os doentes experientes nas três classes de fármacos anti-retrovirais. Para isso, é necessário associar a uma base de anti-retrovirais, escolhida através de um teste de resistência, pelo menos dois fármacos plenamente activos, sendo um deles quando possível pertencente a uma nova classe. Esta opção não deve ser tomada se a probabilidade de sucesso, através da combinação de uma nova classe com outros fármacos, for remota, sendo preferível nestes casos atrasar a mudança do tratamento até à disponibilização de novas opções farmacológicas. Para alguns doentes, com menos resistências cruzadas inter-classes, pode ainda ser possível a construção de um regime supressivo com os anti-retrovirais orais existentes.
Dados actuais suportam a combinação de um IP potenciado com um agente de uma nova classe, nomeadamente um inibidor da fusão. Os estudos TORO, RESIST e POWER verificaram que uma percentagem importante de doentes, experientes nas três classes de anti-retrovirais, mas *naïves* para enfuvirtida, tratados com um IP potenciado ainda activo, o inibidor da fusão e uma base optimizada de outros velhos anti-retrovirais, alcançaram virémias indetectáveis[16,17,18].
Com a actual disponibilização do ENF e do TPV e, num futuro próximo, do darunavir (TMC114), estes doentes experientes nas três classes, mas *naïves* para ENF, já têm boas perspectivas para manter níveis indetectáveis da carga viral.
No futuro, o desenvolvimento de outras classes terapêuticas, tais como os inibidores do co-receptor CCR5, os inibidores da maturação viral (PA-457) e os inibidores da integrase, irá disponibilizar novas combinações de fármacos plenamente activos para doentes com múltiplas falências e resistências anteriores.
As mega-terapêuticas anti-retrovirais, com vista à indetectibilidade da virémia, ou a manutenção de regimes parcialmente supressivos, utilizando preferencialmente fármacos que reduzam a *fitness* viral, podem ser utilizadas nos doentes, para os quais não é por enquanto possível identificar pelo menos dois fármacos activos. O objectivo principal no último caso é reduzir o mais possível a carga viral e manter a contagem de células $TCD4^+$ em valores aceitáveis.

/ Comentários e conclusão

Este ano comemora-se o 10º aniversário da terapêutica anti-retroviral de alta eficácia (*HAART*).
Transformou radicalmente, quase do dia para a noite, a vida dos doentes infectados por VIH e dos profissionais de saúde que

lhes prestavam cuidados. As monoterapias com zidovudina e as terapêuticas duplas com INTR não impediam por muito tempo a progressão da doença.
Em 1996 apareceram os primeiros IP, saquinavir, indinavir e ritonavir e no ano seguinte o primeiro INNTR, nevirapina, tendo ficado claro a necessidade de se utilizar uma combinação de um destes novos fármacos com dois dos INTR existentes na altura. A mortalidade dos doentes caiu em flecha e muitos, anteriormente incapacitados, conseguiram retomar uma vida activa. Pagavam contudo um alto preço pela sobrevivência. Eram obrigados a tomar dezenas de comprimidos por dia com restrições alimentares e muitos efeitos adversos. Tornaram-se evidentes novos problemas: a dificuldade em aderir a tratamentos tão complexos e mal tolerados, o consequente aparecimento de resistências e o reconhecimento da limitação imposta pela resistência cruzada entre fármacos da mesma classe.
São já 18 os anti-retrovirais disponíveis e habitualmente utilizados, e 4 as classes farmacológicas a que pertencem. Os regimes anti-retrovirais actuais são felizmente bem diferentes dos usados há dez anos. O aparecimento de novos fármacos mais potentes e menos tóxicos, as co-formulações e o aproveitamento dos conhecimentos entretanto adquiridos sobre interacções farmacocinéticas permitiram diversificar, potenciar e simplificar os tratamentos actuais, com melhoria consequente da adesão e da qualidade de vida. Vai ser possível em breve para alguns doentes tomar um único comprimido por dia. Tal facto seria inimaginável há poucos anos. Muitos doentes com experiência em múltiplos fármacos, alguns tendo passado pela experiência das monoterapias e duplas terapêuticas, podem agora ver novamente cair a carga viral até valores indetectáveis e mantê-la controlada. A utilização de novos fármacos, com menor ou nenhuma resistência cruzada, como são o tipranavir ou o darunavir (utilização ainda em ensaio) e a enfuvirtida, associados a uma base anti-retroviral optimizada, através de testes de resistência, podem fazer a diferença nestes doentes.

É possível que nos próximos 5 a 10 anos, com a previsível introdução no arsenal terapêutico de fármacos de diferentes classes, os actuais paradigmas do tratamento anti-retroviral sofram profundas alterações e as expressões "terapêuticas de resgate" e "mega-terapêuticas" caiam em desuso.

/ Bibliografia

1. Lampe F, Gatell J, Staszewski S, et al. Trends over time in initial virological failure on first HAART, 1996 to 2002: a joint cohort analysis of 4143 subjects [abstract]. In: Programs and abstracts of the 12th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; 2005.

2. Rinehart A, Lecocq P, Pattery T, et al. Evolution in the diversity of HIV1 resistance mutation patterns in >128000 clinical samples received for resistance analysis from 1998 to 2004 [abstract]. In: Programs and abstracts of the 12th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; 2005.

3. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial. Lancet 1999; 353: 2195-2199.

4. Tural T, Ruiz L, Holtzer C et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS* 2002; 16: 209-218.

5. Youle M, Schlomo S, Clotet B et al. Concomitant use of an active boosted protease inhibitor with enfuvirtide in treatment-experienced, HIV-infected patients: recent data and consensus recommendations. *HIV Clin Trials* 2006. 7(2); 86-96.

6. America Medical Association. Treatment for adults with HIV infection. 2006 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. (Reprinted) JAMA 2006. 296(7); 827-842.

7. Schapiro J, Cahn P, Trottier B, et al. Effect of baseline genotype on response to tipranavir/ritonavir compared with standard-of-care comparator in treatment-experienced patients: the phase 3 RESIST-1 and -2 trials [abstract]. In: Programs and abstracts of the 12th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; 2005.

8. Katlama C, Berger D, Bellos N, et al. Efficacity of TMC114/r in 3-class experienced patients with limited treatment options: 24-week planned interim analysis of 2 96-week multinational dose-finding trials [abstract]. In: Programs and abstracts of the 12th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; 2005.

9. Moyle GJ, Back D. Principles and practice of HIV-protease inhibitor pharmacoenhancement. *HIV Med* 2001; 2: 105-113.

10. Hammer SM, Vaida F, Bennett KK, et al. Dual vs single protease inhibitor therapy following antiretroviral treatment failure; ACTG Study Team. JAMA 2002; 288: 169-180.

11. Harris M, McNabb K, Harrigan R, et al. Dual boosted protease inhibitor regimens: preliminary results in rescue therapy [abstract]. In: Program and abstracts of 1st IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment; 2001.

12. Whitcomb JM, Huang W, Limoli K, et al. Hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1: clinical phenotypic and genotypic correlates. *AIDS* 2002. 16(15): 41-47.

13. Schooley R, Haubrich R, Thompson M. et al. Effects of amprenavir hypersusceptibility on the response to APV/ritonavir-based therapy in ART-experienced adults selected by baseline susceptibility: (ESS40006) 24 weeks data [abstract]. In: Programs and abstracts of the 10th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; 2003.

14. Ghosn J, Wirden M, Ktorza N, et al. No benefit of a structured treatment interruption based on genotypic resistance in heavily pre-treated HIV-infected patients. *AIDS* 2005; 19: 1643-1647.

15. Benson C, Downey G, Havlir DV, et al. A 15-week treatment interruption does not improve the virologic response to multi-drug salvage therapy in treatment-experienced patients; 48-week results from ACTG A5086 [abstract]. In: Programs and abstracts of 11th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; 2004.

16. Miralles GD, DeMasi R. Virologic suppression of an active boosted PI regimen is significantly enhanced by the addition of a fusion inhibitor in treatment-experienced patients [abstract]. In: Programs and abstracts of the 42nd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America; 2004.

17. Hicks C. RESIST-1: a phase 3, randomized, controlled, open-label, multicenter trial comparing tipranavir/ritonavir to an optimized comparator protease inhibitor/r regimen in antiretroviral experienced patients: 24 weeks data [abstract]. In: Program and abstracts of the 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 2004.

18. Hill A, Moyle G. Relative antiviral efficacy of TMC 114/r and tipranavir/r versus control PI in the POWER and RESIST trials [abstract]. In: Program and abstracts of the 12th Annual Conference of the British HIV Association; 2006.

ARTIGO DE REVISÃO / *REVIEW ARTICLE*

Tratamento da hepatite B crónica no adulto

/ AM Horta e Vale
Doutorada em Medicina/Gastrenterologia pela Universidade do Porto e Consultora de Gastrenterologia / Hepatologia no HSJ.
Directora do Serviço de Gastrenterologia (do Departamento de Medicina) da FMUP.

Serviço de Gastrenterologia HSJ e FMUP

Correspondência:
AM Horta e Vale
Rua Oliveira Monteiro 395
4050-443 Porto
Tel.: 919505855
E-mail: anahortaevale @ iol.pt

/ Resumo

Os pacientes com Hepatite crónica pelo vírus B têm um elevado risco de progressão para cirrose e hepatopatia terminal bem como para hepatocarcinoma (HCC). O objectivo da terapêutica é prevenir estas complicações. Há cinco medicamentos aprovados para o tratamento da hepatite crónica B. Novos agentes continuam a ser investigados e podemos antecipar que estão no caminho de futura aprovação. É crucial que o clínico categorize cada paciente no estádio apropriado da sua doença, com o fim de estabelecer a necessidade ou não de tratar. Os desafios actuais na hepatite B incluem identificar quem deve ser tratado e que fármaco ou combinações devem ser usadas para o tratamento e determinar os alvos correctos do tratamento. Comparam-se eficácia /tolerância e resistência das diferentes opções terapêuticas.

Palavras-chave: Hepatite B, PegInterferão, análogos dos Nucleosídeos/Nucleotídeos.

/ Abstract

Patients with chronic hepatitis B are at increased risk for progression to cirrhosis and end-stage liver disease as well as for the development of hepatocellular carcinoma (HCC). The goal of treatment should be to prevent these complications. There are now five drugs approved for the treatment of chronic hepatitis B .Newer agents continue to be investigated, and we can expect that these will continue to move towards approval. Current challenges in hepatitis B include identifying who should be treated and what drug or combinations should be used for treatment, and determining the correct endpoints of treatment. It is critical that the clinician categorizes each patient into the appropriate disease stage in order to determine the need for therapy. Current challenges in hepatitis B include identifying who should be treated and what drug or combinations should be used for treatment, and determining the correct endpoints of treatment, alternative therapy or a combination therapy regime. We compare the different drugs and its efficacy /tolerance and resistance.

***Key words**: Hepatitis B, PegInterferon, Nucleoside/Nucleotide analogues*

/ Introdução

A hepatite crónica pelo Vírus B (VHB) é uma doença hepática potencialmente progressiva, que contribui para uma enorme fatia da taxa de morbilidade mundial, incluindo mais de metade dos casos de cirrose, de doença hepática terminal e de hepatocarcinoma[1]. A eliminação da infecção e a prevenção das suas complicações são dois objectivos importantes a atingir com o seu tratamento.
Recentemente tornou-se uma doença tratável, sendo actualmente cinco os agentes aprovados e disponíveis para tal, na prática clínica. Novos medicamentos continuam a ser investigados para futura aplicação, alguns até já indicados para a infecção VIH mas ainda não no VHB.
Os desafios do tratamento, na Hepatite B, incluem a identificação de quem necessita ser tratado, com que medicamentos ou combinação deles e com que alvo final.
Não há tratamento para a **Hepatite B aguda** porque a maioria dos adultos imunocompetentes (cerca de 95%), recuperam espontaneamente e desenvolvem imunidade protectora, revelada pela seroconversão.
No entanto, na **Hepatite crónica B** (HC-VHB) é altamente improvável observar este fenómeno, pelo que após confirmação de que é crónica (o que impõe um período de observação e seguimento de pelo menos seis meses), se deve considerar o seu tratamento. Sabemos que o seu curso inclui geralmente quatro fases: fase de **imunotolerância**; fase **imunoactiva**, de "clearance" imunológica do vírus em que se dá a seroconversão do HBeAg para o anti--HBe e que é de uma importância capital na história natural da HC-VHB (com uma frequência anual de cerca de 8-15%); segue-se a fase **inactiva** – portadores inactivos (de replicação baixa); alguns doentes, apesar da seroconversão, mantêm uma replicação alta e outros pelo contrário, evoluem para esta situação por **reactivação** (ambos com hepatite crónica HBeAg-negativa).
A HC-VHB é portanto uma doença dinâmica e os doentes podem transitar entre estádios sucessivos de actividade/inactividade sem grande tradução clínica, pelo que se impõe a sua monitorização a longo termo.
É geralmente classificada em duas categorias, segundo o estádio do antigénio "e": **HBeAg positivo (+)** e **HBeAg negativo (–)**, esta presente naqueles com infecção mais prolongada e com "precore/core" variantes do vírus B (VHB).
Pode ser difícil diferenciar a fase imunotolerante da imunoactiva em doentes HBeAg+, por ex. quando tenham transaminases normais (a idade e a virémia podem ser a chave para as discriminar). No caso de doentes HBeAg (-), o que distingue os portadores inactivos são as virémias menores (<10^4cp/ml) que as daqueles com HC-VHB (que sempre têm virémias mais elevadas)[2,3].
A eliminação completa do VHB não é um objectivo realista, devido à persistência do DNA covalente circular cerrado (cccDNA) do vírus, no núcleo e também pelo facto de este vírus ter a capacidade de se integrar no genoma do hospedeiro (por ser vírus DNA).
Assim, a finalidade chave do tratamento na Hepatite B crónica, visa sobretudo parar ou reverter a lesão hepática e melhorar a sobrevida do doente. Tal intuito é alcançado, induzindo um estádio de inactividade do vírus, com controle imune anti-VHB. No entanto, estes objectivos a longo termo, não são fáceis de "medir" a curto prazo, pelo que foram adoptados uma série de "objectivos clínicos" com marcadores substitutivos da eficácia a longo tempo. Assim, a resposta ao tratamento em doentes com Hepatite B crónica é assinalada monitorizando a clínica (sintomas) e a resposta bioquímica, virológica, imunológica e histológica (ver Quadro 1).

• Na **Hepatite crónica HBeAg (+)**, o primeiro marcador de eficácia para assinalar resposta sustentada é a seroconversão HBeAg (perda do HBeAg e aparecimento do anti-HBe) que é um objectivo mais estrito e rigoroso que a simples perda do HBeAg, pois é um forte indicador de remissão sustentada[4].
A seroconversão HBsAg representa um estado similar ao alcançado pelos doentes que efectivamente conseguem controlar a infecção aguda pelo VHB e é um marcador imunológico de resolução da infecção em qualquer dos tipos de Hepatite crónica B[5].
Outros marcadores de eficácia terapêutica, a curto prazo incluem a normalização de transaminases, supressão do HVB-DNA e melhoria da histologia hepática.

• Na **Hepatite crónica HBeAg (–)**, uma descida do DNA-VHB para <10^4 cp/ml considera-se como um objectivo adequado de resposta virológica e usa-se frequentemente em conjunção com a normalização de transaminases.
Dada a característica natureza flutuante deste subtipo de Hepatite VHB torna-se necessária aqui uma monitorização frequente.
O seguimento destes doentes com HC-VHB é requerido tanto para avaliar a progressão da hepatopatia como para a indicação de iniciar terapêutica, e neste caso, para avaliar então a segurança e eficácia da mesma[4-7].

/ Terapêuticas na hepatite crónica B

Os tratamentos disponíveis e autorizados para aplicação na clínica incluem fundamentalmente dois grupos, baseados em dois modos de acção distintos:

1. Interferão (IFN): convencional (alfa 2a e alfa 2b) e Peguilado (Peg alfa 2a) com dupla propriedade antivírica e imunomoduladora;

2. Análogos dos Nucleosídeos/Nucleotídeos (NA's): com actividade puramente antivírica. Aprovados e disponíveis na clínica: Lamivudina (LAM), Adefovir dipivoxil (ADF), Entecavir (ETV). (Outros ainda em vias de aprovação para futura aplicação clínica, incluem Emtricitabina, Clevudina, Tenofovir e Telbivudina (LdT), entre outros[8].

Estes tratamentos actualmente usados, demonstram que podem modificar substancialmente a história natural da infecção VHB, melhorando significativamente tanto a histologia hepática como o curso clínico e a menor incidência de Hepatocarcinoma e aumentando a probabilidade de sobrevida dos pacientes com HC-VHB.

QUADRO 1	
Tipo de Resposta	**Evidência de Resposta**
IMUNOLÓGICA	**Na infecção crónica HBeAg+:** -HBeAg: perda ou seroconversão (aparecimento do anti-HBe). -HBsAg: perda ou seroconversão (aparecimento do anti-HBs). **Na infecção crónica HBeAg-:** -HBsAg: perda ou seroconversão (aparecimento do anti-HBs).
VIROLÓGICA	Supressão do DNA do VHB (para níveis $<10^5$ cp/ml)
BIOQUÍMICA	Normalização dos marcadores bioquímicos (transaminases)
HISTOLÓGICA	Decréscimo na necro-inflamação e ou da fibrose na biopsia hepática

Resposta completa = resposta virológica e bioquímica e seroconversão do HBsAg.

QUADRO 2 – ESTRATÉGIA DE MANEJO DA HC-VHB (9)

HBeAg	DNA-VHB*	ALT	Estratégia de tratamento
+/-	+	Normal	Pouca eficácia do Tratamento: de considerar só se ALT elevarem
+	+	Elevada	Tratar IFN. Doentes NR ao IFN ou contra-indicado: NA's.
-	+	Elevada	Tratar IFN ou NA's: tempo de tratamento mais prolongado
-	-	Normal	Sem necessidade de tratamento
+/-	+	Cirrose	Compensada: IFN ou NA's. Descompensada: NA's e pensar no Transplante
+/-	-		Compensada: vigilância. Descompensada: Transplante

* $>10^5$ cp/ml
NR: não respondedores; **ALT**: transaminases; **IFN**: Interferão; **NA's**: análogos dos nucleosídeos/nucleotídeos.

Há no entanto prós e contras nas duas abordagens terapêuticas:

• **IFN's alfa**: oferecem a vantagem de conseguir uma resposta sustentada com curso terapêutico de duração finita, tendo no entanto o inconveniente de apresentar menor tolerância (mais efeitos adversos).

• **NA's**: apresentam uma tolerância muito boa e são eficazes com potente supressão de replicação vírica VHB. No entanto geralmente requerem tratamentos de longa duração (eventualmente por toda a vida) e o seu uso continuado apresenta o inconveniente da emergência de mutantes do vírus com resistência ao antivírico.
Nos doentes com HC VHB **HBeAg (+)**, a seroconversão com NA's pode-se conseguir e mantém-se em 60-70% dos casos, se a medicação se prolongar por seis meses após a seroconversão.
No entanto, particularmente nos doentes com HC VHB **HBeAg (-)**, devido à alta incidência de reactivação ao descontinuar esta terapêutica, geralmente é necessário manter o tratamento indefinidamente. O seu uso será particularmente adequado para conseguir uma remissão mantida (sob tratamento) em doentes HBeAg (-) e em doentes descompensados que não toleram o Interferão.

Há vários factores que se devem ter em consideração antes de iniciar o tratamento antivírico, sendo que há alguns preditivos de resposta, como sejam:

• Infecção adquirida no adulto (idade), sexo feminino, actividade da doença hepática (na biopsia hepática) e valores altos das transaminases (indicando forte resposta imune do hospedeiro), virémias baixas (sugerindo menor replicação hepática do VHB), ausência de comorbilidades (incluindo VIH, VHD e VHC).

• Também se devem sopesar, em relação à terapêutica, potenciais efeitos adversos e complicações, contra-indicações e as respostas a prévios tratamentos.

A escolha da terapêutica basear-se-á fundamentalmente no estádio da doença, factores preditivos de resposta pré-tratamento e também na preferência do doente.
Os doentes devem ser avisados dos efeitos secundários do IFN e informados da necessidade de terapias prolongadas e riscos de resistências, com os NA's.
Em geral, uma remissão sustentada (que se mantém após o tratamento) é o que se visa atingir num doente imunocompetente e sem cirrose nem co-morbilidades.
Pelo contrário, uma remissão mantida (sob tratamento continuado) é um alvo adequado em doentes com cirrose avançada e/ou doença descompensada (se imunocompetentes e sem doenças graves concomitantes).
– Não requerem tratamento os doentes na fase de imunotolerância [HBeAg (+), níveis altos de DNA-VHB e transaminases normais] e os que tiverem infecção inactiva HBsAg (+)[9]. No entanto é mandatória a sua monitorização periódica para vigilância, pois devem tratar-se se e quando desenvolverem doença activa.
– São critérios de tratamento na HC-VHB*: HBsAg (+) pelo menos seis meses; DNA-VHB> 10^5cp/ml (nos HBeAg+) ou $>10^4$ cp/ml (nos HBeAg -) ou $>10^3$ cp/ml (nos doentes sem

* Estão em curso investigações para redefinir uma margem mais alargada de doentes com infecção VHB candidatos a tratamento. Tais redefinições incluem uma alteração dos ensaios mais recentes de determinação do DNA-VHB, detectando níveis de virémias muito inferiores. No Quadro 2 está um guia para estratégia de tratamento e manejo da HC-VHB[9].

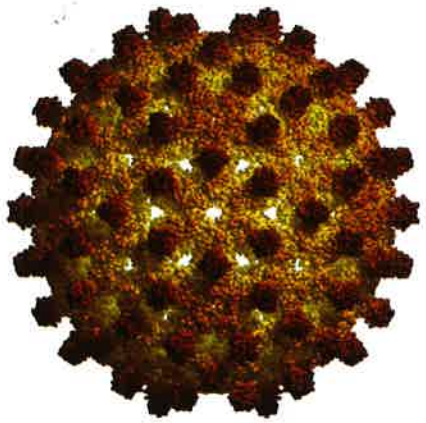
cirrose descompensada[4]; elevação das transaminases persistente ou intermitentemente e /ou evidência de doença hepática activa na biopsia hepática.

REGIME TERAPÊUTICO

• O **Interferão** alfa, sobretudo pela sua capacidade de conseguir resposta sustentada, pode ser considerado como o tratamento de eleição de primeira linha em doentes com Hepatite crónica HBeAg positiva ou negativa com doença activa, moderada ou severa, sem cirrose.
Com IFN convencional o regime recomendado é de quatro a seis meses na HC-HBeAg (+) e de maior duração (pelo menos doze meses) na HC-HBeAg (-), sendo a recidiva alta neste último caso.
O recentemente aprovado Peg IFN alfa 2a, que tem melhor perfil farmacológico, mostrou eficácia superior na HC-HBeAg (+) e com um esquema posológico mais convincente (dose semanal única)[10].
A resposta sustentada (após cessar tratamento) dá-se em cerca de 1/3 dos casos[11] mas o seu uso vê-se limitado pela sua má tolerância devida aos efeitos adversos múltiplos (síndrome gripal, astenia, mialgias, febre, cefaleia, náuseas/ diarreias, alterações cutâneas, irritabilidade/ depressão, perda de peso, etc.).

• Os **NA's** (Lamivudina, Adefovir, Entecavir) podem ser ponderados como alternativa terapêutica na infecção crónica pelo VHB HBeAg (+) ou (-) especialmente se o IFN for contra-indicado, ineficaz ou mal tolerado (doentes com cirrose avançada ou hepatopatia avançada não devem fazer IFN).

A sua dose é diária (100 mg LAM ou 10 mg ADF ou 0.5 mg ETV) em administração oral, durante pelo menos um a dois anos, com excelente tolerância, geralmente semelhante à do placebo, nos ensaios com NA's nas doses terapêuticas indicadas. O ADF em doses de 30 mg/dia associou-se a uma frequência aumentada de efeitos secundários e anomalias laboratoriais renais, pelo que não foi autorizado nesta dose[12].
NA HC HBeAg (+) a seroconversão após um ano ocorreu em 12 – 20 % dos casos[13], podendo aumentar com maior tempo de



tratamento. A baixa percentagem de seroconversão durante o tratamento, sugere que não basta a supressão do DNA – VHB, na maioria dos casos, para conseguir controle imunológico da infecção, sendo portanto necessário um tratamento prolongado.
Não há correntemente recomendações claras da duração óptima do tratamento com NA's e quando é que pode ou deve parar-se naqueles doentes que fazem seroconversão do HBeAg.
A interrupção deste tratamento pode associar-se com seroreversão (reaparecimento do HBeAg circulante) e reactivação, que pode ser fatal especialmente em doentes cirróticos.

RESISTÊNCIA MEDICAMENTOSA

O fenómeno de resistência ao tratamento é uma consequência conhecida na infecção VHB por causa da altíssima replicação vírica, por falta da releitura durante a transcrição reversa do RNA pré-genómico, e pela falha de capacidade destes tratamentos em eliminar o cccDNA-VHB (DNA covalente, circular e cerrado)[14].
Mais ainda, devido à alta percentagem de recidiva ao interromper a terapêutica com NA's, sobretudo na Hepatite HBeAg negativa, torna-se necessário prolongá-la, o que aumenta progressivamente o risco de emergirem estirpes com resistências que podem associar-se a sequelas clínicas graves[13].
As mutantes resistentes à Lamivudina, são plenamente sensíveis ao Adefovir e parcialmente sensíveis ao Entecavir em dose superior (1 mg/d), ambos podendo assim recuperar a eficácia da terapêutica.

EFICÁCIA/TOLERÂNCIA DOS TRATAMENTOS DISPONÍVEIS

• A. INTERFERÃO PEGUILADO

Na Hepatite crónica HBeAg (+)

O PegInterferão alfa 2a mostrou ser significativamente superior ao IFN convencional em todos os parâmetros de eficácia: tanto em relação à seroconversão do HBeAg, de 37% *vs* 25% como na resposta combinada (perda do HBeAg, supressão do DNA-VHB e normalização de transaminases) que é o dobro (24% *vs* 12%)[10, 15]. A sua tolerância é semelhante à do IFN convencional, tanto em relação à frequência como à severidade dos efeitos adversos[15].
O PegInterferão alfa 2a parece ter vantagem, em relação à Lamivudina. De facto sozinho ou em combinação com LAM alcança significativamente mais respostas sustentadas comparado com LAM em monoterapia[14,15], em relação aos dois objectivos primários terapêuticos (seroconversão HBeAg e supressão do DNA-VHB $<10^5$ copias/ml)[16].
Apesar de haver uma supressão mais potente do DNA-VHB durante o tratamento com LAM (com ou sem Peg alfa 2a), a seroconversão do HBeAg é mais frequente nos doentes que fizeram Peg alfa 2a[17].
Isto sugere que de facto, o componente imunomoduladora do Interferão ajudará o hospedeiro a atingir uma resposta eficaz ao

vírus, conseguindo controle imunológico. Mais ainda, e de maior importância, a seroconversão do HBsAg que é frequentemente considerada como o marcador mais fidedigno de remissão, só se observou em doentes tratados com Peg alfa 2a (+/- LAM) sendo rara nos que fazem apenas LAM. As taxas de decréscimo ou de estabilização da fibrose são significativamente superiores nos doentes com resposta virológica.
O PegInterferão alfa 2b, mostrou eficácia em vários estudos[18,19] em que parece também superior à LAM isolada. Mostrou ser aplicável e tolerado em doentes com cirrose preexistente e neutropenia (que são dos mais importantes preditivos de necessidade de fazer redução de dose ou descontinuação da terapêutica)[19].

Na Hepatite crónica HBeAg (-)

A resposta sustentada após 48 semanas, com Peg alfa 2a (180 µg/semana) foi superior à Lamivudina em monoterapia e sem benefício com a sua adição[18].

- B. ANÁLOGOS DOS NUCLEOSÍDEOS (NA's)

1. Lamivudina (LAM)

Ao fim de um ano de tratamento, consegue-se uma perda do HBeAg que ronda os 32%, com uma seroconversão do HBeAg da ordem dos 17% acompanhada de melhoria das transaminases e da histologia hepática[16, 20,21].
Com o prolongamento do tratamento, a percentagem dos casos com *clearance* do HBeAg vai aumentando, chegando a atingir os cerca de 35% aos cinco anos[22].
No entanto, ao cessar o tratamento, o ritmo de seroreversão pode ser de cerca de 54%, manifestamente superior à do IFN (32%)[23].
A importância do tratamento da hepatite B foi inequivocamente demonstrada num ensaio clínico realizado na Ásia e que ficou como um marco, no qual um tratamento de manutenção com LAM (100mg/dia) em doentes com cirrose ou fibrose avançada, demonstrou claramente atrasar a progressão clínica, conseguindo melhoria da sobrevida, redução significativa da incidência de descompensação hepática e do risco de hepatocarcinoma[24] em doentes com Hepatite B e doença avançada.
O ensaio em que tal se demonstrou[24], cessou rapidamente por se ter demonstrado inequivocamente o benefício do tratamento *vs* placebo (progressão de 18% *vs* 8% p <0.001) apesar que cerca de 49% dos doentes com LAM apresentarem a mutante YMDD.
A eficácia a longo termo da Lamivudina vê-se comprometida pela forte resistência que o vírus desenvolve contra o medicamento, devido à emergência de mutantes (nomeadamente a YMDD), o que vai aumentando proporcionalmente com o prolongamento do tratamento sendo de 20%, 38%, 49%, 66%,75% respectivamente ao fim de um, dois, três, quatro ou cinco anos de manutenção da Lamivudina[25,26,27].
Definem-se "pacientes refractários à Lamivudina" como aqueles em que o DNA persiste (bDNA) depois de 36 semanas de LAM ou reaparece enquanto ainda sob o tratamento com LAM ou não responde à reintrodução de LAM após reactivação de virémia ao tentar descontinuar o tratamento.
Em todos os doentes que requeiram tratamentos imunossupressores deve-se testar a prévia exposição ao VHB e naqueles que forem portadores do vírus, o uso de LAM como estratégia profilática de reactivação da doença, mostrou ser de grande utilidade com um impacto significativo no decréscimo deste fenómeno[25, 28, 29, 30]. A sua administração deve ser implementada durante e por um tempo após um curso finito de imunossupressão (por exemplo em doentes sujeitos a quimioterapia, corticoterapia, etc.); porém, se for uma imunossupressão mantida (por exemplo: transplantados renais) o risco de resistência à LAM é grande e outros NA's ainda não foram aqui bem avaliados.

2. Adefovir - Dipivoxil (ADF)

2.1. Na Hepatite crónica HBeAg (+)
Ao fim de 48 semanas, o ADF (10 mg/d) consegue cerca de 15% de seroconversão do HBeAg, associado a redução do DNA-HBV e melhoria histológica[12].
Se bem que geralmente não se observem resistências ao fim de um ano de tratamento, o certo é que depois elas se começam a verificar, podendo atingir os 6% ou 18% aos 3 e 4 anos de tratamento, respectivamente[31,32]. De todas formas, a um ritmo manifestamente inferior à LAM[11,14].
Tem ainda outra vantagem que é a de apresentar actividade antivírica nos doentes com mutações de resistência à LAM, associando-se neste caso a melhoria bioquímica e virológica e boa tolerância quer na hepatopatia VHB compensada quer na descompensada[33] e tanto sozinho como associado à LAM[33,34].

2.2. Na Hepatite crónica HBeAg (-)
Também aqui se mostra eficaz o ADF: ao fim de um ano de tratamento, tanto na supressão da replicação vírica como na melhoria bioquímica e histológica (diminuição de necroinflamação e da fibrose) é sempre superior ao placebo[35].
Ao descontinuar o tratamento (depois de um ano) praticamente todos os doentes reactivavam o que indica a necessidade de terapia continuada nestes doentes HBeAg (-), para manter a supressão do DNA-HBV.
O aparecimento de resistência ao ADF, passando de cerca de 0% ao fim do primeiro ano para 18 e 28% aos 4 e 5 anos, respectivamente, à semelhança do anterior[31, 32]. A partir dos 5 anos, parece que se atinge um "plateau" na taxa de respostas (30), o que suporta que há uma percentagem de doentes que, não respondendo ao ADF, não parece que beneficiem de um prolongamento desta terapêutica. Duas possíveis opções, neste caso, serão a de mudar de medicamento ou tentar combinações terapêuticas.
Ao tratar doentes resistentes à lamivudina, demonstrou-se que juntar ADF à LAM parece ser mais eficaz em reduzir mais a emergência de resistência ao ADF, que fazer a terapia sequencial[36].
Em doentes em monoterapia com ADF, sempre que a resposta viral não for precoce (24 semanas), corre-se o risco de que apareça resistência (37). Assim sendo, é de salientar a importância de monitorizar a resposta vírica durante o tratamento: se não houver supressão significativa do DNA do vírus às 24 semanas, deve considerar-se uma mudança de tratamento (para outro

diferente ou para uma combinação) antes que se desenvolvam resistências.
Estes estudos indicam a necessidade de futuras investigações que explorem o papel de possíveis combinações como estratégia de tratamento de primeira linha.

3. Entecavir (ETV)

Este medicamento provoca uma profunda supressão da replicação vírica (DNA-VHB e um decréscimo importante do cccDNA no fígado) com doses de 0.5mg/dia em doentes *naive* e de 1mg/dia em doentes LAM-resistentes, ambas com acção antivírica (em termos de resposta virológica, bioquímica e histológica) mais potente que a da Lamivudina[35, 38,39,40] tanto na hepatite crónica HBeAg (+)[39,41] como na HBeAg (-)[35,38].
Apesar disso, a percentagem de seroconversão ao ano de tratamento com ETV é de 20 % e portanto não muito superior à da LAM (18 %). Contudo, a supressão mais rápida e profunda do DNA-VHB observada com ETV, pode ser um aspecto promissor deste medicamento e que é o da redução da emergência de resistência vírica, que é nula aos 2 anos (embora ainda faltem dados de uso mais prolongado deste medicamento)[42]. Colonno *et al*[43] apresentaram resultados mostrando ausência de emergência de resistência ao ETV até à semana 96 de tratamento, em todos os doentes sem prévios tratamentos com NA's e sem mutantes à LAM à entrada dos três estudos. Pensa-se que esta inexistência de resistências, além de se poder relacionar com a rápida e sustida supressão da replicação viral com o ETV, se deva também às altas concentrações intracelulares deste medicamento e ao facto de serem necessárias múltiplas substituições para conseguir níveis significativos de resistência.
Além disso, mostra eficácia na HB HBeAg (+) quando esta desenvolve resistência à LAM[40,43] ou ao ADF[44], sendo portanto uma importante alternativa no futuro, como tratamento de manutenção. Neste caso, a dose a usar terá de ser ligeiramente superior, de 1 mg/dia.
No entanto, é conhecido que as mutantes lamivudino-resistentes (M204V/I ± L180M) reduzem a susceptibilidade ao entecavir em cerca de oito vezes. Nos doentes previamente resistentes à LAM, observaram-se resistências de 1% ao ano e 10% aos 2 anos no re-tratamento com ETV[43]. Estes dados alertam para o risco do uso sequencial de antivíricos na HC-VHB e, com base neles, poder-se-á inferir que os pacientes com resistência à Lamivudina, provavelmente não devam ser mudados para ETV em monoterapia[43].

/ Conclusão

Como disse um prestigiado autor num recente editorial, a HC-VHB não só é uma doença passível de prevenção mas é também tratável, com um bom número de excelentes opções acessíveis em 2006[44].
Ainda persistem dúvidas na HC-VHB sobre quem deve ser tratado, com que agente (ou combinação de agentes), por quanto tempo e que alvos a atingir para medir o sucesso ou fracasso da terapêutica.
O problema central é o de que as terapias em uso actual, não conseguem erradicar o vírus VHB e não alcançam a cura da infecção, pelo que o objectivo do tratamento é prevenir a progressão da doença para cirrose/insuficiência hepática e/ou hepatocarcinoma, sendo que, para atingir esta meta, o paradigma corrente da terapêutica actual, é conseguir uma supressão profunda e duradoura do DNA-VHB. Em estudos recentes de seguimento prolongado de uma população tailandesa de doentes com HC-VHB mostrou-se que a incidência de cirrose e HCC aumenta com o gradiente de concentração do DNA-VHB desde níveis baixos até altos[45,46]. Estes achados suportam a hipótese de que a redução do DNA-VHB para níveis baixos ou indetectáveis com tratamento antivírico, pode reduzir a probabilidade destas complicações e isso foi demonstrado, de facto, com a LAM em manutenção[24].
O tratamento deve ser reservado para os doentes que o necessitam, doença activa que se manifesta por hipertransaminasémia, evidência clínica e histológica de progressão da hepatopatia, ou ambas. A decisão de iniciar tratamento, não se pode contudo basear apenas nos níveis de DNA-VHB, pois podem ser elevados em pessoas com doença mínima ou leve.
Há hoje em dia excelentes opções terapêuticas. As vantagens dos tratamentos com NA's pela sua facilidade de administração (oral), excelente tolerância, potente eficácia (supressão do DNA-VHB), e exequibilidade num espectro mais alargado de doentes (incluindo hepatopatia descompensada e algumas comorbilidades), perdem-se ou vêm-se minoradas pela alta percentagem de recidivas, requerendo portanto tratamentos longos e talvez por toda a vida (particularmente no caso das mutantes HBeAg negativas) e pela emergência de resistências. Este tipo de medicação é fácil de começar mas difícil de parar[37]. Antivíricos mais potentes conseguirão evitar a emergência de mutantes resistentes ou então combinações terapêuticas de diferentes antivíricos poderão atingir eficácia superior[37].
O Interferão peguilado, recém aprovado para a infecção VHB, com respostas sustentadas em número não desprezível de doentes, apesar de caro e de menor tolerância (pelos múltiplos efeitos adversos), parece ser candidato a primeira opção terapêutica (definitiva e de duração definida) em grande percentagem de doentes com infecção pelo VHB, sobretudo se HBeAg (+) e sem fibrose avançada.

/ Bibliografia

(1) Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, and current and emerging control mesures. J Viral Hepat 2004; 11:97-107.

(2) Nguyen MH, Trinh H, Garcia RT, et al. Significant histology disease in HBV-infected patients with normal to minimally elevated ALT levels at initial evaluation. Hepatology 2005; 42:593A.

(3) Lai M, Afdal N. Role of liver biopsy in patients with normal ALT and high HBV-DNA . Hepatology 2005;42:720A.

(4) Lok AS, McMahon BJ; Practice Guidelines Committee, American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Chronic hepatitis B: update of recommendations. Hepatology 2004; 39: 857- 861.

(5) Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection - natural history and clinical consequences. N Engl J Med 2004; 350:1118- 1129.

(6) Lok ASF, McMahon BJ. Chronic Hepatitis B: up date of recommendations. Hepatology 2004:39:857-61.

(7) de Franchis R, Hadengue A, Lau G et al; EASL Jury. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. Consensus statement (long version). J Hepatol. 2003; 39(Suppl 1):S3-525.

(8) Arosemena LR, Cortes RA, Servin L, Schiff ER. Current and future treatment of chronic hepatitis B. Minerva Gastroenterol Dietol 2005; 51:77-93.

(9) Keeffe EB, Dieterich DT, Han SH et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States. Clin Gastroenterol Hepatol 2004; 2:87-106.

(10) Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD et al. PegInterferão alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. J Viral Hepat 2003; 10: 298-305.

(11) Hui CK, Zhang HY, Lau GK. Management of chronic hepatitis B in treatment-experienced patients. Gastroenterol Clin North Am 2004; 33:601-616.

(12) Marceilin P, Chang TT, Lim SG et al; Adefovir Dipivoxil 437 Study group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. N Engl J Med 2003; 348:808-816.

(13) Dienstag J. The value and limitations of long-term nucleoside antiviral therapy in chronic hepatitis B. J Hepatol 2005; 42:158-162.

(14) Fung SK, Lok AS. Management of hepatitis B patients with antiviral resistance. Antivir Ther 2004; 9:1013-1026.

(15) Cooksley WG. The treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B with pegylated Interferão. J Hepat 2003; 39 (Suppl 1): 143-145.

(16) Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX et al. PegInterferão alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. N Engl J Med 2005; 352:2682-2695.

(17) Fried MW, Lau GKK, Piratvisuth T et al. Greater viral suppression with lamivudine +\- pegInterferão alpha-2a does not translate into improved rates of sustained HBeAg seroconversion: results from a large multinational study. J Hepatol. 2005; 42 (Suppl 2): 176 (A 488).

(18) Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H et al; HBV 99-01 Study Group; Rotterdam Foundation for Liver Research. Pegylated Interferão alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. Lancet 2005; 365:123-129.

(19) Van Zonneveld M, Flink HJ, Verhey E et al; HBV 99-01 Study Group. The safety of pegylated Interferão alpha-2b in the treatment of chronic hepatitis B: predictive factors for dose reduction and treatment discontinuation. Aliment Pharmacol Ther 2005; 21:1163-1171.

(20) Marce11in P, Lau GK, Bonino F et al; PegInterferão Alfa-2a HBeAg Negative Chronic Hepatitis B Study Group. PegInterferão alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. N Engl J Med 2004; 351:1206-1217.

(21) Dienstag, JL, Schiff ER, Wright TL et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. N Engl J Med 1999; 341:1256-1263.

(22) Lok A. Gastroenterology 2004; 126:1932-1933. [Reply to: Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2003; 125:1714-1722.

(23) Van Nunen, Hansen BE, Suh DJ et al. Durability of HBeAg seroconvertion following antiviral therapy for chronic hepatitis B: relation to type of therapy and pre-treatment serum hepatitis B virus DNA and ALT. Gut 2003; 52:420-24.

(24) Liaw YF, Sung JJ, Chow WC et al; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. N Engl J Med 2004; 351:1521-1531.

(25) Martin E, Rendon P, De Diego L et al. Role of lamivudine in the reactivation of hepatitis B virus infection in immunodepressed patients. Rev Esp Enferm Dig 2003; 95:803-8.

(26) Leung NWY, Lai CL, Chang TU et al. Extended treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconvertion rates: results after 3 years of therapy. Hepatology 2001; 33:1527-1532.

(27) Liaw YF, Leung NWY, Chang TT et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2000; 119:172–180.

(28) Samuel D, Kimmoun E. Immunosuppression in hepatitis B virus and hepatitis C virus transplants: special considerations. Clin Liver Dis 2003; 7:667-681.

(29) Shibolet O, Ilan Y, Gillis S et al. Lamivudine therapy for prevention of immunosuppressive-induced hepatitis B virus reactivation in hepatitis B surface antigen carriers. Blood 2002; 100:391-396.

(30) Iannitto E, Minardi V, Calvaruso G et al. Hepatitis B virus reactivation and alemtuzumab therapy. Eur J Haematol 2005; 74:254-258.

(31) Locarnini S, Qi X, Arterburn S et al. Incidence and predictors of emergence of Adefovir resistant HBV during 4 years of adefovir dipivoxil therapy for patients with chronic hepatitis B. J Hepatol 2005;42 (Suppl 2):S17.

(32) Hadziyannis SJ, Heathcote EJ et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B. N Engl J Med 2005; 352:2673-2681.

(33) Perrillo R, Hann HW, Mutimer D et al. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. Gastroenterology 2004; 126:81- 90.

(34) Peters MG, Hann H, Martin P et al. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with Lamivudine-resistant chronic hepatitis B. Gastroenterology 2004; 126:91-101.

(35) Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ et al; Adefovir Dipivoxil 438 Study Group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. N Engl J Med 2003; 348:800-807.

(36) Manolakopoulos S, Bethasnis S, koutsounis S, et al. Adefovir alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine resistance chronic HBeAg-negative hepatitis B. Hepatology 2005;42:592A.

(37) Lampertico P, Marzano A, Battista g, e tal. A multicenter Italian study of rescue adefovir dipivoxil therapy in lamivudine resistant patients: a 2 year analysis of 604 patients Hepatology 2005; 42:591A.

(38) Shouva1 D, Lai CL, Cheiquer L et al. Entecavir demonstrates superior histological and virologic efficacy over lamivudine in nucleoside-naive HBeAg(-) chronic hepatitis B: results of phase III trial ETV-027. Hepatology 2004; 40 (4 suppl 1): 707A.

(39) Gish RG, Chang TT, Gadano A et al. Entecavir results in substantial virulogical and biochemical improvement in HBeAg(+) chronic hepatitis B patients Hepatology 2005;42:267A.

(40) Sherman M, Yurdaydin C, Soriano J et al; the Behold Study Group. Entecavir is superior to continued Lamivudina for the treatment of Lamivudina-refractory, HBeAg (+) chronic hepatitis B: results of phase III study ETV-026. Poster presented at: 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (55th AASLD). Hepatology 2004; 40 (4 suppl 1): 1152 A.

(41) Chang TT, Gish R, de Man R et al; the BEHOLD Study Group. Entecavir is superior to lamivudine for the treatment of HBeAg (+) chronic hepatitis B: results of phase III study ETV-022 in nucleoside naive patients. Hepatology 2004;40 (4 suppl 1): 193A.

(42) Shaw T, Locarnini S. Entecavir for the treatment of chronic hepatitis B. Expert Rev Anti Infect Ther 2004; 2:853-871.

(43) Collono R, Rose R, Levine S, et al. Entecavir two year resistance update: no resistance observed in nucleoside naïve patients and low frequency resistance emergence in lamivudine refractory patients. Hepatology 2005; 42:573A

(44) Hoofnagle JH. Hepatitis B-preventable and now tractable. N Engl J Med 2006; 354:1074-75.

(45) Iloeje UH, Yang HI, Su J, et al. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. Gastroenterology 2006; 130:678-686.

(46) Chen CJ, Yang HI, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. JAMA 2006; 295:65-73.

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

Meningoencefalite: um caso de febre escaronodular complicada

/ **José Roberto Silva**[1]
/ **Adelino Carragoso**[1]
/ **Orlando Gaspar**[1]

[1] Serviço de Medicina 2, Hospital São Teotónio, EPE, Viseu

Correspondência:
José Roberto Silva
Praceta Bela Vista, Lote 8
3515-470 Abraveses-Viseu
Tel. 917232213
Email: robertjo@netvisao.pt

/ **Resumo**

A propósito de um caso clínico, os autores deste artigo fazem uma breve revisão sobre meningoencefalite como complicação de um caso de febre escaronodular.

Palavras-chave: meningoencefalite; febre escaronodular; Riquetsioses.

/ ***Abstract***

In reference to a clinical report, the authors of this article make a review about meningoencephalitis as a Mediterranean spotted fever complication.

***Key-Words**: meningoencephalitis; mediterranean spotted fever; rickettsiosis.*

/ Introdução

A febre escaronodular é uma *rickettsiose* causada pela *Rickettsia conorii* e transmitida pela picada do *Rhipicephalus Sanguineus* (carraça do cão). É endémica na região do mediterrâneo, sendo uma zoonose muito prevalente em Portugal[1].
Os critérios de diagnóstico baseiam-se no quadro clínico (febre, *tache noire*, exantema maculo-papular que não poupa as palmas das mãos e as plantas dos pés e mialgias) num contexto epidemiológico típico e na serologia (Imunofluorescência indirecta, W. Blot, PCR)[2,3].
O seu curso é habitualmente benigno; no entanto a ausência de um diagnóstico e tratamento precoces poderão conduzir a complicações potencialmente fatais. O seu tratamento passa por antibioterapia com Doxiciclina[2,3].

/ Caso Clínico

Identificação:
Mulher, 64 anos, casada, 2 filhos saudáveis, doméstica.

Motivo internamento:
Febre, alteração estado consciência e erupção cutânea.

História da Doença Actual:
Febre (38,5º), mialgias generalizadas e tosse seca com 2 dias de evolução.
A doente foi medicada para o domicílio com Azitromicina 500 mg/dia durante 3 dias por provável Infecção respiratória.
No dia seguinte recorreu ao serviço de urgência por manter o quadro clínico associado a erupção cutânea. Teve alta para o domicílio com diagnóstico clínico de febre escaronodular e foi medicada com Doxiciclina 100mg cada 12 horas.
Regressou no dia seguinte ao serviço de urgência por apresentar alterações do comportamento.

Antecedentes:
Diabetes mellitus tipo 2, dislipidémia e hipertensão arterial. Medicada no domicílio com Acarbose 50mg duas vezes por dia, Glimepirida 2mg duas vezes por dia, Sinvastatina 20mg/dia, Ramipril 5mg/dia.
Sem outros hábitos toxicológicos. Referia contacto frequente com cães.

Exame objectivo relevante:
A doente apresentava-se à entrada com uma escala de Glasgow de 11, com períodos de agitação psicomotora.



Figura 1: Tache noire, exantema maculo-papular difuso.

Encontrava-se febril (38,5ºc) e polipneica. Não apresentava alterações sob o ponto de vista hemodinâmico (pressões arteriais normais).
Relativamente ao exame neurológico sumário apresentava uma afasia global e sugestão de rigidez da nuca.
Apresentava ainda um exantema maculo--papular envolvendo as plantas do pé e as palmas das mãos, com presença de escara de inoculação no ombro direito (Fig 1).
Não apresentava outras alterações relevantes do exame objectivo.

Exames Complementares de Diagnóstico Iniciais:

• Análises: Leucocitose 12.5x10^9/L, Neutrofilia 89%, trombocitopenia 34.000 plaquetas; D-dimeros 14966 ng/ml, PCR 17.7mg/dl, glicose 307 mg/dl, TGO 153U/L, TGP 118U/L; creatinina 1.6 mg/dl, ureia 69 mg/dl; Ionograma normal; coagulação normal. Não foi possível doseamento de glicose 6PD. Hemoculturas e urocultura negativas.
Apresentava insuficiência respiratória tipo1 com baixas saturações de O2 (< 90%)
Electrocardiograma normal. Não realizou ecocardiograma em regime de internamento.

• Imagiologia: Radiografia do tórax normal. Tomografia computorizada craneoencefálica não revelou lesões agudas.
Realizou punção lombar: LCR turvo, com pleocitose polimorfonuclear (incontáveis) e proteinorraquia 169 mg/dl, glicose 137 mg/dl, (PCR e lactatos não efectuados). A coloração pelo Gram não evidenciou bactérias.
Não foi efectuada pesquisa de antigénios capsulares bacterianos no LCR.
A cultura do LCR foi negativa.

Evolução:
A doente é internada com diagnóstico de febre escaronodular e meningoencefalite. Iniciou antibioterapia empírica com Doxiciclina 100 mg cada 12 horas, Ceftriaxone 2gr cada 12 horas e Ampicilina 2 gr cada 6 horas.



Figura 2: TAC do crânio (hipodensidade em território da Artéria cerebral média esquerda)

No dia seguinte apresenta agravamento clínico, com deterioração do estado de consciência (EG 10), instalação de hemiparésia direita, associado a quadro de insuficiência respiratória grave (obstrução da via aérea alta por agravamento neurológico).
Foi admitida na UCIP para suporte ventilatório.
Repetiu tomografia computorizada craneoencefálica que revelou hipodensidade do território da artéria cerebral média esquerda (Fig 2).
Ao 5º dia suspendeu suporte ventilatório (PaO2/FiO2>200).
A cultura do LCR e as hemoculturas foram negativas. Tendo em conta o estudo do liquor é suspenso o Ceftriaxone. Ao 5º dia suspende a Ampicilina, tendo-se mantido apenas a Doxiciclina 100 mg cada 12 horas por via oral.
Foi traqueotomizada para autonomização ventilatória tendo sido transferida para a enfermaria ao 6ºdia de internamento, apresentando melhoria do ponto de vista neurológico e cardiorrespiratório. Iniciou plano de fisioterapia.
Realizou RMN do crânio com intuito de caracterizar melhor as alterações observadas na TAC, tendo este exame excluído lesões vasculares primitivas/recentes.
A doente teve alta clinicamente bem, apresentando uma discreta desorientação temporo-espacial.
Foi reobservada, um mês após a alta, em consulta externa, apresentando exame geral e neurológico normais.

Entretanto, chegaram os resultados da serologia para *R. conorii* por IFI, inicial e da fase de recuperação, tendo-se verificado seroconversão:
Dia 3 IgG<64;IgM<32. Dia 15 IgG>128; IgM>32)
Fez-se o diagnóstico de febre escaronodular complicada de Meningoencefalite

/ Conclusão

As complicações neurológicas da febre escaronodular ocorrem em cerca de 10% dos casos e estão sobretudo relacionadas com antecedentes de Diabetes mellitus, alcoolismo, idade avançada, insuficiência cardíaca, défice G6PD, heroinómanos (meningoencefalite) e com doentes não diagnosticados e tratados atempadamente.
Considera-se que o mecanismo fisiopatológico implicado nas complicações sistémicas resulte de um processo de vasculite difusa, sendo que as complicações neurológicas são resultado de um processo patofisiológico compatível com cerebrite/cerebrovasculite.
O nosso caso teve uma evolução favorável, no entanto a mortalidade referente a este tipo de complicações atinge habitualmente os 50%[2,3,4].
Como vimos, o espectro clínico da febre escaronodular varia desde a situação mais benigna até à potencialmente fatal (complicações sistémicas e neurológicas), por isso torna-se fundamental que, na presença de sintomatologia neurológica com quadro febril associado, numa região endémica ou com elevada prevalência em épocas estivais, se pondere o seu diagnóstico para iniciar o mais precocemente possível o tratamento. O curso da doença pode se encurtado quando é instituído o tratamento apropriado. O antibiótico de eleição é a Doxiciclina 100 mg cada 12 horas. Outros tratamentos efectivos incluem a Ciprofloxacina 200 mg cada 12 horas, endovenosa ou, em alternativa, 750 mg cada 12 horas por via oral.
Alternativas como a Levofloxacina 500 mg/dia e o Clorafenicol 60 mg/Kg/dia, ambos por via oral, têm sido também utilizadas[4,5,6].
É de extrema importância apostar na prevenção desta patologia sobretudo nas regiões endémicas ou de elevada prevalência[6].

/ Bibliografia

1. Bacellar F, Filipe AR. Rickettsiae and rickettsioes in Portugal. Eur J Epidemiol 2001;7:291-3.
2. Wilson W, Sande M, Henry N, Drew W, Relman D, StecKelberg J, editors. Current Diagnosis and Treatment in infectious diseases. New York: McGraw-Hill; 2001.
3. Botelho E, Foucaut, Lepidi H, Brouqui P. Cerebral infarction: An unusual complication of Mediterranen spotted fever. Eur J Int Med 2005; 16:525-7.
4. De Klippel N, De Keyser J, Merckx H, Ebinger G. Meningoencephalitis caused by Rickettsia conorii. Clin Neurol Neurosurg 1991;93:345-7.
5. Ezpeleta David. Complicaciones neurológicas de la FEN. Rev Neurol 1999;6:65-6.
6. Anton E, Font B, Munoz T, Sanfeliu I, Segura F. Clinical and laboratory characteristics of 144 patients with mediterranean spotted fever. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003;22:126-8.

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

Otite externa maligna e infecção VIH

A propósito de 2 casos clínicos ou de uma entidade antiga num contexto novo

/ **S Lourenço**[1]
/ **T Martins**[2]
/ **MC Catarino**[2]
/ **P Rodrigues**[2]
/ **F Maltez**[3]

Serviço de Doenças Infecciosas
(Dir.: Dr. Fernando Maltez)
Hospital de Curry Cabral – Lisboa

[1] Interna do Internato Complementar de Medicina Interna
[2] Assistente Hospitalar de Medicina Interna
[3] Director do Serviço de Doenças Infecciosas

Correspondência:
Dr.ª Sofia Lourenço
Hospital Curry Cabral – Serv. Doenças Infecciosas
Rua da Beneficiência, n.º 8
1069-166 Lisboa
Tel.: 966068160
E-mail: sofilourenco@iol.pt

/ Resumo

A otite externa maligna é uma infecção necrotizante do canal auditivo externo, rara mas potencialmente fatal, cujo agente etiológico é, mais frequentemente, a *Pseudomonas aeruginosa*. Por contiguidade com as estruturas vizinhas pode condicionar osteomielite da base do crânio ou neuropatia craniana, frequentemente do Facial (VII). Classicamente descrita em diabéticos idosos tem vindo a ser referida, desde 1990 em doentes com SIDA. Apresentam-se dois casos clínicos, em doentes não diabéticos, portadores de infecção VIH1 e imunossupressão avançada. Em ambos se constatou uma evolução insidiosa, com extensa destruição do ouvido externo e paralisia facial, e isolamento no exsudado auricular de *Pseudomonas aeruginosa*. Não obstante a terapêutica com ceftazidima ambos faleceram.

Palavras chave: Otite externa maligna, Pseudomonas, SIDA.

/ Abstract

Malignant otitis externa is a necrotizing infection of the external ear canal. Although rare this is a potentially fatal disease caused most often by Pseudomonas aeruginosa. By invading contiguous tissues it may lead to skull base osteomyelitis or cranial neuropathies, the most common being the facial (VII) paralysis. Classically described in the older diabetic patients, since 1990 there has been some reports of this disease in association with AIDS.
We present two non diabetic patients with HIV1 infection and severe imunossupression with malignant otitis externa. Both cases had insidious course with extensive destruction of the external ear and facial paralysis and in both Pseudomonas aeruginosa was identified. In spite of the therapy with ceftazidime both patient died.

/ Keywords: *Malignant otitis externa, Pseudomonas, AIDS.*

/ Introdução

A otite externa maligna é uma situação rara mas potencialmente fatal. Trata-se de uma infecção necrotizante do canal auditivo externo, que se pode estender à mastóide e porção petrosa do temporal, conduzindo à osteomielite da base do crânio[1]. A extensão subtemporal do processo infeccioso pode determinar quadros de neuropatia craniana, mais frequentemente do nervo facial[2]. O agente responsável é, na maior parte dos casos, a *Pseudomonas aeruginosa*, que se identifica em 90% dos exsudados auriculares destes doentes[2].

Esta entidade é classicamente descrita em idosos com diabetes mellitus não-insulino dependente e, ocasionalmente, em crianças imunodeprimidas por outras causas, como neoplasia, malnutrição ou ainda anemia grave[1]. Data de 1990 a primeira descrição num doente com infecção VIH comprovada[3] e desde então têm sido referidos alguns casos esporádicos em doentes com SIDA[4]. Neste artigo descrevem-se dois casos clínicos recentes de otite externa maligna em doentes não diabéticos com infecção pelo VIH e em fase avançada de imunossupressão.

/ Caso clínico nº1

Doente de 41 anos, sexo feminino, caucasiana, com história de consumo de drogas endovenosas e infecção VIH1 conhecida há 12 anos, mantendo seguimento irregular na consulta de Infecciologia e má aderência à terapêutica anti-retrovírica. Destacavam-se, nos antecedentes pessoais, dois internamentos prévios, o primeiro em Maio de 1996 por tuberculose pulmonar e um segundo em Julho de 2003 por pneumocistose, não havendo história de diabetes, quer primária quer secundária à terapêutica anti-retroviral.

Em Abril de 2004 foi internada por quadro de febre, otalgia e otorreia direitas com uma evolução insidiosa de cerca de 3 semanas. Na observação destacava-se, para além da febre, a presença de tumefacção periauricular direita e extensa destruição do respectivo pavilhão auricular, com fistulização retro-auricular e otorreia fétida. Estes aspectos acompanhavam-se ainda de uma paralisia facial periférica homolateral (Figuras 1 e 2).

Analiticamente apresentava anemia normocrómica normocítica (Hb 7,7 g/dl), leucopénia 3400/uL, trombocitose 425.000/uL, VS 111, PCR 32,6 mg/dl; glicémia em jejum de 88 g/dL; função renal, hepática e ionograma sem alterações e, na avaliação imunológica, linfócitos CD4 de 18 células/mm3. A carga viral era de 77552 cópias/ml (4.88 log).

A TAC dos ouvidos revelava, no ouvido direito, a existência de otite média e externa, com componente necrotizante do tecido celular subcutâneo, estendendo-se ao longo do bordo anterior do occipital e contactando o canal do facial. Realizou RMN dos ouvidos que mostrava opacificação da mastóide direita e partes moles adjacentes com compromisso da caixa do tímpano, a que correspondia, após a administração de gaudolínio, extensa zona de atenuação do sinal, particularmente ao nível do antro.

As hemoculturas realizadas, bem como as duas primeiras zaragatoas do exsudado auricular foram negativas. Uma terceira permitiu o isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*.



Figura 1: Aspecto do pavilhão auricular direito e paralisia facial homolateral (doente do caso n.º 1).



Figura 2: Pavilhão auricular direito da doente do caso n.º 1, com otorreia purulenta e necrose dos tecidos circundantes

A doente foi medicada com ceftazidima na dose de 1g ev 12/12h e, ao 13º dia, sem que se tivesse verificado uma melhoria clínica, abandonou o internamento e a terapêutica. Dois meses depois, foi de novo trazida ao Serviço de Urgência. Havia um agravamento franco da lesão do pavilhão auricular, apresentando-se com febre elevada (39,5ºC), caquética e em coma Glasgow 7. Apesar da reinstituição da terapêutica antibiótica e das outras medidas de suporte viria a falecer, cerca de 4 meses após o início das queixas.



Figura 3: Aspecto do pavilhão auricular direito do doente do caso n.º 2, onde se evidencia extensa destruição do mesmo.



Figura 4: Paralisia facial homolateral no doente do caso n.º 2.

/ Caso clínico nº2

Doente de sexo masculino, de 26 anos, caucasiano, toxicodependente, com infecção VIH1 conhecida há 7 anos e, à semelhança da doente anterior, com má aderência à terapêutica anti-retrovírica. Referia igualmente uma otite crónica desde há 5 anos, negando história de diabetes.

Em Setembro de 2004 recorreu à consulta de infecciologia, onde mantinha seguimento irregular, por dor localizada à região auricular direita e otorreia fétida. Este quadro acompanhava-se de febre, anorexia e de emagrecimento acentuado não quantificado. Na observação havia ulceração do pavilhão auricular direito, com exsudação fétida.

Os exames laboratoriais mostravam anemia normocrómica normocítica grave (Hb 5,6 g/dl), leucopénia 2400/uL, VS 124, e glicémia em jejum de 96g/dL CD4 de 6 células/mm3 e carga viral de 207.000 cópias/ml. A TAC dos ouvidos evidenciava mastoidite direita, com deiscência da parede externa da mastóide e extensão às partes moles da região mastoideia e canal auditivo externo.

No exame bacteriológico do exsudado auricular isolou-se uma estirpe de *Pseudomonas aeruginosa* tendo o doente, e de acordo com o antibiograma, iniciado terapêutica com Ceftazidima.

Após seis semanas de terapêutica verificou-se melhoria clínica significativa, tendo alta referenciado à cirurgia plástica, para eventual cirurgia reconstrutiva.

Cerca de um mês depois, foi reinternado por agravamento do estado geral, com prostração acentuada, caquexia, desidratação e febre elevada. A lesão auricular apresentava igualmente um agravamento franco, com aumento da extensão da ulceração, que substituía por completo o pavilhão auricular, mantendo-se o exsudado purulento e com paralisia facial periférica direita "de novo" (Figuras 3 e 4).

Repetiu TAC dos ouvidos que confirmou o agravamento das lesões destrutivas ao nível da mastóide direita, e um maior envolvimento das partes moles adjacentes.

Apesar de medicado novamente com ceftazidima, assistiu-se a degradação progressiva do estado geral, tendo falecido em Novembro de 2004.

/ Discussão

A otite externa maligna é rara, resultante de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em 90% dos casos e, nos restantes 10% causada por outros agentes, nomeadamente *Staphylococcus aureus*,

Proteus mirabilis, Klebsiella oxytoca e fungos, sobretudo *Aspergillus fumigatus*[2].

Surge em doentes com diabetes mellitus, neoplasia, hábitos de toxicodependência endovenosa, fibrose quística, em diálise peritoneal crónica, em corticoterapia ou neutropénicos[1].

A predisposição dos doentes com infecção pelo VIH para esta entidade está relacionada com os defeitos na imunidade humoral e celular[1] e a otite externa maligna assume neste contexto aspectos particulares já que, ao contrário do quadro clínico descrito em diabéticos idosos, os doentes são mais jovens, encontram-se habitualmente em fase de imunodeficiência avançada, há maior variedade de agentes etiológicos implicados e o prognóstico é mais grave[4].

Caracteriza-se por um quadro de otalgia intensa, de agravamento nocturno, e otorreia, normalmente purulenta[1]. A palpação da região temporo-mandibular é dolorosa, e o canal auditivo externo apresenta-se eritematoso, sendo frequente a identificação, no local, de tecido de granulação[2]. A progressão da doença associa-se a osteomielite da base do crânio e da articulação temporo-mandibular e a paralisia dos nervos cranianos que pode ocorrer em qualquer fase da doença, mas é mais frequente após dois meses de evolução[1]. O par craniano mais frequentemente afectado é o facial (VII), estando descritas paralisias do glossofaríngeo (IX), vago (X), espinhal (XI) e grande hipoglosso (XII)[2]. Outras complicações mais raras são a meningite, o abcesso cerebral, a tromboflebite dos seios cranianos[2] ou o aneurisma micótico[1].

O diagnóstico é essencialmente clínico. A TAC dos ouvidos e a RMN, continuam a ser os exames mais importantes na avaliação da extensão e evolução das lesões e a cultura do exsudado auricular permite habitualmente a identificação do agente etiológico, que deve ser procurado sistematicamente, se necessário recorrendo a biópsia para colheita de material[2].

O tratamento baseia-se na antibioticoterapia com agentes activos contra *Pseudomonas* como cefalosporinas de 3ª geração e quinolonas por um período longo (6 a 8 semanas), adjuvado ou não pelo desbridamento da região[2].

Os casos apresentados caracterizaram-se por um quadro clínico típico, cabendo destacar o importante componente destrutivo desta infecção, bem como a gravidade que assumiu, culminando no falecimento de ambos os doentes.

/ Conclusão

A otite externa maligna é, apesar dos novos avanços na área dos antibióticos, uma situação grave. Mesmo com terapêutica adequada, a taxa de mortalidade que no passado se calculava em 50%, é ainda de 10 a 20%[5]. Embora a maioria dos casos continue a ser descrita nos diabéticos idosos, este diagnóstico tem ganho relevância noutros grupos de imunodeprimidos. O presente artigo descreve dois casos de otite externa maligna associados à infecção VIH, uma nova associação relatada em literatura mais recente, e que tinham em comum uma imunodepressão grave (linfócitos CD4<50 células/mm³). Tendo em conta os actuais benefícios da terapêutica anti-retrovírica, traduzidos em maior sobrevida dos doentes, é de prever que esta entidade venha a ganhar importância num futuro próximo. Por este motivo parece-nos justificada a sua divulgação.

/ Bibliografia

1. Hern JD, Almeyda J, Thomas DM, Main J, Patel KS. **Malignant otitis externa in HIV and AIDS.** *J Larynngol Otol* 1996; 110(8); 770-5.

2. Rubin Grandis J, Branstetter BF, Yu VL. **The changing face of malignant (necrotising) external otitis: clinical, radiological, and anatomic correlations.** *Lancet Infect Dis* 2004; 4(1): 34-9.

3. Rivas Lacarte MP, Pumarola Segura F. **Malignant otitis externa and HIV antibodies- a case report.** *An Otorrinolaringol Ibero Am* 1990; 17(5): 505-12.

4. Ress BD, Luntz M, Telischi FF, Balkany TJ, Whiteman ML. **Necrotizing external otitis in patients with AIDS.** *Laryngoscope* 1997; 107 (4): 456-60.

5. Bhandary S, Karki P, Sinha BK. **Malignant otitis externa: a review.** *Pac Health Dialog* 2002; 9(1): 64-7.

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

Envie-nos as suas opiniões, questões, artigos e/ou sugestões para:
Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas - Forum
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** 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 originais deverão ser enviados para a morada acima referenciada, dirigidas ao Conselho Redactorial da **RPDI**.
Os Artigos Originais 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**, não podendo ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem autorização por escrito desta Sociedade.
Os originais, escritos em português ou em inglês, devem ser enviados em suporte informático, acompanhados de duas cópias impressas.
O ficheiro deverá ser escrito em Microsoft Word, sem tabulações nem indentações. No caso de o conteúdo conter imagens, deverá o autor, sempre que possível, remeter-nos as mesmas em papel fotográfico ou slide para posterior digitalização e tratamento.

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(s) autor(es), 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 ao(s) autor(es), que o prazo para a correcção das provas tipográficas, não deve ultrapassar 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, 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.
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 dactilografadas a dois espaços em folhas separadas 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. Fotografias

Todas as fotografias deverão ser enviadas em papel ou slide ou digitalizadas em alta resolução (não enviar fotografias em suporte informático digitalizadas em baixa resolução).

7. Quadros e Gráficos

Devem ser enviados em folhas separadas, dactilografadas a 2 espaços, identificados com o número de aparecimento no texto e com um título informativo na parte superior. Na parte inferior serão colocadas todas as notas informativas (abreviaturas, significado estatístico, etc.).

EVENTOS NACIONAIS DA ESPECIALIDADE >>

/ 10.ªs Jornadas de Doenças Infecciosas na Clínica Geral
Lisboa, 12 e 13 de Abril de 2007
Organização do Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de S. Maria

/ Pandemias na Era da Globalização – 2.º Congresso
Aveiro, 17 a 19 de Maio de 2007
Organização do Departamento de Doenças Infecciosas dos Hospitais da Universidade de Coimbra
Telef: 239 400433
Fax: 239 402901
E-mail: ddi@huc.min-saude.pt

/ X Encontro Nacional de Actualização em Infecciologia
Porto, 17 a 19 de Outubro de 2007
Organização do Serviço de doenças Infecciosas do Hospital Joaquim Urbano

/ Curso pós-graduado sobre Tuberculose e Infecção VIH/SIDA
Lisboa, 22 a 26 de Outubro de 2007
Organização do Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de S. Maria

/ Curso de Mestrado em Doenças Infecciosas Emergentes (2007-2009)
Lisboa, 2007 a 2009
Organização do Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de S. Maria e da Faculdade de Medicina de Lisboa

EVENTOS INTERNACIONAIS DA ESPECIALIDADE >>

/ CROI 2007: 14th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections
February 25, 2007 – February 28, 2007
Los Angeles, United States
Phone: 703-535-6862 / Fax: 703-535-6899
E-Mail: info@retroconference.org

/ 5th European HIV Drug Resistance Workshop
March 28, 2007 – March 30, 2007
Cascais, Portugal; Contact: Marjon van der Kaa
Phone: 31-302-307-140 / Fax: 31-302-307-148
E-Mail: Marjon.vanderkaa@vironet.com

/ 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases and 25th International Congress of Chemotherapy
March 31, 2007 – April 03, 2007
Munich, Germany

/ Malaria 2007
Date: April 21, 2007 – April 27, 2007
Dakar, Senegal
Contact: Anthony F. England, Ph.D.
Phone: 31-302-145-715 / Fax: 31-302-145-715
E-Mail: england@mangosee.com

/ 13th Annual Conference of the British HIV Association with the British Infection Society
April 25-28; Edinburgh, Scotland
Website: www.bhiva.org

/ 25th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases
May 2-4; Porto, Portugal
Website: www.kenes.com/espid

/ 10th Conference of the International Society of Travel Medicine
Vancouver, 20 a 24 de Maio de 2007
CISTM10 Conference Secretariat
Tel: (856) 423-7222 Ext 217
Fax: (856) 423-3420
Website: www.istm.org

/ 1º Congresso da SIAI e IX Congresso Espanhol de Quimioterapia
31 de Maio a 2 de Junho de 2007
Salamanca (España)

/ 3rd International Workshop on HIV and Hepatitis Co-infection
June 07, 2007 – June 09, 2007
Paris, France; Contact: Jo-Els van der Woude
Phone: 31-302-307-147 / Fax: 31-302-307-148
E-Mail: jo-els.vanderwoude@vironet.com

/ 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention
July 22, 2007 – July 25, 2007
Sydney, NSW, Australia

/ 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy (ICAAC)
September 17, 2007 – September 30, 2007
Chicago (USA)

/ IV Congresso da Sociedade Europeia de Doenças Emergentes
30 de Setembro a 3 de Outubro de 2006
Lisboa, Portugal
Eurocongressos (Karine Van de Woestijne: 917 841 226 ou 213 244 883)
Telefone: 213 244 883
meet@eurocongressos.pt
Web-site: www.eurocongressos.pt

/ 2007 Infectious Diseases Society of America (IDSA) Annual Meeting
October 04, 2007 - October 07, 2007
San Diego, United States
Contact: Infectious Diseases Society of America
Phone: 703-299-0200 / Fax: 703-299-0204
E-Mail: info@idsociety.org

/ 18th European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID)
April 19, 2008 - April 22, 2008
Barcelona (España)
Contact: ESCMID Executive Office, Clarastrasse 57, PO Box, CH-4005 Basel, Switzerland
Phone: 41-616-867-799 / Fax: 41-616-867-798
E-Mail: info@escmid.org

/ 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)
May 16, 2009 - May 19, 2009
Helsinki, Finland
Contact: ESCMID Executive Office, Clarastrasse 57, PO Box, CH-4005 Basel, Switzerland
Phone: 41-616-867-799 / Fax: 41-616-867-798
E-Mail: info@escmid.org

DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO. Fuzeon 90 mg/ml pó e solvente para solução injectável. **COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA.** Cada frasco para injectáveis contém 108 mg de enfuvirtida. 1 ml de solução reconstituída contém 90 mg de enfuvirtida. **FORMA FARMACÊUTICA.** Pó e solvente para solução injectável. Fuzeon é um pó liofilizado de cor branca a esbranquiçada. **INFORMAÇÕES CLÍNICAS.** Indicações terapêuticas. Fuzeon está indicado no tratamento de indivíduos infectados pelo VIH-1, em associação com outros medicamentos antirretrovíricos, e com falência a regimes terapêuticos que incluem, pelo menos, um medicamento de cada uma das seguintes classes de antirretrovíricos: inibidores da protease, inibidores não nucleósidos da transcriptase reversa e inibidores nucleósidos da transcriptase reversa, ou que sejam intolerantes a regimes anteriores com antirretrovíricos. Ao optar por um novo regime terapêutico em doentes com falência a um determinado regime antirretrovírico, deve dar-se especial atenção à história clínica de cada doente bem como ao padrão de mutações associado aos diferentes medicamentos. Sempre que possível, aconselha-se a realização de testes de resistência. Posologia e modo de administração. Fuzeon deve ser prescrito por médicos com experiência no tratamento da infecção pelo VIH. Fuzeon deve ser administrado apenas através de injecção subcutânea. *Adultos e adolescentes ≥ 16 anos:* A dose recomendada de Fuzeon é de 90 mg duas vezes por dia, por injecção subcutânea no braço, parte da frente da coxa ou abdómen. *Idosos:* Não há experiência em doentes com idade> 65 anos. *Crianças ≥ 6 anos e adolescentes:* A experiência baseia-se em dados obtidos com um número muito limitado de crianças. Em ensaios clínicos que ainda estão a decorrer, o regime terapêutico utilizado é descrito na tabela 1.

Tabela 1. Dose pediátrica

Peso (kg)	Dose por injecção (mg/dose) (duas vezes por dia)	Volume de injecção (90 mg de enfuvirtida por ml)
11.0 a 15.5	27	0.3 ml
15.6 a 20.0	36	0.4 ml
20.1 a 24.5	45	0.5 ml
24.6 a 29.0	54	0.6 ml
29.1 a 33.5	63	0.7 ml
33.6 a 38.0	72	0.8 ml
38.1 a 42.5	81	0.9 ml
≥42.6	90	1.0 ml

Não há dados disponíveis que permitam estabelecer recomendações de dose de Fuzeon, para crianças com idade inferior a 6 anos. *Insuficiência renal:* Não é necessário proceder ao ajuste de dose em doentes com depuração da creatinina superior a 35 ml/min. Não há dados disponíveis que permitam estabelecer recomendações de dose em doentes com depuração da creatinina inferior a 35 ml/min ou doentes em diálise. *Insuficiência hepática:* Não há dados disponíveis que permitam estabelecer recomendações de dose para doentes com insuficiência hepática. Contra-indicações. Reacções sistémicas de hipersensibilidade à substância activa ou a qualquer dos excipientes. Advertências e precauções especiais de utilização. Fuzeon tem de ser administrado no âmbito de um regime terapêutico combinado. Aconselha-se a consulta dos respectivos Resumos das Características do Medicamento dos outros medicamentos antirretrovíricos utilizados no regime terapêutico combinado. Tal como outros antirretrovíricos, a enfuvirtida deve ser associada a outros antirretrovíricos aos quais o vírus é sensível - terapêutica de fundo optimizada. O doente tem de ser informado que as terapêuticas antirretrovíricos, incluindo a enfuvirtida, não demonstraram prevenir o risco de transmissão do VIH, através do contacto sexual ou contaminação sanguínea. O doente terá que continuar a utilizar as precauções apropriadas. O doente deve ser informado que o Fuzeon não é uma cura para a infecção pelo VIH-1. Em doentes tratados com Fuzeon, observou-se um aumento da incidência de algumas infecções bacterianas, especialmente uma maior incidência de pneumonia. Os doentes devem ser monitorizados cuidadosamente em relação a sinais e sintomas de pneumonia. Ocasionalmente, têm sido associadas à terapêutica com enfuvirtida reacções de hipersensibilidade que, raramente, voltaram a ocorrer nas administrações seguintes. Os acontecimentos incluíram exantema, febre, náuseas e vómitos, calafrios, tremores, pressão arterial baixa e elevação dos valores plasmáticos das transaminases hepáticas e possivelmente reacções primárias por imunocomplexos, dificuldade respiratória e glomerulonefrite. O doente que desenvolva sinais/sintomas de reacções de hipersensibilidade sistémicas, deve descontinuar o tratamento com enfuvirtida e deve procurar imediatamente o médico. A terapêutica com enfuvirtida não deve ser retomada se os sinais e sintomas sistémicos associados à reacção de hipersensibilidade forem considerados como estando relacionados com a enfuvirtida. Não se identificaram factores de risco que possam prever a ocorrência ou a gravidade da reacção de hipersensibilidade à enfuvirtida. *Doença hepática:* A segurança e eficácia da enfuvirtida não foram estudadas especificamente em doentes com doença hepática subjacente significativa. Doentes com hepatite B ou C crónicas, tratados com terapêutica antirretrovírica, apresentam um risco aumentado de acontecimentos adversos hepáticos graves e potencialmente fatais. Alguns doentes incluídos em ensaios de Fase III eram doentes co-infectados com hepatite B/C. Nestes, a adição de Fuzeon ao regime terapêutico, não aumentou a incidência de acontecimentos hepáticos. Nas situações em que se institua terapêutica antivírica concomitante para a hepatite B ou C, aconselha-se a consulta da informação relevante sobre os medicamentos utilizados. A administração de Fuzeon a indivíduos não infectados por VIH-1 pode induzir a formação de anticorpos anti-enfuvirtida que têm reacção cruzada com a gp-41 do VIH. Isto pode dar origem a um resultado falso positivo no teste do VIH, quando se usa o teste ELISA anti-VIH. Não existe experiência em doentes com função hepática deteriorada ou em doentes com insuficiência renal grave e apenas existem dados limitados em casos de insuficiência renal moderada. Fuzeon deve ser tilizado com precaução nestes grupos de doentes. *Síndrome de Reactivação Imunológica:* em doentes infectados pelo VIH com deficiência imunológica grave à data da instituição da terapêutica antirretroviral combinada (TARC), pode ocorrer uma reacção inflamatória a infecções oportunistas assintomáticas ou residuais e causar várias situações clínicas graves, ou o agravamento dos sintomas. Tipicamente, estas reacções foram observadas durante as primeiras semanas ou meses após início da TARC. São exemplos relevantes a retinite por citomegalovírus, as infecções micobacterianas generalizadas e/ou locais e a pneumonia por Pneumocystis carinii. Qualquer sintoma de inflamação deve ser avaliado e, quando necessário, instituído o tratamento. Interacções medicamentosas e outras formas de interacção. Não se esperam interacções farmacocinéticas clinicamente significativas entre a enfuvirtida e fármacos metabolizados pelas enzimas do CYP450, administrados concomitantemente. *Influência da enfuvirtida no metabolismo dos medicamentos administrados concomitantemente:* Num estudo in vivo do metabolismo da enfuvirtida no Homem, na dose recomendada de 90 mg duas vezes por dia, verificou-se que esta não inibiu o metabolismo de substractos pelo CYP3A4 (dapsona), CYP2D6 (debrisoquina), CYP1A2 (cafeína), CYP2C19 (mefenitoína) e CYP2E1 (clorzoxazona). *Influência da administração concomitante de medicamentos no metabolismo da enfuvirtida:* Em diferentes estudos de interacção farmacocinética, a co-administração de ritonavir (potente inibidor do CYP3A4) ou saquinavir, em associação com ritonavir em dose de boosting ou rifampicina (potente indutor do CYP3A4) não originou alterações na farmacocinética da enfuvirtida clinicamente significativas. Gravidez e aleitamento. Não existem estudos adequados nem bem controlados na mulher grávida. Os estudos em animais não indicam quaisquer efeitos nefastos no que respeita ao desenvolvimento fetal. A enfuvirtida só deve ser utilizada durante a gravidez, quando os benefícios potenciais justificarem o risco potencial para o feto. Desconhece-se se a enfuvirtida é excretada no leite humano. As mães devem ser aconselhadas a não amamentar se estiverem em tratamento com enfuvirtida, devido à possibilidade de transmissão do VIH e aos possíveis efeitos indesejáveis para o lactente. Efeitos sobre a capacidade de conduzir e utilizar máquinas. Não foram estudados os efeitos sobre a capacidade de conduzir e utilizar máquinas. Não há indícios de que a enfuvirtida possa alterar a capacidade do doente para conduzir e utilizar máquinas.

No entanto, deve ter-se em consideração o perfil de acontecimentos adversos da enfuvirtida. Efeitos indesejáveis. A informação de segurança provém essencialmente do conjunto dos dados obtidos às 48 semanas nos estudos TORO 1 e TORO 2. Os resultados de segurança são expressos em termos do número de doentes com um acontecimento adverso por 100 doente-anos de exposição (excepto as reacções no local da injecção). *Reacções no local da injecção:* As reacções adversas mais frequentemente relatadas foram as reacções no local da injecção (RLI) e ocorreram em 98% dos doentes (Tabela 2). A maior parte das RLI ocorreu na primeira semana da administração do Fuzeon e esteve associada a dor ligeira ou moderada ou desconforto no local da injecção, não limitante da actividade normal. A intensidade da dor e do desconforto não aumentou com a duração do tratamento. Os sinais e sintomas não duraram, de uma forma geral, mais de 7 dias. As infecções no local da injecção (incluindo abcesso e celulite) ocorreram em 1,5% dos doentes.

Tabela 2. Resumo de cada sinal/sintoma característico da reacção no local da injecção ocorrido no conjunto dos estudos TORO 1 e TORO 2 (% de doentes)

	N=663		
Percentagem de doentes que abandonou o estudo devido a RLI	4%		
Acontecimento	FUZEON + Terapêutica Optimizada[a]	% de acontecimentos incluindo reacções Grau 3	% de acontecimentos incluindo reacções Grau 4
Dor / desconforto	96.1%	11.0%[b]	0%b
Eritema	90.8%	23.8%[c]	10.5%c
Induração	90.2%	43.5%[d]	19.4%d
Nódulos e quistos	80.4%	29.1%[e]	0.2%e
Prurido	65.2%	3.9%[f]	NA
Equimoses	51.9%	8.7%[g]	4.7%g

[a] *Qualquer grau de gravidade*

[b] *Grau 3 = dor intensa que exige o recurso a analgésicos (ou analgésicos narcóticos durante ≤ 72 horas) e/ou limitante da actividade normal; Grau 4: dor intensa que exige hospitalização ou prolongamento da hospitalização, resultando em morte ou incapacidade persistente ou significativa, ameaçadora da vida ou clinicamente significativa.*

[c] *Grau 3: ≥ 50 mm mas < 85 mm de diâmetro médio; Grau 4: ≥ 85 mm de diâmetro médio*

[d] *Grau 3: ≥ 25 mm mas < 50 mm de diâmetro médio; Grau 4: ≥ 50 mm de diâmetro médio*

[e] *Grau 3: ≥ 3 cm; Grau 4: se estiver a drenar.*

[f] *Grau 3: refractário ao tratamento tópico ou a exigir tratamento oral ou parentérico; Grau 4: não definido.*

[g] *Grau 3: > 3 cm mas ≤ 5 cm; Grau 4: > 5 cm*

Outras reacções adversas: A adição de Fuzeon à terapêutica antirretrovírica de fundo não aumentou, em geral, a frequência ou a gravidade da maioria dos acontecimentos adversos. Os acontecimentos mais frequentemente relatados nos estudos TORO 1 e TORO 2 foram diarreia (38 versus 73 doentes com acontecimento por 100 doente-anos para o Fuzeon + TO versus TO) e náuseas (27 versus 50 doentes com acontecimento por 100 doente-anos para o Fuzeon + TO versus TO). A lista que se segue indica os acontecimentos observados mais frequentemente nos doentes tratados com Fuzeon + TO do que nos tratados apenas com TO, com um aumento (ajustado à exposição) de pelo menos 2 doentes com acontecimento por 100 doente-anos. Esses acontecimentos são então classificados quanto à frequência estimada ("muito frequente" ou "frequente"). Observou-se um aumento estatisticamente significativo da ocorrência de pneumonia e de linfadenopatia. A maior parte dos acontecimentos adversos foi de natureza ligeira ou moderada. Infecções e infestações. Frequentes (>1/100, <1/10): sinusite, papiloma cutâneo, influenza, pneumonia, infecção otológica. Doenças do sangue e do sistema linfático. Frequentes (>1/100, <1/10): linfadenopatia. Doenças do metabolismo e da nutrição. Frequentes (>1/10): diminuição do apetite, anorexia, hipertrigliceridemia, diabetes mellitus. Perturbações do foro psiquiátrico. Frequentes (>1/100, <1/10): ansiedade, pesadelos, irritabilidade. Doenças do sistema nervoso. Muito frequentes (>1/10): neuropatia periférica. Frequentes (>1/100, <1/10): hipostesia, perturbações da concentração, tremor. Afecções oculares. Frequentes (>1/100, <1/10): conjuntivite. Afecções do ouvido e do labirinto. Frequentes (>1/100, <1/10): vertigens. Doenças respiratórias, torácicas e do mediastino. Frequentes (>1/100, <1/10): congestão nasal. Doenças gastrointestinais. Frequentes (>1/100, <1/10): pancreatite, refluxo gastro-esofágico. Afecções dos tecidos cutâneos e subcutâneas. Frequentes (>1/100, <1/10): secura da pele, eczema seborreico, eritema e acne. Afecções musculoesqueléticas e dos tecidos conjuntivos. Frequentes (>1/100, <1/10): mialgia. Doenças renais e urinárias. Frequentes (>1/100, <1/10): cálculos renais. Perturbações gerais e alterações no local de administração. Frequentes (>1/100, <1/10): síndroma do tipo gripal, fraqueza. Exames complementares de diagnóstico. Muito frequentes (>1/10): diminuição de peso. Frequentes (>1/100, <1/10): aumento da triglicéridemia, hematúria. Além disso ocorreram algumas reacções de hipersensibilidade atribuídas à enfuvirtida e, em algumas circunstâncias, estas reacções recorreram com a repetição da administração. Em doentes infectados pelo VIH com deficiência imunológica grave à data de início da terapêutica antirretroviral combinada (TARC), pode ocorrer uma reacção inflamatória a infecções oportunistas assintomáticas ou residuais. *Alterações laboratoriais:* A maioria dos doentes não apresentou alterações no grau de toxicidade de nenhum dos parâmetros laboratoriais durante o estudo, excepto os indicados na Tabela 3. Ao longo da semana 48 ocorreu eosinofilia [superior ao Limite Superior Normal (LSN) de 0,7 x 109/l] mais frequentemente nos doentes incluídos no braço com Fuzeon (12,4 doentes com acontecimento por 100 doente-anos) do que nos doentes tratados apenas com TO (5,6 doentes com acontecimento por 100 doente-anos). Quando se considera um limiar superior para a eosinofilia (acima de 1,4 x 109/l), a frequência de ocorrência de eosinofilia, ajustada à exposição, é igual em ambos os grupos (1,8 doentes com o acontecimento por 100 doente-anos).

Tabela 3. Alterações laboratoriais de Grau 3 e 4, ajustadas à exposição, nos doentes tratados com Fuzeon+TO ou apenas com TO, reportadas em mais de 2 doentes com o acontecimento por 100 doente-anos

Classificação do parâmetro laboratorial	Fuzeon+TO Por 100 doente-anos	Apenas TO Por 100 doente-anos
N	663	334
(Exposição total doente-anos)	(557,0)	(162,1)
ALAT		
Gr. 3 (>5-10 x LSN)	4.8	4.3
Gr. 4 (>10 x LSN)	1.4	1.2
Hemoglobina		
Gr. 3 (6.5-7.9 g/dl)	2.0	1.9
Gr. 4 (<6.5 g/dl)	0.7	1.2
Creatinina fosfoquinase		
Gr. 3 (>5-10 x LSN)	8.3	8.0
Gr. 4 (>10 x LSN)	3.1	8.6

TITULAR DA AUTORIZAÇÃO DE INTRODUÇÃO NO MERCADO. Roche Registration Limited, representada em Portugal por Roche Farmacêutica Química, Lda; Estrada Nacional, 249-1; 2720-413 Amadora

DATA DA REVISÃO DO TEXTO. Dezembro 2005

Medicamento sujeito a receita médica. Informação adicional será fornecida a pedido.