

# Doença por vírus Ébola: conhecimentos, atitudes e receios dos profissionais de saúde de um hospital de referência

/087

---

/095 Rastreio serológico da hepatite A numa consulta do viajante – Experiência do Hospital Garcia de Orta

---

/102 Teste molecular rápido para rastreio de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina – uma experiência de sucesso

---

/108 Controladores de elite: Um caminho para a cura funcional da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana?

---

/118 Micose endémicas em doentes sob imunomoduladores

---

/129 Infeção por *Loa loa* – diagnóstico raro em Portugal

---

/134 Abscesso hepático amebiano – a propósito de dois casos clínicos

---





### 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

#### / Diretor

Prof. Doutor António Meliço-Silvestre

#### / Paginação

Glauco Magalhães

#### / Revisão

Dra. Ângela Barroqueiro

#### / Impressão

Papelmunde

#### / Créditos fotográficos

-

#### / Depósito legal

246017/06

#### / ISSN 0870-1571

/ ISSN 2183-671X (edição digital)

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.º 8/99 de junho de 1999.

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

Indexada na Fonte Académica, uma base de dados da EBSCO.

Indexada no Índice das Revistas Médicas Portuguesas.

### Corpos Sociais da SPDIMC

#### / Direção

Presidente – Prof.ª Dra. M. Helena Ramos  
Vice-Presidente – Prof. Doutor Henrique Lecour  
Secretário – Prof. Doutor António Sarmento  
Tesoureiro – Prof.ª Doutora Cidália Pina Vaz  
Vogal – Dr. António Ludgero Vasconcelos

#### / Assembleia-Geral

Presidente – Dra. Célia Oliveira  
Vice-Presidente – Dra. Graça Ribeiro  
Secretário – Dr. Nuno Marques

#### / Conselho Fiscal

Presidente – Prof.ª Doutora Maria Teresa Marques  
Vice-Presidente – Dra. Ana Cláudia Miranda  
Vogal – Dra. Cristina Toscano

### Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas

#### / Diretor

Prof. Doutor António Meliço-Silvestre  
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;  
Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

#### / Diretor Honorário

Prof. Doutor Carvalho Araújo  
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa;  
Prof. Catedrático Jubilado

#### / Editor

Prof. Doutor Saraiva da Cunha  
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;  
Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

#### / Conselho Científico

Prof. Doutor António Sarmento  
Faculdade de Medicina da Universidade de Porto;  
Centro Hospitalar de S. João

Prof.ª Doutora Cidália Pina Vaz  
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto;  
Centro Hospitalar de S. João

Prof.ª Doutora Emília Valadas  
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa;  
Centro Hospitalar Lisboa Norte

Dr. Fernando Maltez  
Centro Hospitalar Lisboa Central

Prof. Doutor Francisco Antunes  
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa;  
Centro Hospitalar Lisboa Norte

Dr. Germano do Carmo  
Centro Hospitalar Lisboa Norte

Prof.ª Dra. Helena Ramos  
Centro Hospitalar do Porto; Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Prof. Doutor Henrique Lecour  
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto;  
Prof. Catedrático Jubilado

Dr. Joaquim Oliveira  
Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Prof. Dr. Kamal Mansinho  
Centro Hospitalar Lisboa Ocidental

Prof.ª Doutora Lurdes Santos  
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto;  
Centro Hospitalar de S. João

Prof. Doutor Rui Sarmento e Castro  
Faculdade de Medicina da Universidade do Minho;  
Centro Hospitalar do Porto

Prof.ª Doutora Teresa Marques  
Faculdade de Medicina da Universidade Nova de Lisboa;  
Centro Hospitalar Lisboa Ocidental

#### / Comissão de Honra Nacional

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

#### / Comissão de Honra Internacional

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

## 03/RPDI

Setembro &gt; Dezembro 2015 / Vol. 11 &gt; N.º 3



## EDITORIAL / EDITORIAL

**085** Infecção por VIH/Sida: TARV para todos

/ Dr. Joaquim Oliveira

## ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

**087** Doença por vírus Ébola: conhecimentos, atitudes e receios dos profissionais de saúde de um hospital de referência

/ F. D. Ferreira / C. Lima Alves / C. Carvalho / G. Braga

**095** Rastreio serológico da hepatite A numa consulta do viajante – Experiência do Hospital Garcia de Orta

/ Ana Catarina Guerra / Maria João Aleixo / Cristina Varela

/ Isabel Remédios / Rita Nóbrega / Ana Lemos / Maria João Aguas

**102** Teste molecular rápido para rastreio de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina – uma experiência de sucesso

/ M. Monteiro / A. Read / F. Carneiro / R. Fonseca / M. J. Soares / V. Alves

## ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

**108** Controladores de elite: Um caminho para a cura funcional da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana?

/ M. Trêpa / C. Vasconcelos

**118** Micoses endémicas em doentes sob imunomoduladores

/ Rute Aleixo / Cândida Abreu

## CASO CLÍNICO / CLINICAL CASE

**129** Infeção por *Loa loa* – diagnóstico raro em Portugal

/ S. M. Santos / J. Alves / S. Peres / F. Borges / K. Mansinho

**134** Abscesso hepático amebiano – a propósito de dois casos clínicos

/ A. Silva / R. Tavares / I. Galvão / J. Calha / P. Rodrigues

**139** Agenda / *Notebook***140** *Checklist*

EDITORIAL / EDITORIAL



/ Joaquim Oliveira

## Infeção por VIH/Sida: TARV para todos

Anunciou este novo governo querer disponibilizar os anti-retrovíricos (ARV) nas farmácias de oficina. Embora subscrevendo a bondade do princípio subjacente a esta medida – o desejo de facilitar a vida aos doentes infetados por VIH, colocando os ARV numa farmácia próxima – é importante não esquecer algumas particularidades desta doença, nomeadamente o estigma e conseqüente desejo de confidencialidade e a premência de uma adesão elevada à medicação. Por isso, antes que esta estratégia seja adoptada, é crucial que sejam assegurados alguns requisitos fundamentais:

- Consentimento e acordo informado do doente, a quem caberá também a escolha do local de disponibilização de ARV;
- Manutenção da promoção e controlo da adesão e monitorização dos efeitos secundários; para este fim, é imprescindível o apoio do farmacêutico, sendo por isso fundamental estabelecer vias de comunicação expedita, fácil e segura para que esta colaboração possa continuar a funcionar.

Vale a pena sublinhar que o recém-publicado Despacho nº 13447-B/2015, de 18 de novembro, veio colmatar muitas das dificuldades sentidas pelos doentes no acesso à medicação nas farmácias hospitalares (FH) ao instituir como norma a cedência da medicação para três meses. Nas situações em que não cumpram aquela regra, as FH são responsabilizadas pela colocação dos ARV no local indicado pelo doente,

Não querendo subestimar as dificuldades vivenciadas pelos doentes, nem as mais-valias potenciais da disponibilização dos ARV numa farmácia local, parece-nos mais custo-efetivo o investimento na melhoria da acessibilidade à FH e à sua dotação em recursos técnicos e humanos ajustados às crescentes tarefas que lhe têm vindo a ser atribuídas.

O estudo START (precocemente interrompido pelos resultados observados na análise interina) demonstrou inequivocamente o benefício do início precoce da terapêutica anti-retrovírica (TARV) em qualquer estágio da infeção por VIH. Este facto, que constitui um marco fundamental na história da infeção por VIH, motivou a reformulação da quase totalidade das normas (entre outras, as da OMS, EACS e portuguesas) que passaram a recomendar a TARV para todos os doentes. Esta estratégia configura uma mudança de paradigma que está de acordo com a da UNAIDS que tem como objetivo o controlo da epidemia até 2030. Representa, contudo, um esforço adicional para o SNS que será confrontado, num período curto, com um aumento significativo de doentes em tratamento com ARV (que poderemos estimar, grosseiramente, entre 4 a 6 mil). A este desafio, inequivocamente importante, somam-se outros decorrentes da estratégia da UNAIDS 90:90:90, ou seja, diagnosticar 90% dos doentes, tratar 90% destes e obter supressão



virológica em 90% destes. Os dois últimos objetivos parecem-me realisticamente atingíveis num horizonte temporal próximo, embora seja preciso uma intensificação dos esforços, em particular para ligar aos serviços de saúde os doentes diagnosticados mas sem seguimento.

Contudo, o maior desafio reside no primeiro objetivo e diz respeito aos infetados que não sabem que o estão. Não há números precisos mas, partindo dos dados conhecidos (estão diagnosticados, de acordo com o Si.Vida, 33 286 casos e em seguimento nos serviços de saúde cerca de 30.000 dos quais 28.000 em tratamento), há estimativas que apontam para 20 a 30 mil casos sem diagnóstico. Como alterar esta realidade é uma questão que não tem uma resposta simples mas que, em nosso entender, deve envolver toda a sociedade: população geral, médicos e outros profissionais da saúde, organizações de base comunitária e organizações de doentes, entre outros. Urge, de qualquer modo, intensificar os esforços conducentes a:

- Sensibilizar a população para a necessidade e vantagem de efetuar o teste de rastreio da infeção por VIH, em particular em todos os indivíduos com vida sexual ativa e que nunca efetuaram um teste e obrigatoriamente em todas as situações de diagnóstico de infeções transmitidas por via sexual ou sempre que haja práticas de risco;
- Banalizar o teste de rastreio, nomeadamente pela sua inclusão na bateria de exames de vigilância da saúde;
- Informar, sensibilizar e educar os profissionais de saúde para a necessidade de prescrição do teste de forma mais sistemática;
- Utilizar de forma mais alargada o teste de diagnóstico rápido nos serviços de urgência (em particular nas áreas com incidências mais elevadas);
- Divulgar as doenças e manifestações sentinela.

A realidade epidemiológica nacional, recentemente atualizada com os dados referentes a 31 de dezembro de 2014, continua a mostrar uma tendência para a diminuição do número dos casos novos. Contudo, a incidência é ainda o dobro da média da UE e a taxa de diagnóstico tardio continua muito elevada (49,1%). Precisamos por conseguinte de ir mais além, de fazer algo de novo para conseguirmos alterar esta realidade que se mantém desfavorável.

ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

## Doença por vírus Ébola: conhecimentos, atitudes e receios dos profissionais de saúde de um hospital de referência

## *Ebola virus disease: health care workers' knowledge, attitudes and fears in a reference hospital*

/ F. D. Ferreira<sup>1</sup> / C. Lima Alves<sup>2,4</sup>  
/ C. Carvalho<sup>1,2,3,4</sup> / G. Braga<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal;

<sup>2</sup> Serviço de Doenças Infecciosas, Centro Hospitalar de S. João, Porto, Portugal;

<sup>3</sup> Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto (ISPUP);

<sup>4</sup> Unidade de Prevenção e Controlo de Infecção e Resistências aos Antimicrobianos, Centro Hospitalar de S. João, Porto, Portugal.

Correspondência:

**Diana Fernanda Santos Ferreira**  
CHSJ, Serviço de Doenças Infecciosas  
Alameda do Professor Hernâni Monteiro  
4200-319 Porto  
email: diana.fsferreira@gmail.com

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade

Artigo recebido em  
20/08/2015

Artigo aceite para publicação em  
07/10/2015

### / Resumo

**Introdução:** A doença por vírus Ébola é uma patologia de elevada mortalidade. Atualmente decorre o maior surto da história.

**Objetivo:** Perante o elevado risco dos profissionais de saúde torna-se importante compreender os seus conhecimentos e receios.

**Métodos:** Estudo transversal baseado na aplicação de questionário, conduzido entre 1 e 20 de dezembro de 2014. Incluídos aleatoriamente 114 profissionais do Hospital S. João, potencialmente envolvidos na resposta ao vírus Ébola.

**Resultados:** O contacto com fluídos corporais, como forma de transmissão, foi apontado em 97,4% dos profissionais, mas 8,8% considerou possível contágio por via aérea; 10,5% referiu estar disponível tratamento específico; 75,9% defendeu o fecho de fronteiras; 15,2% voluntariar-se-iam para o terreno; 72,3% considerou pouco provável a ocorrência de um surto em Portugal e, caso isso aconteça, nenhum considerou possível que a propagação fosse apenas nosocomial. O principal receio apontado foi o risco de contágio de familiares (75,4%).

**Conclusões:** Estes profissionais estão, globalmente, bem informados acerca da doença, mas 9% considerou possível a transmissão por via aérea e 11% admitiu existir tratamento específico. A grande maioria não recusaria tratar um paciente, porém poucos considerariam ir para o terreno. É fundamental manter estes profissionais atualizados e informados para melhorar a prestação de cuidados.

**Palavras-chave:** Vírus Ébola, Profissionais de Saúde, Receio

### / Abstract

**Background:** Ebola virus disease is a highly lethal infection. The world is facing the worst outbreak in history.

**Objective:** Health care workers are at high risk of exposure which makes it important to understand their knowledge and feelings.

**Methods:** Cross-sectional study, based on questionnaire, conducted between 1<sup>st</sup> and 20<sup>th</sup> December, 2014. 114 health care workers of Hospital S. João, potentially involved in Ebola response, were randomly included.

**Results:** 97.4% knew that body fluids contact is the main transmission route, however 8.8% thought that Ebola is airborne. 10.5% pointed the existence of specific anti-viral drugs. 75.9% agreed with closing borders and 15.2% would volunteer for the frontline of the outbreak. For 72.3% it is unlikely an outbreak in Portugal, although if that happens, they think it would not be only nosocomial. The greatest fear is to infect family members (75.4%).

**Conclusions:** These health care workers are relatively well informed, despite 9% pointed Ebola as being airborne and 11% thought it existed a specific anti-viral drug. Most of them would not refuse to treat an Ebola patient, but only a few would consider going to the affected areas. It is crucial that these professionals are well informed so they can provide the best care.

**Key-words:** Ebola virus, Health Personnel, Fear

## / Introdução

O Vírus Ébola pertence à família Filoviridae e é responsável pela doença por vírus Ébola (DVE), anteriormente designada febre hemorrágica do Ébola.<sup>1</sup> A taxa de mortalidade associada a esta infeção é elevada, podendo variar entre 50-90%.<sup>2,3</sup>

Ao longo da história, a infeção por este vírus tem surgido na forma de diversos surtos. Em dezembro de 2013 começaram a surgir casos de DVE, em áreas de África onde o vírus nunca tinha sido reportado. O surto começou na Guiné-Conacri e, desde então, estendeu-se para a Libéria e Serra Leoa, os três principais países afetados.<sup>4</sup> A 8 de agosto de 2014, com 1779 casos suspeitos ou confirmados e 961 mortes associadas, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou este surto como uma "Emergência de Saúde Pública de Âmbito Internacional".<sup>5</sup> Segundo esta organização, até, ao dia 1 de março de 2015 tinham sido reportados 23 969 casos confirmados, suspeitos e prováveis, com 9807 mortes. A mortalidade para os três principais países variava entre 31% e 66%. Também, de acordo com dados da OMS, tinham morrido, até então, 491 profissionais de saúde, num total de 839 infetados.<sup>6</sup>

Devido à grande mobilidade de bens e pessoas, foram reportados vários casos fora da zona epidémica, nomeadamente, no Mali,

Nigéria, Senegal, Espanha, Reino Unido e Estados Unidos da América (EUA). A maioria destes casos foram importados, ou seja relacionados com profissionais de saúde que retornaram do terreno já infetados, mas outros resultaram de transmissão local, nosocomial, a profissionais (três casos – dois nos EUA e um em Espanha).<sup>6</sup> Deste ponto de vista é importante, para Portugal, estar alerta para um eventual caso de DVE e por isto, a Direção-Geral de Saúde (DGS) criou um dispositivo de coordenação para resposta à epidemia de Ébola que inclui, para além de outras entidades, os hospitais de referência para o tratamento desta doença – Centro Hospitalar de Lisboa Central, E.P.E. – Hospital de Curry Cabral e Hospital de D. Estefânia e o Centro Hospitalar de S. João, E.P.E. (CHSJ).

Pareceu-nos pertinente avaliar os conhecimentos e receios que os profissionais de saúde do CHSJ, potencialmente envolvidos no combate à DVE, apresentavam face à situação. Foi identificado, na literatura, o trabalho de McCarthy<sup>7</sup>, realizado de forma semelhante nos EUA, mas na população em geral, sendo este estudo inédito até à data em Portugal, conduzido durante o maior surto de sempre, numa altura em que o foco dos media e da comunidade científica estava centrado na doença.



## / Métodos

### Tipo de estudo

Estudo transversal, por aplicação de questionário semiestruturado e previamente testado, no âmbito da saúde pública. Conduzido entre 1 e 20 de dezembro de 2014, entre profissionais de saúde, de modo a entender o grau de conhecimento e receios face à infeção por vírus Ébola daqueles que, potencialmente, são o grupo na frente da prestação de cuidados de saúde aos infetados.

### Participantes

Para a amostra populacional foram selecionados profissionais de saúde de diferentes serviços hospitalares, envolvidos na resposta a vírus Ébola, no CHSJ. Assim, dos 987 profissionais de Doenças Infecciosas, Medicina Interna, Ginecologia/Obstetrícia, Pediatria, Imuno-Hemoterapia e Patologia Clínica obtivemos resposta de 108 (entre enfermeiros, médicos, assistentes operacionais e técnicos de laboratório), que se voluntariaram para responder, após tomarem conhecimento do estudo. Adicionalmente, foram, também, incluídas sete das 12 funcionárias dos serviços de limpeza, destacadas para as áreas envolvidas, na eventualidade de um caso de DVE neste Hospital, de acordo com a sua presença numa formação sobre Equipamento de Proteção Individual (EPI). Para a análise, as funcionárias de limpeza foram incluídas no grupo dos assistentes operacionais. Um dos participantes foi excluído, por respostas incongruentes e incompletas e, como tal, a amostra final foi reduzida a 114 participantes.

### Recolha e análise de dados

Os dados foram obtidos através da aplicação de um questionário semiestruturado e, previamente, testado, aos profissionais de saúde, através de uma entrevista presencial.

Para além de dados sociodemográficos, como idade, profissão e área de residência, foram obtidas informações relativamente ao conhecimento sobre sintomas, formas de transmissão e tratamento, assim como dados acerca dos receios face ao vírus Ébola.

A análise estatística foi realizada com recurso ao programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 21, tendo-se procedido a uma análise descritiva e inferencial. Para as variáveis descritas utilizou-se a distribuição de frequências. Foi utilizado o teste de associação de qui-quadrado (para um grau de significância <0,05).

### Considerações Éticas

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de S. João.

A confidencialidade foi garantida, não tendo sido registado o nome dos participantes, e tendo os dados sido tratados apenas pelos autores.

## / Resultados

### Dados sociodemográficos

Dos 999 profissionais de saúde, das áreas em potencial risco, foram entrevistados 114, ou seja 11,4%. Dos participantes 91 (79,8%) eram mulheres e, destas, três estavam grávidas. As idades variaram entre os 25 e 60 anos, sendo a mediana de 36 anos (média  $38,2 \pm 9,2$  anos). Dos 114 participantes (36% eram médicos e 34% enfermeiros), 51,8% estava casado, 55,3% tinha um ou mais filhos, sendo que a idade média do filho mais novo era de  $10 \pm 8,7$  anos (Quadro I). A maioria dos inquiridos residia no Grande Porto.

**Quadro I – Dados sociodemográficos dos participantes no estudo (n=114)**

Sexo	Número	Percentagem (%)
Masculino	23	20,2
Feminino	91	79,8
<b>Profissão</b>		
Médicos	41	36,0
Enfermeiros	39	34,2
Assistentes operacionais*	10	8,8
Técnicos de laboratório	24	21,1
<b>Serviço</b>		
Doenças Infecciosas	25	21,9
Medicina Interna	25	21,9
Pediatria	15	13,2
Ginecologia/Obstetrícia	13	11,4
Imuno-Hemoterapia	19	16,7
Patologia Clínica	10	8,8
Limpezas	7	6,1
<b>Estado Civil</b>		
Solteiro	38	33,3
Casado	59	51,8
União de facto	8	7,0
Divorciado	8	7,0
Viúvo	1	0,9
<b>Gravidez</b>		
Sim	3	2,6
<b>Filhos</b>		
Sim	63	55,3
Não	50	43,9
Sem resposta	1	0,9

\*As empregadas de limpeza foram incluídas nos assistentes operacionais, mas não fazem parte de nenhum serviço em específico.

### Conhecimentos relativos à doença por vírus Ébola

Quanto às fontes de informação, que os profissionais de saúde utilizam para obter novos dados relativamente à DVE, 71,1% referiu que esta é prestada pela instituição hospitalar, logo seguida da internet como fonte preferida para obtenção de conhecimentos (67,5%).

Para 97,4% dos inquiridos, a infeção é transmitida por contacto direto com fluídos corporais e para 78,9% o contacto com cadáveres pode levar, também, à infeção. No entanto, 8,8% referiu que a doença é transmitida por via aérea (a distância superior a 1m) e 9,8% dos médicos tem esta convicção contra 8,2% dos não médicos (a diferença não é, estatisticamente, significativa,  $p=0,781$ ). A picada acidental por agulha foi considerada uma forma de transmissão por 55,3% dos profissionais (40% no caso dos assistentes operacionais).

Quanto à sintomatologia apresentada pelos indivíduos com DVE, como se pode verificar no quadro II, a febre foi, em 97,4%, o sintoma que a maioria apontou como característico, logo seguido da diarreia (73,7%), hemorragias internas ou externas (72,8%) e náuseas e vômitos (69,3%).

Relativamente ao estádio em que é possível a transmissão da infeção, 78,9% referiu que esta ocorre após o início dos sintomas, enquanto 17,5% considerou possível a transmissão, a partir de infetados assintomáticos; 27,2% afirmou que pode ocorrer na fase de recuperação, nomeadamente por via sexual. Um assistente operacional considerou a DVE não transmissível entre humanos.

A não existência de tratamento específico foi referida por 84,2% dos participantes, mas para 10,5% tal terapêutica já está disponível.

**Quadro II – Sintomas atribuídos à Doença por vírus Ébola**

Sintomas	Total (número)	Total (%)
Febre	111	97,4
Diarreia	84	73,7
Hemorragias internas/externas	83	72,8
Náuseas e vômitos	79	69,3
Mialgias/dores musculares	70	61,4
Dores abdominais	41	36,0
Prostração	32	28,1
Tosse	15	13,2
Dor torácica e dispneia	13	11,4
Sintoma mais frequente		
Febre	93	81,6
Hemorragias internas/externas	6	5,3
Os participantes podiam escolher mais do que uma opção		

### Crenças/visão perante a doença

Quando inquiridos relativamente à hipótese de fechar fronteiras ou promover restrição de voos, 75,9% era a favor dessa decisão (69,2% dos médicos e 79,7% dos não médicos). Todos justificaram esta medida com a necessidade de controlar a propagação da infeção. Daqueles que se manifestaram contra, as principais razões apontadas foram o agravamento da situação social com isolamento das populações afetadas (15,4%), o inaceitável condicionamento da liberdade de movimentos (11,5%) e a existência de medidas alternativas para controlar a infeção (7,7%).

Na eventualidade de terem já uma viagem marcada para um país africano, 26,8% disse que a cancelaria, mesmo sendo para um país não afetado, e 90,2% cancelava a viagem, se esta fosse para uma área atingida.

Confrontados com a necessidade de profissionais de saúde no terreno, apenas 15,2% estaria disposta a voluntariar-se para os países afetados, com 17,5% dos médicos contra 13,9% dos profissionais não médicos (Quadro III). Os principais motivos mencionados para não se voluntariarem foram: 1) Questões pessoais e profissionais (15,8%); 2) ausência de conhecimentos e preparação para o trabalho no terreno (8,4%); 3) existência de filhos menores, que, ainda, precisam de cuidados (7,4%). Apenas três participantes referiram, especificamente, receio de serem contaminados.

### Ébola em Portugal

A grande maioria da população em estudo não considerou provável que venha a existir um surto de DVE em Portugal (72,3%). Dos 14,0% que achou possível que tal viesse a ocorrer, nenhum considerou que a doença se propagaria, apenas, pelos profissionais de saúde, sendo que 87,5% referiu que a disseminação ocorreria quer entre profissionais, quer na comunidade em geral. 80,4% achou possível que viesse a existir algum caso importado em Portugal, sendo esta a perceção de 75,6% dos médicos contra 83,1% do pessoal não médico (não estatisticamente significativo).

### Receios face à doença

Os principais receios que referidos pelos participantes foram o risco de contagiar os familiares (75,4%) e de se infetarem eles próprios (72,8%). Só uma pequena fração (5,3%) referiu que tinha medo do estigma social, associado à infeção (Quadro IV).

Questionando de forma aberta como reagiriam caso fosse diagnosticada DVE num profissional de saúde do CHSJ obtivemos diversas respostas: 1) 43% disse que reagiria normalmente, tomando todas as precauções necessárias, procurando mais informação e seguindo os protocolos; 2) 22,8% referiu que ficaria muito preocupada, agitada e ansiosa; 3) 11,4% tentava perceber como se deu o contágio e se teria tido contacto com o profissional infetado; 4) dois profissionais de saúde referiram, mesmo, que se refugiariam em casa.

**Quadro III – Comportamento e atitudes perante a doença**

Fecho de fronteiras e Restrição de voos*	Total (número)	Total (%)	Médicos (%)	Pessoal não médico (%)	
Sim	82	75,9	69,2	79,7	p=0,221
Não	26	24,1	30,8	20,3	
Disponível para ser voluntário no terreno?*	Total (número)	Total (%)	Médicos (%)	Pessoal não médico (%)	
Sim	17	15,2	17,5	13,9	p=0,610
Não	95	84,8	82,5	86,1	

Grau de significância para  $p < 0,05$ .

\* Na primeira questão, 6 participantes não responderam e como tal não foram contabilizados para análise, o mesmo tendo ocorrido na segunda com 2 profissionais.

**Quadro IV – Principais receios dos profissionais de saúde face à Doença por vírus Ébola**

Receios	Total (número)	Total (%)
Infetar os meus familiares	86	75,4
Ficar infetado	83	72,8
Morrer	45	39,5
Privação da minha liberdade	21	18,4
Estigma social	6	5,3
Outro*	2	1,8

Os participantes podiam escolher mais do que uma opção

\* Dois optaram por referir outras preocupações que não as indicadas.

Das três mulheres que estavam grávidas, apenas uma referiu que esta seria uma preocupação acrescida.

**Formação em EPI**

Várias formações em EPI foram prestadas aos profissionais dos serviços, potencialmente, envolvidos, e dos participantes neste estudo 68,5% havia tido acesso a essa formação.

Da experiência formativa que tiveram, e como se pode verificar pelo quadro V, são enumeradas diversas dificuldades na utilização de tal equipamento, sendo a sua remoção (36,8%) e o embaciamento dos óculos de proteção, com prejuízo para a visão (19,7%) os mais citados.

**Quadro V – Principais dificuldades encontradas no uso do Equipamento de Proteção Individual (n=76).\***

Dificuldades no uso do equipamento	Total (número)	Total (%)
Retirar equipamento	28	36,8
Embaciamento dos óculos de proteção com redução da visão	15	19,7
Dificuldade na mobilidade	11	14,5
Calor dentro do equipamento	9	11,8
Desconforto com utilização prolongada	9	11,8
Colocação muito demorada do equipamento	8	10,5
Colocar e retirar inúmeros pares de luvas	4	5,3
Respiração dificultada pelo uso de máscara	3	3,9
Stress pela situação <i>per si</i>	3	3,9
Espaços físicos não preparados, nomeadamente falta de espelho para auxiliar na colocação do EPI	2	2,6
Sem resposta	12	15,8

\*Só os profissionais que já tiveram formação em EPI responderam a esta questão, num total de 76. A questão foi colocada de forma aberta, dando a possibilidade aos profissionais de responderem tudo aquilo que achavam pertinente.

Em relação ao sentimento de segurança com o uso do equipamento, 14,0% afirmou não se sentir seguro e 31,8% não tinha a certeza. Já 15,8% considerou-o eficaz se bem colocado e se existir uma boa supervisão. Para 9,2% é necessária uma maior preparação, com mais tempo de treino e contacto com o equipamento.

### **Doenças adquiridas no local de trabalho**

Solicitámos aos participantes que ordenassem por ordem de preocupação as seguintes doenças que se podem adquirir no local de trabalho - tuberculose, VIH, hepatite B, hepatite C, Ébola, varicela e infeção por bactérias multirresistentes. Os resultados obtidos mostraram que a mais preocupante para os profissionais de saúde é a infeção por vírus Ébola (28,1%), logo seguida pela tuberculose (25,4%) e por VIH (21,9%). Pelo contrário, aquela que menos preocupa os participantes é a varicela (considerada a menos relevante por 67,5%).

### **/ Discussão**

Este estudo procurou perceber quais os conhecimentos e receios dos profissionais de saúde acerca da DVE. O que podemos registar é que os profissionais envolvidos estão, relativamente, bem informados, quanto às formas de transmissão e apresentação da doença. 97,4% afirmou que a infeção é transmitida por contacto direto com fluidos corporais e 78,9% pelo contacto com cadáveres infetados. No entanto, 8,8% dos inquiridos acredita que a infeção pode ser transmitida por via aérea (a distância superior a 1m), sendo que 9,8% dos médicos partilha, também, desta crença, o que não é verdade, como é corroborado por diversos estudos, que afirmam não existir disseminação pelo ar, entre humanos.<sup>8-10</sup> De referir que 44,7% dos intervenientes não considerou ser possível que a infeção se transmita por picada acidental com agulha, o que é relevante, tendo em conta o trabalho de risco destes profissionais. É de salientar que 60% dos assistentes operacionais não tem esta forma de transmissão em consideração.

Como referido por Chippaux<sup>9</sup> e, previamente, citado por Casillas *et al*,<sup>1</sup> o vírus persiste nas secreções genitais durante 13 semanas após a recuperação, daí que durante a fase de convalescença possa ser, ainda, transmissível através de relações sexuais. Apesar disto, apenas 27,2% pareceu saber que durante a fase de convalescença é, ainda, possível a transmissão do vírus, sendo que, de novo, os assistentes operacionais são o grupo menos informado, pois apenas um selecionou a opção.

Os principais sintomas apontados à DVE foram a febre (97,4%), diarreia (73,7%), hemorragias internas ou externas (72,8%), náuseas e vômitos (69,3%). Quanto ao que ocorre com mais frequência 5,3% referiu as hemorragias, o que pode estar associado à forma como, mais vezes, a doença é retratada - como algo que se manifesta por hemorragias exuberantes em todos os orifícios corporais. No entanto, segundo vários estudos estas estão presentes em menos de 50% dos indivíduos infetados e aparecem, sobretudo, em fases tardias da doença.<sup>2,3,8</sup>

Não está, ainda, disponível um tratamento específico para a DVE, e 84,2% dos participantes esteve a par dessa situação. No entanto, 10,5% afirmou estar disponível a terapêutica antivirica para DVE. Esta situação pode dever-se a várias causas, nomeadamente à falta de informação ou à confusão entre tratamento específico e terapias experimentais e de suporte que têm sido utilizadas. É interessante comparar com os dados obtidos por McCarthy<sup>7</sup> no seu estudo nos EUA, em que 33% dos participantes acredita que existe tratamento específico. Esta diferença de valores pode ser explicada pelo grupo alvo, pois ao contrário do nosso estudo, aquele, nos EUA, foi aplicado a uma amostra da população em geral, que tenderá a ter menos conhecimentos do que os profissionais de saúde.

Como referido no estudo de Bogoch *et al*,<sup>11</sup> com frequência é apontada a necessidade de fechar fronteiras e restringir voos de e para as áreas afetadas, para conter a epidemia. No entanto, e apesar de esta opinião ser partilhada por 75,9% dos inquiridos [da qual 27 (69,2%) médicos e 55 (79,7%) não médicos, mas sem diferenças, estatisticamente, significativas entre os dois grupos], tais medidas não foram recomendadas pela OMS. As razões para que tais medidas não sejam aplicadas passam por aquelas que os participantes referiram - a falta de direito para condicionar a liberdade dos outros (11,5%) e o agravamento da situação social e económica das populações afetadas (15,4%). O isolamento destas populações traria mais efeitos nocivos, com deterioração dos cuidados de saúde e da economia, já de si vulnerável nesta região do globo.<sup>3,11</sup> Por esta razão, outras medidas têm sido implementadas (e foram defendidas por 7,7% dos nossos participantes), de forma a não isolar, ainda mais, os países afetados, mas, ao mesmo tempo, tentando evitar a entrada de doentes noutras áreas do planeta. Tais medidas incluem o rastreio de sintomas nos aeroportos, sobretudo pela pesquisa da febre, mas, também, pela informação disponibilizada aos viajantes nos aeroportos e fronteiras e pela sensibilização e orientação das tripulações aéreas, para estarem alerta e prestarem esclarecimentos, quando necessário.<sup>12,13</sup>

Apenas uma pequena percentagem dos profissionais de saúde envolvidos neste estudo (15,2%) estaria disposta a voluntariar-se para combater a DVE, nos países afetados. Esta parece-nos uma percentagem baixa, podendo resultar da imagem negativa e indutora de medo, difundida pelos meios de comunicação social, e mostrar-se um problema face à escassez de profissionais no terreno. Seria importante conhecer a taxa de voluntariado noutros casos, de forma a ser possível inferir conclusões específicas relativamente à DVE. Apenas três participantes referiram receio de serem contaminados, os restantes apontaram, sobretudo, questões pessoais e profissionais, a existência de filhos menores e a falta de conhecimentos necessários para ajudar no combate à doença.

A maioria dos participantes cancelaria uma viagem para um dos países afetados, no entanto 26,8%, também, o faria para qualquer outra parte de África, o que demonstra um certo receio infundado e uma visão redutora sobre o continente africano.

Dos indivíduos inquiridos, apenas 14,0% considerou provável um surto de DVE, em Portugal. Estes dados não são, de novo, consistentes com aqueles que McCarthy encontrou no seu estudo, onde 39% da sua amostra teme um surto de DVE, nos EUA. Esta diferença pode ser explicada, também, pela natureza da população alvo, como fica demonstrado pelo facto deste valor se elevar para 50% daquela que tem menor escolaridade.<sup>7</sup>

Um facto preponderante é que, entre aqueles que consideraram provável um surto em Portugal, nenhum considera que a doença se propagará apenas pelos profissionais de saúde, apesar de serem estes a prestar cuidados diretos, estando em maior risco de infeção. Segundo um estudo realizado durante o presente surto, na Serra Leoa, esse risco entre os profissionais de saúde é cerca de 100 vezes superior ao da comunidade em geral.<sup>14</sup> No presente trabalho, 87,5% referiu que o surto poderia propagar-se entre os profissionais de saúde e a população em geral, não sendo possível determinar se considerava que a doença se disseminaria a partir do hospital, ou dentro da comunidade, afetando depois os profissionais.

Os principais receios apontados, face à transmissão de vírus Ébola, foram o contágio dos seus familiares (75,4%) e infetar-se (72,8%). Foi pequena a percentagem (5,3%) que referiu o estigma social, como algo que os preocupasse. Mas, este estigma social é uma das principais preocupações daqueles que estão nas áreas afetadas, como é demonstrado pelo estudo de De Roo *et al*<sup>15</sup> onde 21% dos participantes tinha receio de ser estigmatizado pelos vizinhos e 15% tinha mesmo vergonha de poder adoecer, pois, culturalmente, a doença é, muitas vezes, vista como algo de sobrenatural, sendo aceite que se queimem bens e casas de afetados e se abandonem crianças, que com eles contactaram. Ainda neste estudo, de De Roo *et al* 53% afirmou ter medo de morrer, enquanto dentro dos nossos participantes, apenas, 39,5% documentou esse receio. Esta pequena diferença pode relacionar-se com o distanciamento real que os portugueses têm da doença em contraste com a realidade dos países que com ela se deparam.

Das três grávidas, participantes no estudo, apenas uma revelou que isso lhe trazia preocupação acrescida face a vírus Ébola. A amostra é pequena e, portanto, uma forte limitação para se tirarem conclusões, mas é necessário referir que esta infeção, por regra, provoca abortamento nas mulheres grávidas.<sup>9</sup>

Apesar de 22,8% ter afirmado que ficaria muito preocupada e ansiosa com a possibilidade de um caso num profissional de saúde no CHSJ, e de dois participantes admitirem a hipótese de absentismo, estes profissionais sentem-se na globalidade bem preparados e sem alarmismos desnecessários. Grande parte referiu que reagiria normalmente, tomando as devidas precauções e seguindo os protocolos adequados (43,0%). Sendo importante que a calma e normalidade sejam sempre mantidas, para isso em muito contribui uma relação de transparência e comunicação prestada pela instituição hospitalar, que foi considerada por 71,1% como uma fonte importante de informação e é, também, uma

medida defendida por outros autores, que demonstram que com mais treino e informação o receio entre os profissionais de saúde diminui e permite prestar melhores cuidados.<sup>3,16</sup>

Relativamente aos 68,5% dos profissionais de saúde que havia tido formação em EPI, as principais dificuldades que estes apontaram na sua utilização foram a remoção do equipamento (36,8%) e o embaciamento dos óculos de proteção (19,7%). Esta última preocupação é, também, corroborada pelos profissionais no terreno. No estudo de Raabe *et al*<sup>17</sup> é isto mesmo que os profissionais de saúde envolvidos no surto no Uganda em 2000 referem - a maioria (21 em 28) descreve a utilização dos óculos como desconfortável e dificultando a visão e a mobilidade, devido ao embaciamento, enquanto os membros da comunidade consideram que prejudicam a comunicação, tornando difícil o reconhecimento dos profissionais.

Apesar da elevada taxa de profissionais que havia tido formação em EPI, 9,2% considerou que é necessária, ainda, maior preparação, com possibilidade para repetir e treinar o processo de colocação e remoção do equipamento. Este é um ponto vital, pois é essencial que os profissionais tenham tido contacto com o EPI, estejam confortáveis com a sua utilização, forma de colocação e remoção e saibam onde este se encontra, em caso de necessidade.<sup>18</sup>

Em relação às doenças profissionais, para as quais estão em constante risco de aquisição através da sua profissão, a que maior preocupação traz aos profissionais é a DVE (28,1%). Este valor parece-nos alto, tendo em conta a baixa probabilidade de ocorrência no nosso País, no entanto a gravidade da patologia e o alarme social podem explicar estes dados. À parte da DVE, a tuberculose (25,4%) e a infeção por VIH (21,9%) são as mais temidas. A primeira poderá estar relacionada com a incidência da doença na área geográfica do centro hospitalar em causa e a facilidade de transmissão (via aérea). A segunda, decerto por ser uma doença grave, sem cura e, também, ela, ainda, muito associada a um forte estigma social. No lado oposto está a varicela, tendo sido considerada a de menor preocupação por 77 dos 114 inquiridos (67,5%), o que é explicável tendo em conta a natureza, em geral, benigna associada a esta patologia e o facto da maioria das pessoas a ter tido na infância e estar imune.

Apesar dos resultados obtidos, é fundamental salientar as principais limitações deste estudo. Em primeiro lugar a amostra não é representativa da totalidade dos profissionais, eventualmente envolvidos na resposta a vírus Ébola. Para além disto, a população é heterogénea, pois uma parte havia já tido acesso a formação em EPI, onde vários aspetos da doença foram discutidos, e outra não. Este facto não foi tido em consideração na análise. Futuramente, seria, também, uma mais-valia aplicar um questionário similar à população em geral e promover um estudo comparativo com as respostas dos profissionais de saúde.



## / Conclusão

Este estudo demonstra que a globalidade dos profissionais de saúde do CHSJ, hospital de referência para o controlo da DVE, estão bem informados sobre a doença, o modo de transmissão, os sintomas e a possibilidade de tratamento. No entanto, é de salientar que cerca de 9% dos participantes considera possível a transmissão por via aérea, que aproximadamente 11% pensa existir tratamento específico e que as hemorragias são tidas como uma manifestação clínica predominante.

No que concerne a aspetos sociais, grande parte dos participantes tem a convicção desajustada de que fechar fronteiras e restringir voos é a melhor forma de controlar a doença, ao mesmo tempo que são muito poucos aqueles que estariam dispostos a colaborar no terreno para combater a propagação da infeção.

Apesar dos receios relacionados com a doença apenas dois profissionais admitiram que se refugiariam em casa, recusando assistir um paciente com Ébola.

Grande parte dos participantes que teve contacto com EPI considera-o seguro, mas desconfortável e de difícil colocação e remoção e 9% refere ser necessária maior preparação.

A DVE é vista como uma doença profissional preocupante, mas não de forma concordante com a sua probabilidade de ocorrência.

A informação e a formação prestadas a estes profissionais de saúde devem manter-se, sempre, atualizadas e isto mesmo é percecionado pelos próprios como necessário. Esta é a única forma de ter colaboradores preparados para darem uma assistência eficaz, minimizando os riscos de contágio.

## / Bibliografia

- 1 Ki M. What do we really fear? The epidemiological characteristics of Ebola and our preparedness. *Epidemiol Health* 2014;36:e2014014.
- 2 Hall RC, Hall RC, Chapman MJ. The 1995 Kikwit Ebola outbreak: lessons hospitals and physicians can apply to future viral epidemics. *Gen Hosp Psychiatry* 2008;30(5):446-52.
- 3 Hewlett BL, Hewlett BS. Providing Care and Facing Death: Nursing During Ebola Outbreaks in Central Africa. *J Transcult Nurs* 2005;16(4):289-97.
- 4 Tseng C-P, Chan Y-J. Overview of Ebola virus disease in 2014. *JCMA* 2015;78(1):51-5.
- 5 Ebola virus disease, West Africa – update 8 August 2014. 2014. (Accessed 22 Feb, 2015, at <http://www.who.int/>)  
World Health Organization. Ebola Situation Report – 4 March 2015.2015.
- 6 McCarthy M. Four in 10 US people fear large outbreak of Ebola. *BMJ* 2014;349:g5321.
- 7 Chippaux J-P. Outbreaks of Ebola virus disease in Africa: the beginnings of a tragic saga. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2014;20(1):44.
- 8 Casillas AM, Nyamathi AM, Sosa A, Wilder CL, Sands H. A current review of Ebola virus: pathogenesis, clinical presentation, and diagnostic assessment. *Biol Res Nurs* 2003;4(4):268-75.
- 9 Martin-Moreno JM, Llinás G, Hernández JM. Is respiratory protection appropriate in the Ebola response? *Lancet* 2014;384(9946):856.
- 10 Bogoch II, Creatore MI, Cetron MS, Brownstein JS, Pesik N, Miniota J et al. Assessment of the potential for international dissemination of Ebola virus via commercial air travel during the 2014 west African outbreak. *Lancet* 2015;385(9962):29-35.
- 11 Frieden TR, Damon I, Bell BP, Kenyon T, Nichol S. Ebola 2014--new challenges, new global response and responsibility. *N Engl J Med* 2014;371(13):1177-80.
- 12 Karwowski MP, Meites E, Fullerton KE, Ströher U, Lowe L, Rayfield M et al. Clinical inquiries regarding Ebola virus disease received by CDC--United States, July 9--November 15, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014;63(49):1175-1179.
- 13 Kilmarx PH, Clark KR, Dietz PM, Hamel MJ, Husain F, McFadden JD et al. Ebola virus disease in health care workers--Sierra Leone, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014;63(49):1168-1171.
- 14 Roo Ad, Ado B, Rose B, Guimard Y, Fonck K, Colebunders R. Survey among survivors of the 1995 Ebola epidemic in Kikwit, Democratic Republic of Congo: their feelings and experiences. *Trop Med Int Health* 1998;3(11):883-885.
- 15 Dynes MM, Miller L, Sam T, Vandi MA, Tomczyk B. Perceptions of the risk for ebola and health facility use among health workers and pregnant and lactating women - kenema district, sierra leone, september 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;63(51):1226-1227.
- 16 Raabe VN, Mutyaba I, Roddy P, Lutwamae JJ, Geisslera W, Borcherta M. Infection control during filoviral hemorrhagic fever outbreaks: preferences of community members and health workers in Masindi, Uganda. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010;104(1):48-50.
- 17 Centers for Disease Control and Prevention. Guidance on Personal Protective Equipment To Be Used by Healthcare Workers During Management of Patients with Ebola Virus Disease in U.S. Hospitals, Including Procedures for Putting On (Donning) and Removing (Doffing). 2015.



ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

## Rastreamento serológico da hepatite A numa consulta do viajante – experiência do Hospital Garcia de Orta

## Serological screening of hepatitis A in a travel consultation – experience at Garcia de Orta Hospital

/ Ana Catarina Guerra<sup>1</sup> / Maria João Aleixo<sup>2</sup>  
/ Cristina Varela<sup>3</sup> / Isabel Remédios<sup>3</sup>  
/ Rita Nóbrega<sup>3</sup> / Ana Lemos<sup>4</sup>  
/ Maria João Aguas<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Interna em Formação Específica de Infeciologia;

<sup>2</sup> Assistente Hospitalar Graduada em Infeciologia;

<sup>3</sup> Enfermeira da Consulta do Viajante  
– Consulta Externa;

<sup>4</sup> Assistente Hospitalar Graduada de Patologia Clínica  
– Laboratório de Imunologia;

<sup>5</sup> Chefe de Serviço de Infeciologia.

Consulta do Viajante – Serviço de Infeciologia do  
Hospital Garcia de Orta, E.P.E.

Correspondência:

**Ana Catarina Guerra**

Serviço de Infeciologia,  
Hospital Garcia de Orta E.P.E.;  
Av. Torrado da Silva, 2801-951 Almada  
e-mail: anacatguerra@gmail.com

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por  
qualquer entidade

Artigo recebido em  
22/07/2015

Artigo aceite para publicação em  
09/09/2015

### / Resumo

**Introdução:** A prevalência da hepatite A varia com as condições socioeconómicas e sanitárias. Em Portugal, nos últimos 35 anos, a seroprevalência global diminuiu e sofreu um desvio para faixas etárias mais elevadas.

**Objetivo:** Definir a adequabilidade dos preditores de imunidade para hepatite A (IgG-VHA+) conhecidos e analisar a efetividade da análise serológica prévia à vacinação.

**Métodos:** Analisou-se retrospectivamente a prevalência de IgG-VHA+ numa amostra de viajantes que recorreu à consulta entre 2010-2015. Rastreamento de indivíduos com indicação para imunização contra a hepatite A, assintomáticos e com  $\geq 1$  critérios:  $\geq 40$  anos, naturalidade ou estadia prolongada em países endémicos ou vacinação prévia com esquemas irregulares. Avaliou-se a associação estatística entre fatores demográficos, epidemiológicos e laboratoriais.

**Resultados:** Incluíram-se 271 viajantes, com idade média de 42,7 anos, dos quais 55,7% do sexo masculino; 35,8% eram oriundos de países endémicos para hepatite A; 17,0% tinham exposição prévia à vacina. Obteve-se IgG-VHA+ em 73,1%. Verificou-se associação com significado estatístico entre IgG-VHA+, origem em países endémicos ( $p=0,002$ ) e  $\geq 50$  anos ( $p=0,004$ ).

**Conclusões:** Nesta amostra,  $\geq 50$  anos e origem em países endémicos são preditores de imunidade para a hepatite A, parecendo ser vantajoso pesquisar IgG-VHA antes de recomendar a vacinação neste grupo. São necessários mais estudos de seroprevalência em Portugal para atualizar indicações da vacina e rastreio serológico prévio.

**Palavras-chave:** hepatite A, vacina, rastreio serológico

### / Abstract

**Introduction:** Prevalence of A hepatitis is influenced by the socio-economic and health conditions. In the last 35 years, in Portugal, global prevalence decreased and suffered a detour to older age groups. Objective: To set the suitability of the immunity predictors of hepatitis A (HAV-IgG +) and analyze the effectiveness of serological test prior to vaccination. Methods: Retrospective study of IgG-HAV+ prevalence in a sample from the travel consultation of Garcia de Orta Hospital between 2010-2015. Included subjects had to have indication for immunization against hepatitis A, being asymptomatic and at least 1 additional criteria: age  $\geq 40$  years old, nationality or residency in endemic countries or previous vaccination with irregular schedules. Statistical relationship between demographic, epidemiological and laboratorial factors was evaluated. Results: 271 travelers were included, with mean age of 42.7 years; 55.7% were male; 35.8% were born in endemic countries for hepatitis A; 17% had prior exposure to vaccine. HAV-IgG+ was obtained in 73.1%. There was a statistical association between IgG-HAV+, provenience from endemic countries and age  $\geq 50$  years. Conclusions: In this sample, age  $\geq 50$  years and rise in endemic countries are predictors of immunity to hepatitis A. It seems to be advantageous to search IgG-HAV before recommending vaccination in this group. Further studies are needed about hepatitis A seroprevalence in Portugal to update indications of the vaccine and prior serological screening.

**Key-words:** hepatitis A vaccine, serological screening

### / Introdução

A hepatite A é causada por um vírus de ácido ribonucleico (ARN) da família Picornaviridae<sup>1</sup>, transmitido principalmente por via fecal-oral, através da ingestão de alimentos e água contaminados, mas também por contacto direto com uma pessoa infetada<sup>2</sup> e, excepcionalmente, por via sanguínea ou vertical<sup>1</sup>. É a principal causa de hepatite vírica no mundo<sup>1</sup>; a sua incidência está fortemente relacionada com indicadores socioeconómicos, acesso a água potável e condições adequadas de saneamento<sup>2</sup>.

Após ingestão, o vírus da hepatite A (VHA) penetra na mucosa do tubo digestivo e entra em circulação através do sistema de circulação porta. Ao contrário de outros vírus com elevado tropismo para o fígado, VHA não tem um efeito citopático. O mecanismo de lesão hepática parece ser mediado imunologicamente<sup>1,2</sup>.

O quadro clínico relaciona-se com a idade, sendo a infeção assintomática em cerca de 70% das crianças com menos de 6 anos<sup>3</sup>, mas cursando com sintomas prolongados e por vezes recorrentes na maioria dos adultos. Em mais de 99% dos casos a infeção aguda resolve-se completamente<sup>2</sup>. A hepatite fulminante é rara, ocorrendo sobretudo em indivíduos imunodeprimidos ou com

doença hepática crónica<sup>2</sup>. Não existe um tratamento específico e a abordagem terapêutica consiste no suporte dos sintomas<sup>1</sup>. O controlo da infeção nos países desenvolvidos tem resultado da melhoria das condições sanitárias e de salubridade, mas também da vacinação. Dado que o ser humano é o único reservatório do vírus, a erradicação da doença é possível através da vacinação<sup>2</sup>.

Em Portugal existe a vacina monovalente contra a hepatite A, aprovada acima dos 12 meses de idade, e a vacina combinada contra hepatite A e hepatite B, aprovada acima dos 17 anos. Ambas são inativadas, equivalentes, seguras e não interferem com outras vacinas vivas ou inativadas<sup>2,4</sup>. No caso da vacina monovalente, os ensaios clínicos revelaram uma taxa de imunogenicidade superior a 95% quatro semanas após a primeira dose e praticamente 100% após a segunda dose<sup>2,4</sup>. Os resultados de eficácia da vacina combinada são sobreponíveis<sup>2</sup>. A tabela 1 sumaria as indicações de administração de cada uma.

À data de redação deste artigo nenhuma das vacinas está incluída no Programa Nacional de Vacinação (PNV). De acordo com as recomendações da Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), todas as crianças entre os 12 e 23 meses deveriam ser vacinadas<sup>4</sup>. Outras indicações são a estadia temporária ou

residência em países de endemicidade elevada ou intermédia, homens que têm sexo com homens, utilizadores de drogas recreativas, situações de risco profissional ou de surto, doença hepática crónica ou distúrbios da coagulação<sup>1,4</sup>.

O melhor método para avaliação da situação epidemiológica de um país relativamente à hepatite A é o estabelecimento da seroprevalência por faixa etária, quantificada através da deteção de anticorpos tipo Imunoglobulina-G (IgG)<sup>2</sup>. Esta medida permite determinar a suscetibilidade de um grupo etário para novas infeções e compreender o desvio do risco de infeção para faixas etárias mais avançadas que não foram expostas ao vírus na infância<sup>2</sup>.

Os primeiros estudos serológicos de prevalência em Portugal foram realizados pelo Professor Lecour no início dos anos 80<sup>5</sup>, estimando que 84,5% da população geral e 93,4% dos indivíduos com idade inferior a 20 anos estavam imunizados para a hepatite A. Nesta altura Portugal era considerado um país de elevada endemicidade. Cerca de 20 anos mais tarde, o 2º inquérito serológico nacional de avaliação do programa nacional de vacinação realizado entre 2001 e 2002 mostrou um desvio da seroprevalência acima de 90% para as faixas etárias acima dos 40 anos<sup>6</sup>. Estes resultados permitiram concluir que o rastreio serológico prévio à vacinação tinha uma boa relação custo-benefício a partir dos 40 anos<sup>7</sup>.

Posteriormente foram realizados outros estudos com amostras de regiões do país, mas que não permitem estender conclusões a nível nacional. Tendo em conta a variação das condições socioeconómicas e o impacto da vacinação nos últimos 15 anos, impõe-se a necessidade de atualizar os dados a nível nacional,

determinar fatores preditores de imunidade para a hepatite A e rever as indicações em que o rastreio serológico é vantajoso.

O objetivo primário deste trabalho foi a definição da adequabilidade dos preditores de imunidade para hepatite A (IgG-VHA+) conhecidos e avaliar a efetividade da análise serológica prévia à vacinação numa amostra da região de Lisboa e Vale do Tejo.

## / Métodos

Análise retrospectiva do resultado da serologia para a hepatite A numa amostra de indivíduos que recorreram à consulta do viajante no Hospital Garcia de Orta desde o seu início, no segundo semestre de 2010, até ao primeiro semestre de 2015. Todos estavam assintomáticos no momento da consulta e tinham indicação para vacinação contra hepatite A pelo destino e características da viagem. Foram testados viajantes com pelo menos uma das características: idade  $\geq 40$  anos, residência prévia ou estadia prolongada em países de endemicidade para a hepatite A elevada a moderada (África, Sul da Ásia, América do Sul, Europa de Leste<sup>2</sup>), vacinação prévia com esquemas irregulares (1 dose de vacina monovalente ou duas doses com mais de 18 meses de intervalo; 1 dose de vacina combinada ou 2 com mais de 6 meses de intervalo).

Avaliaram-se características demográficas como idade, género, origem e local de residência, exposição à vacina (tipo de vacina e número de doses) e a imunidade para a hepatite A, definida como IgG positiva para a hepatite A (IgG-VHA+).

**Tabela 1 – Características de administração de vacinas contra a hepatite A disponíveis em Portugal<sup>4</sup>**

Vacina inativada	Marca	Dose	Administração	Esquema	Esquema acelerado	
Monovalente (contra hepatite A)	Havrix®	Crianças ( $\geq 12M$ )	0,5mL	intramuscular	1ª dose: 0M	NA
		Adultos ( $\geq 18A$ )	1,0mL		2ª dose: 6-12M	NA
	Vaqta®	Crianças ( $\geq 12M$ )	0,5mL	intramuscular	1ª dose: 0M	NA
		Adultos ( $\geq 18A$ )	1,0mL		2ª dose: 6-18M	NA
Combinada (contra hepatite A e B)	Twinrix®	Adultos ( $\geq 17A$ )	intramuscular	1ª dose: 0M	1ª dose: 0	
				2ª dose: 1M	2ª dose: 7D	
				3ª dose: 6M	3ª dose: 21D (reforço aos 12M)	

A – anos; M – meses; D – dias; NA – não aplicável;

Os dados foram analisados em Excel® (versão 2010) e SPSS® (versão 21). Foi pesquisada a associação entre IgG-VHA+ e o tipo de vacina, número de doses, tempo desde a última dose de vacina, naturalidade, género e idade, através do teste Qui-quadrado. A tabela 2 explicita a forma como as variáveis foram dicotomizadas. Em seguida foi realizada uma análise multivariada (regressão logística) para determinar os fatores independentes para IgG-VHA+.

## / Resultados

Foram incluídos 271 viajantes, dos quais 151 (55,7%) eram do sexo masculino. A idade média da amostra era 42,7 (5-73) anos, distribuindo-se por faixa etária segundo o gráfico 1. A maioria tinha naturalidade portuguesa (172/63,5%) e provinha dos distritos de Lisboa (51/29,7%) e Setúbal (114/66,3%). Os restantes eram predominantemente oriundos de países africanos (84/31,0%; ver gráfico 2); a mediana do tempo de residência em Portugal foi 20,0 (3-46) anos.

Em 230 (84,9%) casos não havia exposição prévia à vacina; 29/10,7% tinham 1 dose de vacina monovalente; 4/1,5% tinham 2 doses de vacina monovalente com esquema irregular; 3/1,1% tinham 1 dose de vacina combinada; 3/1,1% tinham 2 doses de vacina combinada; em 2/0,7% casos não foi possível clarificar a situação vacinal. A distribuição por faixa etária dos viajantes com esquema de vacinação irregular está representada no gráfico 1, verificando-se que a maioria tinha entre 20 e 29 anos (19/48,7%); a mediana do tempo desde a última dose de vacina foi 4 (0-15) anos.

O resultado da serologia foi positivo em 198 (73,1%) indivíduos.

Na tabela 3 representa-se o resultado da aplicação do teste Qui-quadrado e da análise multivariada. Apenas se encontrou uma relação estatisticamente significativa entre idade  $\geq 50$  anos ( $p=0,003$ ) e naturalidade ( $p=0,004$ ), que se revelaram fatores independentes para IgG-VHA+ ( $p=0,002$  e  $p=0,001$ , respetivamente).

Tabela 2 – Dicotomização de variáveis

Variáveis	Dicotomização
Imunidade	IgG positiva vs IgG negativa
Tipo de vacina	Monovalente vs Combinada
Número de doses no esquema irregular	Uma vs Duas
Naturalidade	Países de elevada a moderada endemicidade vs baixa endemicidade
Faixa etária	$\leq 40$ anos vs $> 40$ anos
	$\leq 50$ anos vs $> 50$ anos
Género	Masculino vs Feminino

Tabela 3 – Resultado da aplicação do teste Qui<sup>2</sup>

Variáveis	Teste Qui-quadrado	Análise multivariada
Tipo de vacina	$p=0,564$	-
Número de doses no esquema irregular	$p=1,000$	-
<b>Naturalidade</b>	<b><math>p=0,002</math></b>	<b><math>p=0,001</math></b>
Faixa etária $\geq 40$ anos	$p=0,681$	-
<b>Faixa etária <math>\geq 50</math> anos</b>	<b><math>p=0,004</math></b>	<b><math>p=0,003</math></b>
Género	$p=0,582$	-

Gráfico 1: Distribuição da amostra por faixa etária, respetiva proporção com imunidade para hepatite A e com esquema de vacinação irregular

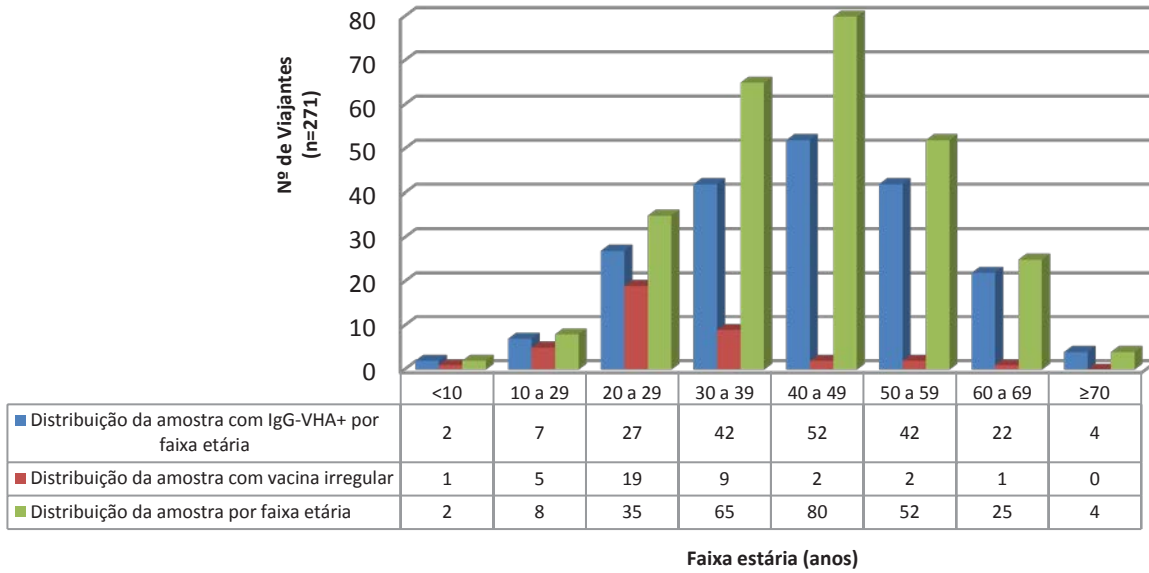
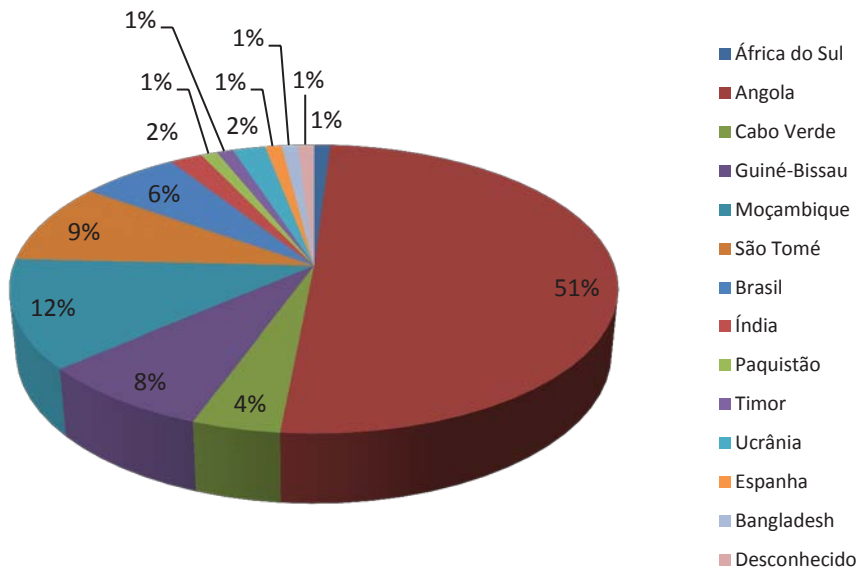


Gráfico 2: Países de origem dos viajantes imigrados em Portugal



## / Discussão

Conforme se observa na tabela 4, nos últimos 35 anos foram realizados em Portugal vários estudos de seroprevalência da hepatite A por faixa etária. Tem-se verificado uma diminuição global da prevalência de anticorpo anti-VHA ao longo dos anos, em relação com a melhoria das condições socioeconómicas e higieno-sanitárias do país. Consequência disto, observa-se também um desvio das percentagens mais elevadas de seroprevalência para idades mais avançadas. Por outro lado, a introdução da vacina em Portugal parece ser responsável por um aumento da prevalência de anticorpo anti-VHA nas faixas etárias mais jovens; de acordo com o 2.º inquérito de prevalência serológico nacional, a prevalência de IgG-VHA+ nas crianças da faixa etária dos 5 aos 9 anos era aproximadamente 20% versus 9,9% na faixa etária dos 10 aos 14 anos<sup>6</sup>. Outra importante conclusão deste relatório foi que o rastreio serológico prévio à vacinação só tinha vantagem a partir dos 40 anos de idade<sup>6,7</sup>.

Este trabalho pretendeu perceber a adequação desta indicação à população que recorre à consulta do viajante do Hospital Garcia de Orta. Apesar dos utentes desta consulta não estarem limitados a uma área de referência específica, verifica-se que a maioria reside na área de Lisboa e Vale do Tejo. Uma proporção

significativa (35,8%) tem origem em países de elevada a moderada endemicidade, sobretudo países africanos de língua portuguesa, que viajam para visitar familiares nos países de origem.

Nesta amostra, 73,1% tinha IgG-VHA+, o que significa que na maioria dos casos se evitou uma imunização desnecessária e o rastreio serológico foi vantajoso.

De entre os fatores preditores de imunidade para a hepatite A, apenas a faixa etária  $\geq 50$  anos (e não a faixa etária  $\geq 40$  anos) e a origem em países endémicos mostraram uma relação estatística e independente com IgG-VHA+. Ainda que estes resultados apenas se refiram a uma população maioritariamente urbana da região de Lisboa e Vale do Tejo e não possam ser generalizados a outras regiões do país, sugerem a continuação do desvio de valores seroprevalência mais elevados para faixas etárias mais avançadas.

Dadas as características de eficácia e de segurança da vacina contra a hepatite A, salienta-se a necessidade de um estudo de seroprevalência mais atual e alargado em Portugal que defina indicações precisas para a vacina ou mesmo a pertinência da introdução da vacina contra a hepatite A no Programa Nacional de Vacinação, com vista à erradicação da doença em Portugal.

**Tabela 4: Síntese de alguns estudos de seroprevalência para hepatite A realizados em Portugal**

Estudo	Ano	Descrição
Lecour H. <i>et al</i> <sup>5</sup>	1981	Rastreio serológico a 1770 indivíduos saudáveis de todas as províncias de Portugal Continental. Seroprevalência de 84,9%. Sem diferenças significativas entre as diferentes províncias.
Marinho R. <i>et al</i> <sup>8</sup>	1992	Rastreio serológico a 526 indivíduos da região de Lisboa, dos quais 325 profissionais de saúde (média de idade 40,1 anos) e 201 estudantes de medicina (média de idade 20,7 anos). Seroprevalência de 86,4% e 35,3% respetivamente.
Leitão S. <i>et al</i> <sup>9</sup>	1995	Rastreio serológico a 694 indivíduos, 308 provenientes de área urbana e 386 de área rural da zona de Coimbra. Seroprevalência global de 81,4%.
Cunha I. e Antunes H. <sup>10</sup>	1996	Rastreio serológico a 381 indivíduos da região de Braga; identificação de seroprevalência por faixa etária numa população do Norte do país. Seroprevalência de 85,5% entre os 20-29 anos.
Barros H. <i>et al</i> <sup>11</sup>	1996	Rastreio serológico a 667 crianças e adolescentes com menos de 19 anos da região do Porto. Seroprevalência de 28,8%.
Lecour H. <i>et al</i> <sup>12</sup>	1996	Rastreio serológico a 1161 adolescentes (seroprevalência de 29,7%) e 881 adultos (seroprevalência de 71,6%) da região Norte do país.
2.º Inquérito serológico nacional <sup>6</sup>	2001 e 2002	Rastreio serológico a 1665 indivíduos de todos os distritos de Portugal Continental. Seroprevalência de 57,7%.
Antunes H., Macedo M., Estrada A. <sup>13</sup>	2004	Rastreio serológico a 64 crianças de 5 anos (seroprevalência 1,6%), 76 crianças de 8 anos (seroprevalência 3,9%) e 311 crianças de 6 meses a 14 anos da zona de Braga (seroprevalência 32,5%).
Valadas E. <i>et al</i> <sup>14</sup>	2007	Rastreio serológico a indivíduos seropositivos para VIH e não vacinados da região de Lisboa. Seroprevalência global de 77%.
Speidel. <i>et al</i> <sup>15</sup>	2010	Rastreio serológico de 935 indivíduos da região Centro de Portugal. Seroprevalência de 66,0%.



## / Bibliografia

1. Wasley A, Feinstone SM, Bell BP. Hepatitis A Virus. Em: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2010. P 2367-87.
2. WHO position paper on hepatitis A vaccines – June 2012. Weekly epidemiological record. N<sup>o</sup> 28-29, 87, P 261-76.
3. Sharapov UM, Teshale EH. Centers for Disease Control and Prevention. Health Information for International Travel 2014. Hepatitis A. P 182-5.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases, 13<sup>th</sup> Edition. Hepatitis A.
5. Lecour H. Hepatite vírica: epidemiologia e diagnóstico [Tese de Doutoramento]. Porto: o Autor; 1983.
6. Rodrigues I, Barreiro P. AVALIAÇÃO DO PROGRAMA NACIONAL DE VACINAÇÃO – 2<sup>o</sup> Inquérito Serológico Nacional Portugal Continental 2001-2002. Ministério da Saúde, Direção-Geral da Saúde 2006. P 113-22.
7. Antunes H, Cunha F. Ata Pediatr Port 2007; 38(6): 268-70.
8. Marinho RT, Valente AR, Ramalho FJ, Moura MC. The changing epidemiological pattern of hepatitis A in Lisbon, Portugal. Eur J Gastroenterol Hepatol 1997; 9: 795-7.
9. Leitão S, Santos RM, Santos JC et al. Hepatitis A prevalence in rural and urban Portuguese populations. Eur J Intern Med 1996; 7: 119-21.
10. Cunha I, Antunes H. Prevalência do anticorpo contra o vírus da hepatite A numa população do Norte de Portugal. Ata Med Port 2001; 14: 479-82.
11. Barros H, Oliveira F, Miranda H. A survey on hepatitis A in Portuguese children and adolescents. Journal of Viral Hepatitis 1999; 6: 249-53.
12. Lecour H, Santos I, Granjeira L et al. Prevalência de marcadores da hepatite A e da hepatite E na população da região norte de Portugal. Arq Med. 1999; 143(5/6): 244-8.
13. Antunes H, Macedo M, Estrada A. Epidemiologia da hepatite A numa população pediátrica do Norte: primeiros resultados portugueses de baixa endemicidade. Ata Med Port 2004; 17: 219-24.
14. Valadas E, Sousa S, Antunes F. Seroprevalência da hepatite A em infetados por vírus da imunodeficiência humana. Revista Portuguesa de doenças Infecciosas 2008; 4(1): 12-16.
15. Speidel A et al. Prevalência do anticorpo contra a hepatite A numa população na região Centro de Portugal. Revista Portuguesa de doenças Infecciosas 2010; 6(3): 95-100.

ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

## Teste molecular rápido para rastreio de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina – uma experiência de sucesso

## Screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a rapid molecular test – a successful experience

/ M. Monteiro<sup>1</sup> / A. Read<sup>1</sup> / F. Carneiro<sup>1</sup>  
/ R. Fonseca<sup>1</sup> / M. J. Soares<sup>1</sup> / V. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Microbiologia; Serviço de Patologia Clínica; Hospital Pedro Hispano; Matosinhos; Portugal.

Correspondência:

**Margarida Monteiro**

Hospital Pedro Hispano, Rua Eduardo Torres  
telefone: 229391780

e-mail: margarida.monteiro@ulsm.min-saude.pt

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade

Artigo recebido em  
06/07/2015

Artigo aceite para publicação em  
17/07/2015

### / Resumo

**Introdução:** A disseminação do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) é um problema nos hospitais em todo o mundo, incluindo Portugal, que tem uma alta taxa de MRSA.

**Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto do rastreio nasal por PCR, nas taxas de incidência e prevalência de MRSA.

**Material e métodos:** O rastreio foi realizado no período compreendido entre 1/1/2007 e 31/12/2013, na admissão hospitalar dos doentes com alto risco de colonização por MRSA. As amostras foram testadas por PCR em tempo real.

**Resultados:** Entre 2007 e 2013, detetamos uma redução na taxa de MRSA de 66% para 48% ( $p < 0,001$ ). A taxa de incidência diminuiu, de 1,79 (intervalo de confiança de 95% [IC]: 1,56-2,02) para 0,59 [95% CI: 0,46-0,70], casos por mil dias de internamento e a incidência cumulativa, de 1,4 [95% CI: 1,21-1,57] para 0,4 [95% CI: 0,31-0,50] casos por cem doentes internados. A prevalência de bacteriemia mostra uma tendência decrescente ao longo dos anos ( $p = 0,004$ ). O risco de contrair uma bacteriemia por MRSA em 2013 foi significativamente menor do que em 2007 ( $p = 0,011$ ). O tempo de resposta foi reduzido para 2:30 horas.

**Conclusão:** Estes resultados sugerem que o rastreio por PCR, com uma resposta rápida, pode ser uma medida de prevenção eficaz na redução de infeções por MRSA.

**Palavras-chave:** MRSA screening; XpertMRSA®; colonização.

### / Abstract

**Introduction:** The spread of Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains is a problem in hospitals around the world, including Portugal which has a high MRSA rate.

**Objective:** The purpose of this study was to evaluate the impact of PCR-based screening on prevalence and incidence rates of MRSA.

**Material and methods:** MRSA nasal screening, on hospital admission was performed in the period from 1/1/2007 to 31/12/2013 in all patients with high risk of MRSA colonization. Nasal swabs were tested by real-time PCR.

**Results:** Between 2007 and 2013 we detected a reduction in the rate of MRSA from 66% to 48% ( $p < 0.001$ ). The incidence rate decreased, from 1,79 [95% confidence interval (CI): 1,56-2,02] to 0,59 [95% CI: 0,46-0,70], cases per thousand inpatients days and the cumulative incidence, from 1,4 [95% CI: 1,21-1,57] to 0,4 [95% CI: 0,31-0,50] cases per hundred inpatients. The prevalence of bacteremia shows a decreasing trend over the years ( $p = 0,004$ ). The risk of contracting an MRSA bacteremia in 2013 was significantly smaller than in 2007 ( $p = 0,011$ ). The turnaround time of the screening, was reduced to 2:30 hours.

**Conclusion:** Our results suggest that a PCR-based screening, with rapid reporting, may be an effective prevention measure, to reduce MRSA infections.

**Key-words:** MRSA screening; XpertMRSA®; colonization.

## / Introduction

The spread of strains of Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major problem in hospitals around the world, including Portugal which has a high MRSA rate [1- 4] and last year had the first case, in the country, of vancomycin - resistant *Staphylococcus aureus* [5].

In our hospital MRSA was, until 2012, the main antibiotic resistant pathogen and consequently responsible for most of health-care-associated infections [6].

The international guidelines advise and promote cross-functional approaches to the control of MRSA, namely application of basic precautions, contact isolation measures, rational use of antibiotics, epidemiological surveillance and the active screening with decolonization of patients in selected populations [4, 7].

Nasal colonization by MRSA is the most common cause for transmission to other patients, mainly through the hands of healthcare workers, and is the biggest risk factor for subsequent infection [4, 8]. Nasal screening at hospital admission is very important to prevent cross-transmission and to control the nosocomial spread of this agent allowing one to identify up to

66% of colonized patients [4, 7, 9-11]. The selective pressure of antibiotics is also an important factor in the prevalence of MRSA in healthcare facilities [4].

To control MRSA, we have a multimodal strategy: nasal active screening and isolation measures in a selected population of high-risk patients, education of health professionals, information for patients and visitors, procedure monitoring by audit, patient decolonization only in intensive care (mupirocin 2% nasal ointment and bath with chlorhexidine during 5 days) with follow-up screenings and a rational use of antibiotics.

Several studies have demonstrated the advantages of MRSA screening with nucleic acid tests, mainly on reduction of isolation days and on adherence of health professionals to good practice [12-17].

In 2008, with the intention to decrease the rate of MRSA and the isolation days, keeping the same multimodal strategy, a new rapid active surveillance testing (AST) - Xpert MRSA (Cepheid, USA) was implemented. The aim of this study was to evaluate the impact of rapid test screening for MRSA on prevalence and incidence rates of MRSA and prevalence of MRSA bacteremia.

## / Materials and methods

### *Setting, patients and clinical samples*

The Matosinhos Local Unit of Health (ULSM) encompasses Hospital Pedro Hispano with 348 beds, 4 Primary Care Centers and 7 Familiar Health Units and provides care to the municipality of Matosinhos with approximately 180.000 inhabitants.

The samples were collected on hospital admission in all patients with high risk of MRSA colonization, i.e. those coming from nursing homes or other care institutions, those with history of MRSA or previous admissions and in hospitalized patients with direct contacts with new MRSA patients. Screening was also performed in all patients admitted to the ICU and weekly thereafter for the duration of their stay there. MRSA nasal screening was performed preferably with dry swab (Copan Italy SpA., Brescia, Italy) although initially some samples were collected with media transport swabs. All patients remain with contact precautions in a single room if there is one, until test results are available. If tested positive for MRSA the contact precautions are kept in place, until hospital discharge. If negative they are discontinued.

### **Methods**

Before 2008 nasal swabs were tested by culture in chromogenic agar ID MRSA (bioMérieux, Marcy l'Etoile-France). This procedure takes a minimum of 48 h before the results are known. Since 2008, the screening was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR) with the XpertMRSA® (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) 24 h/7 days a week with results available within 2 hours, according to the manufacturer's instructions. Invalid results were confirmed by culture.

### *Turnaround Times (TAT)*

Our TAT is the mean time from reception of the specimen in the laboratory to the result being available electronically.

### *Data analysis*

The data presented corresponds to MRSA strains isolated in our laboratory from inpatients with suspected infection in the period from 1/1/2007 to 31/12/2013. This analysis was carried out after the elimination of duplicates according to CLSI Standard M39-A2.

To assess the effectiveness of implementation of our AST with a rapid PCR test-XpertMRSA® we present the MRSA rate (number of MRSA /total of *Staphylococcus aureus*), the incidence rate (number of MRSA per 1000 inpatient days) and the cumulative incidence (number of MRSA per 100 inpatients). These parameters are calculated and presented to the institution's health professionals every year [6].

Categorical variables are described through absolute (n) and relative (%) frequencies, and continuous variables are described through the average and standard deviation, median, minimum and maximum percentiles. To test hypotheses about the

independence of categorical variables the Chi-squared test of independence was applied. To determine the risk of infection each year, Odds Ratios (OR) and their 95% confidence intervals through logistic regression were determined. We used a significance level of 0.05 for all hypothesis tests. The analysis was carried out using the SPSS® statistical analysis program v. 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences).

## / Results

The TAT, using PCR compared with culture, was reduced from 41 hours to 2:30 hours.

Between 2007 and 2013 we detected a reduction in the rate of MRSA from 66% to 48% ( $p < 0,001$ ). The incidence rate also decreased over the years, being highest in 2007, 1,79 (95 % confidence interval (CI): 1,56- 2,02) and lowest in 2013, 0,59 (95 % CI: 0,46-0,70) cases per thousand inpatients days. The cumulative incidence decreased from 1,4 (95 % CI: 1,21-1,57) to 0,4 (95 % CI: 0,31- 0,50) cases per hundred inpatients (Figura. 1).

The prevalence of bacteremia shows a decreasing trend and is much lower in 2013 than in 2007 ( $p = 0,004$ ) (Fig. 2). In 2013 there was an increase in the prevalence of MRSA in invasive samples but it was not statistically significant ( $p = 0,552$ ).

The risk of contracting an MRSA bacteremia is also much lower in 2013 and progressively declined relative to 2007 (Table 1).

## / Discussion

Reduction of cross infection and the incidence of MRSA, in a country with a high prevalence of MRSA [1, 2, 19] was a priority in our hospital. Köck et al found evidence that screening can help decrease MRSA infection rates in hospitals and without screening other infection control measures might fail to reduce MRSA spread [7].

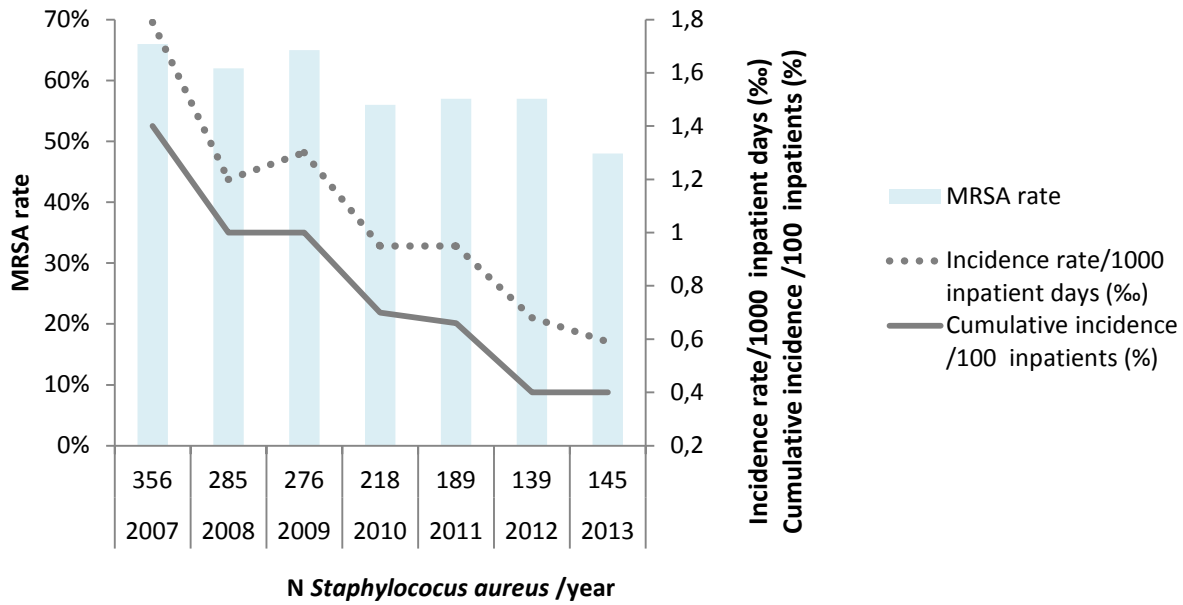
The conventional methods for MRSA screening based in chromogenic agar cultures have actually high sensitivity and specificity but a result takes 48 hours on average [20].

Rapid MRSA screening tests decrease TAT, allowing early detection of MRSA carriers, rapid contact isolation and reduction of the number of unnecessary isolation days [7, 11, 21, 22]. Rapid PCR, compared with culture, reduced our TAT from 41 hours to 2:30 hours. A systematic analysis confirms the reduction of TAT in all studies [7].

This study showed that AST based on a rapid test with preemptive isolation appears to be a successful measure to reduce the prevalence and incidence of MRSA.

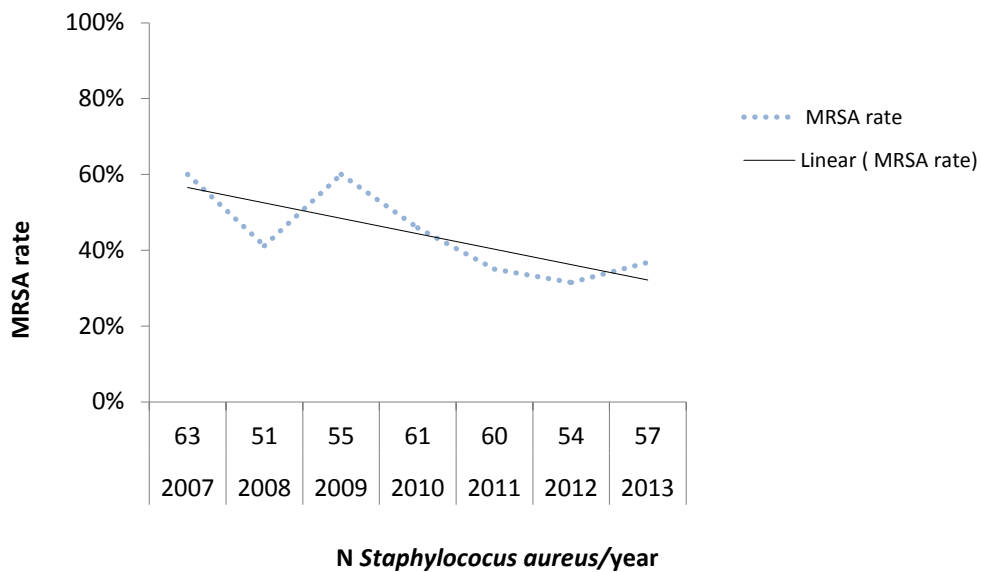
The reduction of patient isolation days seems to be important for the acceptance of preemptive isolation as well as for the quality of patient care and we think that had a positive effect on healthcare personnel but we need effectiveness studies.

Fig. 1 – Rate, incidence and cumulative incidence of MRSA



The data presented corresponds to MRSA strains isolated in our laboratory from 1/1/2007 to 31/12/2013. The rate, incidence and cumulative incidence of MRSA were calculated as follows: MRSA rate (number of MRSA/ total of *Staphylococcus aureus* strains), the incidence rate (number of MRSA per 1000 inpatient days) and the cumulative incidence (number of MRSA per 100 inpatients).

Fig. 2 – MRSA rate in invasive samples



The data presented corresponds to MRSA strains isolated in our laboratory in invasive samples (blood and cerebrospinal fluid) from 1/1/2007 to 31/12/2013. MRSA rate in invasive samples was calculated as follows: (number of MRSA/ total of *Staphylococcus aureus* strains) and the respective linear trendline.

**Table 1 – Logistic regression for MRSA in invasive infections**

Year	OR	CI 95%	p
2007 <sup>a</sup>	1		
2008	0,461	0,217-0,977	0,043
2009	0,987	0,471-2,066	0,972
2010	0,558	0,274-1,139	0,109
2011	0,354	0,170-0,737	0,005
2012	0,302	0,141-0,649	0,002
2013	0,384	0,184-0,803	0,011

<sup>a</sup>2007 reference year (before the implementation of rapid AST)  
OR- Odds ratio; CI 95% - confidence interval 95%.

Despite the price being considerably higher than the conventional cultural method, a cost analysis should consider the advantage of rapid TATs that substantially reduce the number of days of preemptive isolation with all the associated expenses, until the result is negative [13, 16, 23, 24].

We found a statistically significant reduction of the MRSA rate from 66% to 48% ( $p < 0,001$ ), incidence rate from 1,79 (95% CI: 1,56;2,02) to 0,59 (95% CI: 0,46-0,70) and cumulative incidence from 1,4 (95% CI: 1,21- 1,57) to 0,4 (95% CI: 0,31- 0,50). Throughout these years this reduction was not constant with an increase in 2009 that is not statistically significant ( $p = 0,499$ ). This can be explained by faults in basic precautions and contact isolation measures confirmed by audits of the procedures in hospital wards.

Our results are in line with those from Man Leung et al which showed a significant reduction of acquired MRSA infections in ICU [22]. Harbarth et al showed a decrease in MRSA infection in medical ICU, when preemptive isolation was added to rapid testing [21]. Hardy K. et al have shown that rapid MRSA screening significantly reduces MRSA transmissions on surgical wards compared with standard culture [25]. However, other studies are still controversial about the efficacy between rapid molecular test and culture method, to significantly reduce MRSA. Jeyaratnam et al didn't find a significant reduction in MRSA acquisition to justify the cost [26]. Tanconelli et al also didn't find an impact on MRSA rate [27]. These findings can be explained because MRSA screening is only one component in a set of measures. Interpretation of the results, depending on the study protocol, the adopted strategy and the type of test, can lead to inconsistent data [7, 8, 16, 26, 28].

The EARS-Net program [1] shows that in many countries there has been a significant decrease in MRSA rate in invasive isolates. From 2008 to 2011, in some northern European countries rates were always below 5%, while in other countries (e.g., Greece,

Cyprus, Italy, Malta, and Romania) they were always above 25% and persistently above 50% in Portugal. Despite these national values, in our hospital the prevalence of MRSA invasive infection decreased significantly over the years, from 60% to 37% ( $p = 0,004$ ). In 2013 the risk of occurrence of invasive MRSA infection was 0.384 times that of 2007 ( $p = 0,011$ ).

Colonization with MRSA is a risk factor for subsequent invasive MRSA infection and is not limited to the period of concomitant hospitalization but persists beyond discharge [4]. Identification of MRSA carriers on admission allows us to flag possible future infection and cross-transmission. As Stano et al we reduced the risk of MRSA bacteremia following the introduction of active rapid molecular surveillance [29].

Our strategy has some limitations: the selected population may be insufficient to detect all MRSA carriers and screening only the nares may fail to identify other patients colonized at different anatomic sites who can still transmit the organism [28].

## / Conclusions

MRSA infections still constitute an important public health problem in Portugal. Some European countries have developed strategies to decrease the prevalence of MRSA in bloodstream infections [30]. Implementing a rapid PCR test as part of a multifaceted strategy to control and prevent MRSA infections [4] was encouraging in our hospital. Even if PCR testing inflates assay prices, we think it is less costly, mainly in intensive care and it appears to reduce mortality rates and costs on empiric therapy.

Our results suggest that PCR-screening and preemptive isolation of a targeted population, with TATs around 2h may be an effective prevention strategy, to reduce the rate and incidence of MRSA and MRSA bacteremia.

## / Acknowledgments

The results of this study are presented in part in the institution and published online every year by elements of the microbiology lab. The presentation can be found at: <http://www.ulsm.min-saude.pt/ebook.aspx?menuid=801>

The results of this study are presented in part in 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Abstract: R2276

Potential conflict of interest – The authors report no conflict of interest.

Financial support – The statistical study (statistical significance of our results and odds ratio calculation) was carried out by a public institution – "Department of information and decision sciences in health - Medical School of Oporto University" and was supported by Werfen.



## / Bibliografia

- European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). EARSS Annual Report 2012. ECDC network; available from <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2012.pdf> Accessed 24 November 2014.
- Faria NA, Miragaia M, de Lencastre H. Multi Laboratory Project Collaborators. Massive dissemination of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in bloodstream infections in a high MRSA prevalence country: establishment and diversification of EMRSA-15. *Microb Drug Resist*. 2013;19(6):483-490.
- Melo-Cristino JAAF, Amorim JM, Diogo J, Lito LM, Lopes P, Marques J, et al. Estudo multicêntrico de resistência aos antimicrobianos em nove hospitais portugueses: comparação de resultados num intervalo de uma década. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*. 2006;3:7-15.
- Calfee DP, Salgado CD, Milstone AM, Harris AD, Kuhar DT, Moody J, et al. Strategies to Prevent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Transmission and Infection in Acute Care Hospitals: 2014 Update Source. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2014;35(7):772-796.
- Melo-Cristino J, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M. First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet*. 2013;382(9888):205.
- Evolução de Resistências 2005-2013 e a Ecologia Hospitalar 2013; available from <http://www.ulsm.min-saude.pt/ebook.aspx?menuid=801> Accessed 15 January 2015.
- Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, et al. Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *EuroSurveill*. 2014;9(29):20860.
- Polisena J, Chen S, Cimon K, McGill S, Forward K, Gardam M. Clinical effectiveness of rapid tests for Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized patients: a systematic review. *BMC Infect Dis*. 2011;11:336.
- Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, Bogaers D, Vandenbroucke-Grauls CM, Roosendaal R, et al. Preventing Surgical-Site Infections in Nasal Carriers of *Staphylococcus aureus*. *The New England Journal of Medicine*. 2010;62(1):9-17.
- Henderson DK. Managing methicillin-resistant staphylococci: a paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. *Am J Infect Control*. 2006;34(5 Suppl 1):S46-54:discussion S64-73.
- McKinnell JA, Huang SS, Eells SJ, Cui E, Miller LG. Quantifying the Impact of Extranasal Testing of Body Sites for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization at the Time of Hospital or Intensive Care Unit Admission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34(2):161-170.
- Aldeyab MA, Kearney MP, Hughes CM, Scott MG, Tunney MM, Gilpin DF, et al. Can the use of a rapid polymerase chain screening method decrease the incidence of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? *J Hosp Infect*. 2009;71(1):22-28.
- Brown J, Paladino JA. Impact of rapid methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* polymerase chain reaction testing on mortality and cost effectiveness in hospitalized patients with bacteraemia: a decision model. *Pharmacoeconomics*. 2010;28(7):567-575.
- Laudat P, Jouannet C, Charron J, Chillou C, Salaun V, Mankikian B. Detection of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin (MRSA) by molecular biology (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, Roche LightCycler, Hyplex Evigene I2A) versus screening by culture: Economic and practical strategy for the laboratory. *Pathol Biol*. 2012;60(3):208-13.
- Creamer E, Dolan A, Sherlock O, Thomas T, Walsh J, Moore J O, et al. The Effect of Rapid Screening for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on the Identification and Earlier Isolation of MRSA-Positive Patients. *Infection control and hospital epidemiology*. 2010;31:374-381.
- Stürenburg E. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost considerations. *Ger Med Sci*. 2009;7:Doc06.
- Wassenberg M, Kluytmans J, Erdkamp S, Bosboom R, Buiting A, van Elzaker E, et al. Costs and benefits of rapid screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in intensive care units: a prospective multicenter study. *Critical Care*. 2012;16(1):R22.
- Peres D, Neves I, Vieira F, Devesa I. Strategy to Control Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: The 5 Year Experience of a Hospital. *Acta Med Port*. 2014;27(1):67-72.
- Espadinha D, Faria NA, Miragaia M, Lito LM, Melo-Cristino J, de Lencastre H. Médicos Sentinela Network. Extensive Dissemination of Methicillin-Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) between the Hospital and Community in a Country with a High Prevalence of Nosocomial MRSA. *PLoS One*. 2013;3:8(4).
- Lee S, Park YJ, Park KG, Jekarl DW, Chae H, Yoo JK, et al. Comparative evaluation of three chromogenic media combined with broth enrichment and the real-time PCR-based Xpert MRSA assay for screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in nasal swabs. *Ann Lab Med*. 2013;33(4):255-60.
- Harbarth S, Masuet-Aumatell C, Schrenzel J, Francois P, Akakpo C, Renzi G, et al. Evaluation of rapid Screening and Pre-Emptive Contact Isolation for Detecting and Controlling Methicillin-Resistance *Staphylococcus aureus* in Critical Care. *Crit Care*. 2006;10(1):R25.
- Leung EC, Lee MK, Lai RW. 2013. Admission Screening of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* with Rapid Molecular Detection in Intensive Care Unit: A Three-Year Single-Centre Experience in Hong Kong. *ISRN Microbiology*. Doi: 10.1155/2013/140294.
- Wassenberg MW, Kluytmans JA, Box AT, Bosboom RW, Buiting AG, van Elzaker EP, et al. Rapid screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using PCR and chromogenic agar: a prospective study to evaluate costs and effects. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:1754-1761.
- Uçkay I, Sax H, Iten A, Camus V, Renzi G, Schrenzel J, et al. Effect of screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage by polymerase chain reaction on the duration of unnecessary preemptive contact isolation. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(11):1077-9.
- Hardy K, Price C, Szczepura A, Gossain S, Davies R, Stallard N, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:333-339.
- Jeyaratnam D, Whitty CJ, Phillips K, Liu D, Orezzi C, et al. Impact of rapid screening tests on acquisition of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: cluster randomised crossover trial. *BMJ*. 2008;336:927-930.
- Tacconelli E, De Angelis G, de Waure C, Cataldo MA, La Torre G, Cauda R. Rapid screening tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(9):546-554.
- Harbarth S, Hawkey PM, Tenover F, Stefani S, Pantosti A, Struelens MJ. Update on screening and clinical diagnosis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011;37:110-117.
- Stano P, Avolio M, De Rosa R, Modolo ML, Camporese A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection rate after implementation of an antibiotic care bundle based on results of rapid molecular screening. *In Vivo*. 2013;27(6):873-876.
- Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen J, Harbarth S, Kluytmans J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill*. 2010;15(41):19688.

ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

# Controladores de elite: Um caminho para a cura funcional da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana?

# Elite controllers: A pathway to the functional cure of the human immunodeficiency virus infection?

**/ M. Trêpa, C. Vasconcelos**

Departamento de Medicina, Unidade de Imunologia Clínica, Centro Hospitalar do Porto, Portugal.

Correspondência:

**Maria Burbach Trêpa**

Serviço de Medicina B, Departamento de Medicina do Centro Hospitalar do Porto,  
Largo Prof. Abel Salazar 4099-001 PORTO  
Telefone: 222 077 500;  
e-mail: maria\_trp@hotmail.com

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade

Artigo recebido em  
18/09/2015

Artigo aceite para publicação em  
07/10/2015

**/ Resumo**

Na maioria dos infetados por vírus da imunodeficiência humana (VIH), sem intervenção terapêutica, a replicação viral levará à depleção dos linfócitos T-CD4, à imunodeficiência e à morte. Mas num grupo de doentes apelidados Controladores de Elite (CE), a replicação viral é naturalmente controlada para níveis que são indetectáveis pelos testes laboratoriais padronizados. Esta capacidade notável está atualmente no centro dos esforços para identificar correlações imunitárias de proteção contra VIH.

Dos mecanismos já investigados parecem ser especialmente importantes: (1) a infeção por variantes virais com baixo *fitness* replicativo; (2) o estabelecimento de um controlo eficiente da replicação viral pelo sistema imunitário logo após a primoinfeção; (3) a baixa taxa de translocação microbiana e de ativação imunitária com menor depleção de linfócitos T-CD4 (LT-CD4); (4) a presença de linfócitos citolíticos CD8 (LT-CD8) capazes de respostas mais rápidas, expressivas e polifuncionais, mais eficazes no controlo da infeção.

Os estudos realizados até à data não tiveram sucesso em identificar uma característica comum em todos os CE. A investigação atual aponta para a existência de múltiplas variáveis envolvidas no controlo as quais dependem de fatores virais, genéticos e imunitários. Parece ser a interação entre estes diferentes fatores que estabelece o controlo de elite.

Existe hoje um consenso científico de que a identificação de fatores específicos do hospedeiro e a compreensão das dinâmicas estabelecidas entre agente infetante e hospedeiro, podem fornecer informação crítica para o desenvolvimento de novas estratégias clínicas, que visem a indução de uma cura funcional para a infeção por VIH.

**Palavras-chave:** Controladores de Elite, VIH, Imunologia.**/ Abstract**

In the majority of patients infected by the Human Immunodeficiency Virus (HIV), without treatment, the depletion of CD4 lymphocytes will lead to immunodeficiency and death. However, in a subset of patients known as Elite Controllers, viral replication is naturally controlled to undetectable levels by standard laboratory

testing. This remarkable capacity has been in the center of efforts to identify immune correlations of protection against HIV.

Numerous investigational studies have been conducted and the following mechanisms seem to be of particular importance: (1) the infection with viral strains with low replicative fitness; (2) the setting of an effective viral replication control right after primary infection; (3) the low rates of microbial translocation and lower immune activation with less depletion of CD4 T cells; (4) the presence of cytolytic CD8 T cells capable of faster and more polyfunctional responses that are more effective in infection control.

So far research has not been able to identify a common feature in all elite controllers. Current research points to the existence of multiple features involved in elite control which depend on viral, genetic and immune factors. It appears to be the interaction between these factors that establishes the elite control.

Currently there is a generalized medical consensus that the identification of specific host factors and the comprehension of the dynamics between infected patient and infecting organism may provide critical insights for the development of new clinical strategies that aim a functional cure to HIV infection.

**Key-words:** Elite Controllers, HIV, Immunology.

## / Introdução

A maioria dos infetados pelo VIH, se não tratados, progride inexoravelmente para a depleção de LT-CD4 e aumentos progressivos da virémia que culminam no desenvolvimento de SIDA. Estes doentes pertencem ao grupo dos progressores e representam, na maioria dos estudos, entre 85 e 98% dos infetados sendo que 5% destes são considerados progressores rápidos.<sup>[1,2]</sup>

Um outro grupo de doentes, os não-progressores a longo prazo (LTNP do inglês - *Long Term Non Progressors*), constitui 2-15% dos infetados e caracteriza-se por sobrevivência prolongada, com contagens de LT-CD4 normais. Os LTNP foram tradicionalmente definidos pelas contagens de LT-CD4, no entanto, o advento nos anos 90 dos doseamentos da carga viral de rotina, tornou possível a identificação de um subgrupo dentro dos LTNP que é capaz, não só de manter níveis de CD4 normais, mas também de controlar espontaneamente a virémia sem necessidade de TARV. Este grupo raro de indivíduos é genericamente conhecido como controladores de elite. Os CE representam aproximadamente 1% dos infetados segundo os resultados de 2 grandes estudos epidemiológicos realizados nos EUA e em França.<sup>[3,4]</sup>

O Consórcio Internacional de Controladores do VIH e outras entidades de referência<sup>[1,3,5]</sup> definem os controladores de elite como aqueles indivíduos que têm 3 ou mais determinações de

carga viral <50 cópias/mL, medidas com o mínimo de 1 ano de intervalo entre elas, em doentes que não faziam terapia antirretroviral há pelo menos 1 ano antes do início dos testes. Outros grupos exigiam virémia indetetável por pelo menos 2 anos e um grupo francês exigia >90% de doseamentos com virémias indetetáveis durante mais de 10 anos.<sup>[1]</sup>

Nos CE a infeção VIH não progride e os níveis de linfócitos T-CD4 (LT-CD4), mantêm-se estáveis com cargas virais indoseáveis por meios convencionais. Esta extraordinária capacidade é apontada como uma das chaves para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. O estudo aprofundado dos mecanismos por detrás do controlo espontâneo da replicação viral e da manutenção dos níveis de LT-CD4 pode fornecer informações críticas sobre as dinâmicas vírus-hospedeiro e revelar o alvo ideal de um novo fármaco ou vacina.

## / Mecanismos do Controlo de Elite

### Mecanismos virais

#### ***Fitness replicativo viral***

A hipótese inicialmente colocada para explicar o controlo foi que os CE seriam infetados por vírus de menor virulência. A primeira evidência neste sentido foi descrita na *Sydney Blood Bank Cohort*,

a famosa coorte australiana infetada com mutantes virais que tinham grandes deleções no gene *nef* e mantiveram contagens de LT-CD4 normais [6]. Estudos subsequentes sustentam a importância do gene *nef* na patogénese e indicam claramente que deleções no *nef* mas também mutações ou deleções noutros genes críticos (como o *rev*, *gag-pol* e *vif*) podem aumentar a probabilidade de ser CE [7].

No entanto, a infeção por vírus menos virulentos não explica, de modo algum, todos os casos de controlo de elite. Blankson *et al.* [8] comprovam a infeção por vírus totalmente competentes de alguns CE e as análises de genoma completo que efetuaram não identificaram mutações ou deleções associadas com o controlo.

A reforçar a ideia da competência viral, estão os estudos subsequentes de Blankson *et al.* [9] que analisaram a transmissão do vírus de um indivíduo progressor para outro que se tornou CE. Embora no início estes resultados tenham sido atribuídos à redução do *fitness* viral forçada pelo sistema imunitário do progressor, Buckheit e a sua equipa [10] vieram confirmar definitivamente que as deficiências na replicação viral não eram a causa do controlo nestes casos. Os autores destes estudos concluem que as discrepâncias nos resultados clínicos da infeção pelo mesmo vírus provam que são os fatores do hospedeiro que ditam o tipo de controlo viral que se estabelecerá.

Outro achado importante é que a presença dos alelos do antigénio leucocitário humano (HLA) B27 e B-57 está associada a produção rápida de mutações de escape aos LT-CD8 mas que este escape se dá à custa da perda de *fitness* replicativo [11,12].

### **Reservatórios virais**

Os eventos associados à primoinfeção são cruciais para as fases seguintes. Um dos eventos mais importantes desta fase é a disseminação precoce do vírus para o tecido linfóide associado à mucosa intestinal (GALT do inglês - *gut associated lymphoid tissue*) que é fundamental para a perpetuação da infeção e estabelecimento da latência, a qual é a principal barreira à erradicação do vírus.

Comprovou-se que os CE têm níveis significativamente menores de DNA proviral integrado do que os progressores [13]. No entanto, apesar da transcrição de RNA viral ser menor [14] na fase aguda, é suficiente para permitir a disseminação viral para os reservatórios latentes ainda que em baixas quantidades [15].

Ficou também provada a replicação viral contínua nos CE mas ainda não foi possível identificar o compartimento onde ocorre [16]. Um estudo recente eliminou os monócitos como reservatório importante nestes doentes [17].

Nos reservatórios, sobretudo no GALT, a pressão seletiva imposta pelos LT-CD8 VIH-específicos dos CE é muito alta, resultando em desenvolvimento de mutações de escape. As mutações de escape são menos patogénicas e, associadas a cargas virais baixas, previnem a entrada de novos vírus no reservatório e explicam a

discrepância encontrada entre as sequências genéticas provirais e as plasmáticas (estas com mutações nos epítotos restritos ao HLA-B57) como relata o estudo realizado por O'Connell e colegas [16].

É possível, então, que nos CE seja o equilíbrio estabelecido entre reservatórios virais, replicação e defesa imunitária do hospedeiro que permite o controlo do vírus.

### **Mecanismos do Hospedeiro**

#### **Genes**

Desde os anos 90 sabe-se que alguns alelos do HLA classe I e os polimorfismos do CCR5 são responsáveis por diferenças na progressão da doença. Aproximadamente 1 em cada 300 infetados é portador de um "trunfo" genético que lhe permite controlar a progressão da doença.

A homozigotia para deleção do alelo delta 32 do CCR5 confere proteção contra infeção por VIH e a heterozigotia atrasa substancialmente a progressão para SIDA.

Quanto ao HLA, Migueles *et al.* [18] em 2000, foram os primeiros a demonstrar a grande representação do HLA-B57 nos CE comparados com a população geral e com os não controladores.

Vários estudos se seguiram e em 2006, teve início o estudo conhecido como *The International HIV Controllers Study* [5]. A equipa comparou os genes de 1000 controladores com os de 2600 progressores e descobriu mais de 300 polimorfismos de nucleótido único significativos (SNP do inglês - *single nucleotide polymorphism*) no genoma do complexo major de histocompatibilidade (MHC do inglês - *Major Histocompatibility Complex*) e nenhum fora deste. Concluíram que alelos específicos do HLA-B, bem como um efeito independente do HLA-C estão implicados, provavelmente como factores major no controlo sustentado da infeção. Destes o HLA-B57, HLA-B27, e também HLA-B14 e HLA-B51 são os genes mais fortemente associados com a proteção e o controlo da produção de vírus, sendo que o HLA-B57 é o mais eficaz no controlo. Estes achados sugerem que a maior pressão seletiva induzida por estes alelos do HLA dá origem a variantes virais com capacidade replicativa diminuída, semelhantes às induzidas durante o tratamento com TARV. No entanto, é de salientar nem todos os CE possuem estes alelos, nem o HLA-B57 confere proteção total contra a evolução da doença. Estes alelos serão por isso a chave na modulação do controlo, mas não o fazem isoladamente, sugerindo que será a interação entre diferentes mecanismos que explica o controlo.

### **Imunidade Inata**

O facto da maioria dos CE não exibirem manifestações sintomáticas da infeção primária e poderem ter controlo espontâneo desta, sugere que uma resposta precoce e eficaz é crítica para o controlo subsequente da infeção.

### **Recetores "toll-like" e células dendríticas plasmocitoides**

Os recetores "toll-like" (TLR) estão envolvidos no reconhecimento inato de vários microrganismos, incluindo VIH. Demonstrou-se que polimorfismos neste recetor influenciam a história natural da doença, mais especificamente, o TLR9 foi associado a infeção rapidamente progressiva [19]. Um facto interessante, é que a endocitose do vírus ativa as células dendríticas plasmocitoides via TLR e que estas existem em maiores quantidades em indivíduos com progressão lenta da doença. Os progressores têm níveis mais baixos de resposta das células dendríticas plasmocitoides e necessitam da estimulação prévia do recetor TLR9, o que permite inferir que níveis altos de estimulação do TLR9 se correlacionam com progressão da doença [20].

Nos CE as contagens destas células estão preservadas bem como a capacidade de secreção de IFN- $\alpha$  e outras citocinas inflamatórias que contribuem para o controlo da replicação viral [20,21].

### **Células Natural Killer**

O papel das células *natural killer* (NK) na imunidade antiviral precoce foi já demonstrado em múltiplas infeções. Nos CE, evidências crescentes de estudos epidemiológicos e funcionais, são fortemente sugestivas da importância das NK. No *The HIV Controllers Study* concluiu-se que a presença de combinações de NK e HLA específicas está fortemente implicada no controlo do VIH e no atraso da progressão da doença [5].

### **Efeito Protetor da combinação entre os killer immunoglobulin receptor (KIR) e HLA nos CE**

As combinações presentes nos CE resultam em fenótipos de atuação das NK marcados por uma funcionalidade aumentada, ao contrário da anergia de resposta à infeção viral que se observa nos progressores [22].

As células NK apresentam recetores KIR, também expressos em LT-CD8, que se ligam às moléculas HLA classe I e ativam as NK para a destruição das células infetadas.

O *The HIV Controllers Study* [5] constatou que os recetores KIR dos alotipos específicos KIR3DS1 e KIRDL1 exibem respostas aumentadas na presença dos seus ligandos putativos, um efeito observado sobretudo na presença dos alelos HLA-B27/57/58 os quais estão expressivamente sobre-representados na população de CE.

O genótipo KIRDS1/HLA-B exibe maior produção de IFN- $\alpha$ , maior citotoxicidade e uma capacidade superior de suprimir a replicação viral.

Já o papel do recetor KIRDL1, que ao contrário do KIRDS1 é um recetor inibitório, é menos bem compreendido. Pensa-se que regulam a proliferação de clones que são capazes de responder mais vigorosamente à infeção. A evidência disponível aponta para que estas células sejam mais sensíveis à sub-regulação do MHC mediada pelo *nef* do VIH e por isso importantes no controlo viral [22].

No *The HIV Controllers Study* [7] e em estudos genéticos subsequentes [23], foi também identificado um novo SNP protetor localizado no HLA-C. Dado que o HLA-C serve como ligante principal de 2 domínios do KIR pensa-se que a expressão aumentada do HLA-C se reflita em NK mais competentes e mais agressivas.

Estas respostas permitem o controlo precoce da infeção que será fundamental ao retardar e limitar a progressão da doença.

### **Diferenças fenotípicas nas células NK dos Controladores de Elite**

A progressão da infeção VIH é associada com a redistribuição extensa dos subgrupos de NK (*NKdim, bright, neg*). Normalmente, classificam-se as células NK de acordo com a densidade do CD56 na sua superfície. No sangue periférico, 90% são NKCD56dim as quais têm altas concentrações de perforinas e de KIR. Os outros 10% são NKCD56bright que não têm KIR e são pouco citotóxicas, mas segregam grandes quantidades de citocinas quando ativadas. Finalmente, as CD56neg acumulam-se durante infeções crónicas e exibem um fenótipo de exaustão [22,24].

A infeção VIH aguda nos progressores é marcada por uma expansão rápida das CD56dim e concomitante diminuição das CD56bright. Já a infeção crónica está associada à expansão das anérgicas CD56neg, à custa dos primeiros 2 subgrupos [24].

Nos CE, Vieillard *et al.* [25] demonstraram que as respostas das NK não estão comprometidas. As hipóteses equacionadas pela equipa para este achado são que, ou a persistente supressão do controlo viral resulta em preservação do fenótipo NK normal, ou as NK dos CE resistem às alterações induzidas pelo vírus. Curiosamente, a deteção de NK no sangue periférico dos EC é reduzida. Este facto pode refletir que o sangue não é o melhor compartimento para encontrar células NK dado que a maioria da replicação viral se dá em tecidos como a mucosa gastrointestinal [26].

### **Citotoxicidade celular dependente de anticorpos – Ligação das imunidades adaptativa e inata no controlo**

Além do seu papel antiviral direto, as NK estão também intimamente envolvidas no controlo e clearance das células infetadas ou malignas através da indução da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC do inglês – *antibody-dependent cellular cytotoxicity*). Ao contrário dos anticorpos neutralizantes que são apenas detetados em fases crónicas da doença, a ADCC surge em fases agudas e está relacionada com progressão mais lenta da doença [27]. Um estudo realizado por Lambotte *et al.* observou que os CE possuem níveis significativamente mais elevados de ADCC [28].

Serão precisos estudos mais aprofundados para compreender como estes anticorpos são induzidos e qual o seu mecanismo de ação uma vez que estes dados poderão vir a fornecer informação crítica para novas abordagens no design de vacinas que sejam capazes de estimular a ADCC, provocando a multiplicação de células NK altamente específicas para a eliminação de células infetadas ou até mesmo do próprio vírus.



### Tecido linfóide associado às mucosas

As mucosas dos tratos reprodutivo e gastrointestinal são as principais portas de entrada para VIH. O GALT representa o alvo principal para a infeção, devido à alta densidade de LT-CD4, a maioria dos quais expressa os co-recetores CCR5 e CXCR4. Nas primeiras semanas após a infeção, nos progressores a perda de LT-CD4 da lâmina própria é rápida e profunda com perda de integridade epitelial, resultando em facilitação da translocação microbiana. A translocação microbiana ativa os recetores "toll-like" (TLR) das células do sistema imunitário e esta ativação está implicada como causa provável da ativação imunitária generalizada que é a característica mais marcante da infeção crónica por VIH [29].

### Sinergia dos LT-CD8 e dos LT-CD4 na resposta à infeção

Os linfócitos T-CD8 rectais expressam menos perforinas que os plasmáticos, mas estão presentes em números elevados na mucosa rectal. Foi descrita uma correlação positiva entre a magnitude e polifuncionalidade da resposta dos LT-CD8 da mucosa rectal ao *gag* (com produção de 3 ou mais moléculas como por exemplo IFN  $\gamma$ , IL-2, MIP1- $\beta$ , TNF  $\alpha$ ) e a contagem de LT-CD4, e uma correlação inversa entre os LT-CD4 e a carga viral plasmática [30]. No mesmo estudo os indivíduos com as contagens de LT-CD4 mais elevadas tinham as cargas virais plasmáticas mais baixas e as respostas mais fortes e polifuncionais dos LT-CD8 rectais. Subsequentemente, Ferre *et al.* [31] analisaram as respostas dos LT-CD8 através de amostras emparelhadas de sangue e mucosa rectal. Constataram que as respostas dos LT-CD8 da mucosa dos controladores do VIH eram significativamente mais robustas e polifuncionais que as dos não controladores e dos doentes sob TARV, o que pode explicar a preservação significativa dos LT-CD4 da mucosa retal dos CE embora em todos os grupos de infetados a percentagem de LT-CD4 seja significativamente menor que nos seronegativos.

Estes achados sugerem que os LT-CD4 suportam o desenvolvimento e manutenção da resposta robusta dos LT-CD8, enquanto estes erradicam células infetadas limitando a infeção de novo dos LT-CD4, ou seja, existe uma ação sinérgica que limita a produção viral e preserva valores relativamente altos de LT-CD4 nas mucosas dos controladores do VIH.

### Expressão génica

Loke *et al.* [32] estudaram a expressão génica no sangue e em biopsias retosigmoideais de 9 controladores e 11 progressores. Constataram que a capacidade dos LT-CD4 da mucosa produzirem múltiplas citocinas está fortemente associada a contagens de LT-CD4 periféricas altas e ao estado de controlador. Verificou-se uma forte correlação entre a expressão de marcadores de ativação imunitária no sangue e na mucosa rectal. Os autores levantam a hipótese de que a ativação imunitária da mucosa possa ser inferida pela análise da ativação sérica no sangue quando as biopsias da mucosa não estão disponíveis.

### Interação vírus-HLA

Um outro estudo de Ferre *et al.* [33] verificou que, entre os controladores, as respostas aos epítotos restritos HLA-B27 e HLA-B57 dos LT-CD8 e LT-CD4 da mucosa tinham magnitudes consistentemente maiores do que aos outros epítotos. Parece também existir uma resposta preferencial das células da mucosa a locais restritos da proteína *gag* o que permite inferir que o número total de epítotos reconhecidos não será tão importante como almejar sequências virais específicas, pressionando o aparecimento de mutações de escape que terão alto custo no *fitness* replicativo [29].

No seu todo estas observações suportam o conceito "no sítio certo à hora certa", ou seja, a magnitude e a qualidade da resposta VIH específica das células da mucosa gastrointestinal durante a infeção crónica podem ser um componente importante do controlo e correlaciona-se com o *status* de controlador [29].

### Imunidade humoral

Pensa-se que os anticorpos neutralizantes (Nab - do inglês *neutralizing antibodies*) funcionem por ligação às proteínas do *env* que impediria a entrada do vírus. Na infeção por VIH este passo é crucial, uma vez que após a entrada na célula, a forma latente do vírus torna a erradicação do vírus atualmente impossível. O interesse nestes anticorpos foi grande uma vez que, na teoria, seriam ideais para o desenvolvimento de uma vacina. No entanto, os resultados de vários estudos foram desencorajadores. Em 2008, Pereyra *et al.* [34] compararam a proporção de Nab em doentes CE, doentes com baixos níveis de virémia e progressores e descobriram que os CE tinham títulos significativamente mais baixos de Nab. No ano seguinte, um outro estudo [35] demonstrou que apenas 25% dos CE tinham Nab de largo espectro de atividade contra 41% dos doentes com baixos níveis de virémia e 42% dos progressores. Assim, com base nesta evidência, os Nab não explicam o controlo da infeção nos CE e dificilmente poderão ser utilizados como arma terapêutica.

### Linfócitos T-CD4

Os linfócitos T auxiliares, definidos fenotipicamente pela presença da molécula CD4, são cruciais na modulação da resposta que impede a inflamação crónica bem como na mobilização dos LT-CD8 para as mucosas [36]. Os LT-CD4 são os alvos primários do VIH e o seu declínio está diretamente relacionado com a progressão para SIDA. Nos CE isto não acontece e vários estudos têm vindo a fornecer explicações para este fenómeno.

Na grande maioria dos CE, o controlo espontâneo da infeção está associado a níveis mais altos de CD4 (média de 750 céls/ml) que nos progressores e nos tratados com TARV e apenas ligeiramente mais baixos que nos não infetados [3,37,38]. O controlo dos níveis de LT-CD4 foi recentemente atribuído a preservação das funções do timo e de alguns tecidos linfóides extra-tímicos [37].



### **Suscetibilidade à infecção diminuída**

Alguns estudos sugeriram que a manutenção dos níveis de LT-CD4 se deveria à resistência à entrada do VIH. Chen *et al.* [39] propuseram que os LT-CD4 dos EC fossem resistentes à infecção pela regulação positiva seletiva da proteína p21 que atua como barreira contra a infecção por VIH nos CE através da inibição da cinase ciclino-dependente 9 (CDK9) necessária para a replicação eficaz do vírus. Saez-Cirion *et al.* [40] relatam resistência à infecção mas concluem que o p21 teria uma ação indireta, ou mesmo nenhuma ação. Vários outros estudos confirmam que os LT-CD4 dos CE são infetados e permitem replicação viral tal como os dos progressores, [8,41,42] existindo casos documentados de transmissão do vírus de progressores crónicos para pessoas que se tornaram CE [9].

Assim, a evidência corrobora que o controlo da infecção na maioria dos CE não é um produto da resistência dos LT-CD4.

### **Ativação dos LT-CD4**

A opinião atual é de que a progressão da doença se deve à perda de funções dos LT-CD4, sobretudo da secreção de IL-2, e não a uma deleção física destas células ou a fatores que inibem a proliferação [43]. Os LT-CD4 são normalmente detetados na grande maioria dos infetados, mas a magnitude da resposta é tipicamente baixa sobretudo quando comparada com as magnitudes de resposta dos LT-CD8 dos mesmo doentes [44].

Outro facto surpreendente é que os CE têm os níveis mais baixos de ativação imune de todos os infetados embora mais altos que os dos não infetados [45,46]. Esta constatação fomentou a pesquisa pelas características únicas que marcariam a diferença na progressão tendo-se descoberto que as respostas VIH específicas dos LT-CD4 dos CE são mais fortes, polifuncionais e com potenciais proliferativos mais elevados [34,47,48]. Estas traduzem-se na expressão aumentada de IL-2 e IFN- $\alpha$  contra a proteína *gag* viral [51]. Segundo Vingert *et al.* [49] a capacidade de reconhecer quantidades mínimas dos péptidos do *gag*293-312 imunodominante resulta da alta avidéz entre a interação TLR/MHC nos CE. Esta capacidade dos LT-CD4 pode ser crucial ao manter o sistema imunitário em constante alerta e ao permitir a indução de respostas rápidas e de grande magnitude.

A evidência de que a TARV pode restaurar parcialmente as respostas VIH específicas levantou a hipótese de que as diferenças fenotípicas, na capacidade proliferativa e na secreção de IL-2, poderiam ser a consequência, e não a causa, das baixas cargas virais [43]. Independentemente desta questão, pode afirmar-se que a manutenção de altos níveis de LT-CD4, de IL-2 e IFN- $\alpha$  são indicativos de uma resposta Th1 de memória mais robusta a qual é crucial na rapidez de atuação e eficácia antiviral das LT-CD8 [48].

### **Exaustão Clonal**

As dificuldades na *clearance* de patógenos durante as infeções crónicas são devidas, não só à já referida perda de funções das células T, mas também a exaustão imunitária, causada pelo dano

progressivo à maquinaria celular e pela ativação constante. A supressão é mediada por vias regulatórias negativas que, em condições fisiológicas, desempenham um importante papel ao manter a tolerância periférica e evitando a ativação imunitária excessiva.

A exaustão de LT-CD4 é um processo gradual, com algumas funções perdidas precocemente (capacidade proliferativa e produção de IL-2) enquanto outras, como a produção de IFN- $\alpha$ , são perdidas em fases avançadas de disfunção [50].

O papel da exaustão clonal dos LT-CD4 VIH específicos e o facto deste fenómeno não acontecer nos CE, foi já objeto de numerosos estudos. Dos achados, destaca-se a ação das moléculas inibitórias PD-1 e CTLA-4. Ambas são membros da família CD28 e contribuem para a paragem do ciclo celular e término da ativação de células T que ocorre após a interação entre os TLR e o MHC.

A molécula PD-1 (do inglês - *programmed death-1*) foi extensivamente estudada na disfunção dos LT-CD8, no entanto, sabe-se menos sobre o seu papel imunorregulatório na exaustão dos LT-CD4. Um estudo realizado por D'Souza *et al.* [51] revelou que a PD-1 está sobreexpressada nos LT-CD4 VIH específicos e o nível de expressão está relacionado com a virémia. A equipa experimentou bloquear o PD-1 tendo constatado que existia um aumento da proliferação de LT-CD4 VIH específicos, embora com variabilidade significativa nas pequenas coortes investigadas.

A molécula CTLA-4 (do inglês - *cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*) foi também alvo de intenso estudo. Kauffman *et al.* [52] revelaram que existe uma sobreexpressão desta molécula nos progressores e nos doentes tratados com TARV mas não nos CE. Descobriram também que o seu bloqueio melhorava significativamente as respostas proliferativas dos LT-CD4 VIH específicos, sugerindo que este mecanismo poderia explicar parcialmente as respostas proliferativas superiores no CE. Curiosamente, neste estudo constatou-se que os CE com cargas virais <0,2 cópias/ml tinham níveis significativamente mais baixos de ativação da CTLA-4 do que os CE com cargas entre as 5 e 46 cópias/ml, sugerindo que o nível de replicação viral, mesmo quando muito baixa, está diretamente relacionado com a expressão de CTLA-4.

Outro recetor regulatório, o TIM-3 (do inglês - *T-cell Ig and mucin-containing domain-3*) foi também identificado e constatou-se que a co-expressão de CTLA-4, PD-1 e TIM-3 estava mais fortemente relacionada com a carga viral do que a expressão de qualquer um isoladamente [50].

### **Linfócitos T reguladores**

Os linfócitos T reguladores (Tregs) são um subgrupo de LT-CD4 que expressam CD25 e o fator de transcrição FOXP3 e estão envolvidos na modulação da resposta imunitária, mantendo a tolerância aos auto-antígenos através da produção de TGF- $\beta$ , IL-10 e IL-35. São essenciais na manutenção do equilíbrio do sistema imunitário pois limitam a ativação de defesas no hospedeiro, prevenindo a sua

exaustão precoce. Por outro lado, esta supressão pode facilitar a proliferação e, por isso, o papel das Tregs no controlo de elite ainda não está totalmente esclarecido.

Resultados conflituosos quanto aos níveis de Tregs dos CE em comparação com os restantes doentes foram reportados por vários grupos. Por exemplo, Brandt *et al.* [53] relatam níveis de Tregs mais reduzidos nos CE que nos progressores e indivíduos em TARV, enquanto o grupo de Owen [46] relata níveis mais altos de Tregs nos CE.

Atualmente os investigadores acreditam que seja o balanço entre as respostas protetoras exuberantes das células T contra o VIH e a atividade das Tregs na minimização da ativação imunitária não específica, que permitem que nos CE haja uma resposta eficaz contra o vírus sem exaustão [21].

### **Linfócitos Th17**

Assim denominados por serem linfócitos T auxiliares produtores de IL-17. Atuam contrabalançando a atividade inibitória/tolerante das Tregs, contribuindo para a inflamação bem como para a perpetuação das doenças autoimunes. A importância dos LTh17 na imunodeficiência foi primeiramente estudada em macacos infetados por SIV (do inglês - *simian immunodeficiency virus*) e constatou-se que a depleção de LTh17 e o desequilíbrio do ratio com os Tregs estava associado a progressão para a doença [54]. Posteriormente, estes achados foram confirmados por Li *et al.* [55] nos humanos. A equipa concluiu ainda que os CE mantinham níveis de LTh17 e Tregs bem como do ratio LTh17/LTregs semelhantes aos dos indivíduos não infetados.

### **Linfócitos T-CD8**

Os linfócitos T definidos fenotipicamente pela expressão de CD8 (LT-CD8) são células citotóxicas encarregues de encontrar e matar células infetadas por patógenos, como por exemplo VIH. O seu papel no controlo de elite foi já extensivamente analisado e estas células são provavelmente a chave do controlo de elite.

### **HLA e LT-CD8 nos CE**

Como já foi referido para as células NK, também aqui o HLA B57 e em menor grau o B27 condicionam aspetos importantes e múltiplos estudos genéticos supracitados provam que estão sobrerrepresentados nos CE.

A apresentação de peptídeos virais aos LT-CD8 VIH-específicos pelos alelos HLA-B27 e HLA-B57 é crucial, levando a uma resposta imunitária eficaz mesmo com baixas concentrações de péptidos (maior avidéz) [56].

A presença dos alelos HLA protetores relaciona-se com respostas LT-CD8 específicas para o gag viral mais eficazes que diminuem o *fitness* replicativo, ou seja, na presença destes alelos HLA a pressão seletiva é maior e leva a emergência de mutações virais compensatórias que escapam temporariamente aos LT-CD8, mas cujo *fitness* é menor. O predomínio destas respostas LT-CD8 contra

o gag é comum nos CE [31,34,47,57] e a sua presença correlacionou-se com a capacidade de suprimir a replicação [57].

### **Características qualitativas**

A eficácia dos LT-CD8 não parece relacionar-se com a quantidade de células que respondem, uma vez que também os progressores apresentam altos níveis de LT-CD8 [58]. Parece então que a qualidade será a razão da diferença. A resposta polifuncional dos LT-CD8 à estimulação pelo VIH, além da atividade citolítica, é caracterizada pela libertação de múltiplas citocinas, incluindo IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, LAMP-1 e MIP1 $\beta$  em várias combinações na resposta à primoinfeção. Esta resposta inicial é transversal a todos os doentes mas, enquanto os progressores a perdem posteriormente, os CE mantêm-nas o que se demonstra vital no controlo eficaz. A polifuncionalidade é mantida tanto no sangue periférico como nas mucosas como observado por Ferre *et al.* [31].

Apesar de tipicamente, os níveis de LT-CD8 polifuncionais estarem inversamente relacionados com a carga viral, nos doentes sob TARV tal não acontece [59]. As suas cargas virais estão farmacologicamente suprimidas mas os LT-CD8 não apresentam a polifuncionalidade demonstrada pelos CE. Isto sugere que não são as cargas virais baixas que permitem a indução de respostas citotóxicas polifuncionais mas antes que as características intrínsecas dos LT-CD8 dos CE é que são mais eficazes em manter controlada a virémia [60].

A qualidade lítica dos grânulos nos LT-CD8 dos CE torna-os mais rápidos e eficientes que os progressores na eliminação dos LT-CD4 infetadas por VIH pela via da granulocitose-exocitose sobretudo através do aumento do conteúdo em perforinas e granzimas-B. Este mecanismo aparenta ser crítico no controlo viral [61].

### **Células T de memória centrais**

Uma proporção considerável dos CE não apresenta imunidade celular intensa, a qual pode ser quase indetetável em condições basais. O facto de situações de supressão sustentada da virémia serem acompanhadas por baixos níveis de LT-CD8 citolíticos, levantou a hipótese de que poderá haver outros participantes envolvidos na vigilância ativa da replicação.

Ndhvolu *et al.* [62] em 2012 investigaram o papel das células T de memória centrais no controlo e vigilância da infeção. Concluíram que os CE com baixos níveis basais de ativação imunitária, respondiam à estimulação com um número de células muito maior e mais rapidamente que os progressores. Alguns dos LT-CD8 dos CE exibiam um fenótipo de memória central, permitindo inferir que a resposta célere se deveria à presença de células centrais de memória que permitem expansão rápida quando estimuladas com os péptidos do gag. Os autores concluem que o verdadeiro alcance e importância das células T centrais de memória deve ser aprofundado uma vez que parecem ter um papel fundamental no controlo da replicação sobretudo a longo prazo, podendo vir a ser a base do desenho de novas vacinas.

## / Conclusão

A progressão inexorável da infeção por VIH para a morte, aliada à crescente prevalência de infetados e às limitações do tratamento crónico fomentou milhares de investigações no sentido de compreender os mecanismos patológicos e descobrir novos caminhos terapêuticos. A existência de indivíduos capazes de controlar naturalmente a infeção representa uma oportunidade única para explorar quais os recursos do sistema imunitário que permitem tal controlo e quais serão críticos.

Os controladores de elite são um grupo de infetados por VIH, demograficamente heterogéneo, mas definido pela notável capacidade de manter a virémia plasmática em níveis indetectáveis. Os estudos realizados até à data não tiveram sucesso em identificar uma característica comum em todos os controladores de elite. A investigação atual aponta para a existência de múltiplas variáveis envolvidas as quais dependem de fatores virais, genéticos, imunitários e antivirais intrínsecos. Parece ser a interação entre estes diferentes fatores que estabelece o controlo de elite e não a existência isolada de qualquer um deles.

A relação do HLA com o controlo viral é inegável. O HLA-B57 e HLA-B27 foram já associados a respostas das NK e dos LTCD8 mais fortes e eficazes. No entanto, nem todos os doentes são portadores deste trunfo genético, indicando que não é condição obrigatória, e provavelmente também não será suficiente, para o controlo.

A maioria dos CE não exibe a síndrome retroviral aguda o que sugere que a sua resposta precoce e eficaz é fundamental para o controlo subsequente da infeção. A importância do GALT no controlo é cada vez mais reconhecida sobretudo devido às implicações dos reservatórios virais na perpetuação da infeção. O facto de os CE, tanto em fase aguda como crónica de infeção, possuírem níveis muito inferiores de células latentes infetadas e uma translocação viral menor parece ser crítico no controlo crónico e indica a importância de intervir cedo impedindo a formação de grandes reservatórios de células latentes.

Os LT-CD4 são os grandes protagonistas na progressão da infeção e desenvolvimento de SIDA. Evidências crescentes apontam para um papel ativo dos LT-CD4 no controlo da infeção. Os baixos níveis de

Tabela I

	Progressores	Controladores de Elite
Características	Set point viral mediano: 30,000 cópias/ml Declínio progressivo de LT-CD4	Cargas virais <50 cópias/ml Declínio mínimo de LT-CD4
Vírus	Fitness replicativo mantido com geração de mutações de escape agressivas Altas taxas de translocação e células latentes infetadas	Controlo não é explicado por infeção com vírus atenuado Alta pressão seletiva gera mutações virais de escape menos patogénicas Menor translocação para os reservatórios
Genes	Sem sobrerepresentação significativa de nenhum alelo	Sobrerrepresentação de alelos HLA-B57 e B-27
Células NK	Anergia na resposta; Fenótipo de exaustão na fase crónica NKCD56 <sup>neg</sup>	Preservado fenótipo NK com alta atividade citolítica (NKCD56 <sup>dim, bright</sup> )
GALT	Perda de LT-CD4 da mucosa rápida e profunda, facilitação da translocação microbiana e ativação imunitária generalizada que contribui para o fenótipo de exaustão	Concentrações elevadas de LT-CD4 e LT-CD8 Controlo precoce mais eficaz Menor número de células latentes infetadas Menor translocação microbiana
Resposta LT-CD4	Produção de IL-2 diminui Exaustão clonal	Respostas mais polifuncionais e sustentadas Menor ativação Exaustão clonal mínima
Resposta LT-CD8	Resposta mono ou bifuncional Resposta proliferativa baixa Efeito fraco na supressão da replicação Qualidade lítica menor	Respostas polifuncionais fortes VIH-específicas contra o gag sobretudo se HLA-B57 ou HLA-B27 Ativação imunitária baixa mas com resposta proliferativa intensa Alta eficácia na supressão da replicação Qualidade lítica alta Presença de células T centrais de memória

ativação imunitária mas com respostas específicas mais polifuncionais, robustas e eficazes, a menor atividade de moléculas pró-exaustão clonal e a menor expressão de marcadores de progressão da doença são até a data os dados mais convincentes sobre a atuação dos linfócitos T-CD4 no controlo do VIH.

O reconhecimento da importância dos LT-CD8 no controlo viral surgiu cedo no estudo dos CE. Os LT-CD8 dos CE apresentam respostas rápidas, polifuncionais e altamente eficazes que parecem ser críticas na eliminação de células infetadas e no controlo a longo prazo da replicação viral. A descoberta recente do fenótipo de células T centrais de memória ilumina a questão de como é que os CE, caracteristicamente com baixos níveis de ativação imunitária, respondem tão eficazmente a estimulações mínimas com antígeno e aproxima estes doentes do conceito de

cura funcional. Os LT-CD8 são assim a chave do controlo e os esforços para o desenvolvimento de uma vacina passam atualmente por estas células.

É hoje incontornável a importância de criar alternativas viáveis à TARV, nomeadamente uma vacina. Para isso tem sido fundamental o estudo dos mecanismos do controlo de elite uma vez que estes representam na atualidade o melhor exemplo de controlo da replicação e de uma resposta imunitária vigorosa e eficaz contra o VIH. Estes doentes não poderão orientar a criação de uma vacina preventiva, visto que não tem anticorpos neutralizantes altamente eficazes, mas serão modelos para uma vacina terapêutica, que não previne a infeção nem a erradica mas inibe a replicação viral e mantém o controlo imunitário, ou seja, permite uma cura funcional.

## / Bibliografia

- Okulicz, J.F. and O. Lambotte, *Epidemiology and clinical characteristics of elite controllers*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 163-8.
- Lobritz, M.A., K.G. Lassen, and E.J. Arts, *HIV-1 replicative fitness in elite controllers*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 214-20.
- Okulicz, J.F., et al., *Clinical outcomes of elite controllers, viremic controllers, and long-term nonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study*. *J Infect Dis*, 2009. 200(11): p. 1714-23.
- Grabar, S., et al., *Prevalence and comparative characteristics of long-term nonprogressors and HIV controller patients in the French Hospital Database on HIV*. *AIDS*, 2009. 23(9): p. 1163-9.
- International, H.I.V.C.S., et al., *The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation*. *Science*, 2010. 330(6010): p. 1551-7.
- Zaunders, J., W.B. Dyer, and M. Churchill, *The Sydney Blood Bank Cohort: implications for viral fitness as a cause of elite control*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 151-6.
- Buckheit, R.W., 3rd, et al., *The implications of viral reservoirs on the elite control of HIV-1 infection*. *Cell Mol Life Sci*, 2013. 70(6): p. 1009-19.
- Blankson, J.N., et al., *Isolation and characterization of replication-competent human immunodeficiency virus type 1 from a subset of elite suppressors*. *J Virol*, 2007. 81(5): p. 2508-18.
- Bailey, J.R., et al., *Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a patient who developed AIDS to an elite suppressor*. *J Virol*, 2008. 82(15): p. 7395-410.
- Buckheit, R.W., 3rd, et al., *Host factors dictate control of viral replication in two HIV-1 controller/chronic progressor transmission pairs*. *Nat Commun*, 2012. 3: p. 716.
- Miura, T., et al., *HLA-associated alterations in replication capacity of chimeric NL4-3 viruses carrying gag-protease from elite controllers of human immunodeficiency virus type 1*. *J Virol*, 2009. 83(1): p. 140-9.
- Lassen, K.G., et al., *Elite suppressor-derived HIV-1 envelope glycoproteins exhibit reduced entry efficiency and kinetics*. *PLoS Pathog*, 2009. 5(4): p. e1000377.
- Graf, E.H., et al., *Elite suppressors harbor low levels of integrated HIV DNA and high levels of 2-LTR circular HIV DNA compared to HIV+ patients on and off HAART*. *PLoS Pathog*, 2011. 7(2): p. e1001300.
- Hatano, H., et al., *Evidence for persistent low-level viremia in individuals who control human immunodeficiency virus in the absence of antiretroviral therapy*. *J Virol*, 2009. 83(1): p. 329-35.
- Goujard, C., et al., *Spontaneous control of viral replication during primary HIV infection: when is "HIV controller" status established?* *Clin Infect Dis*, 2009. 49(6): p. 982-6.
- O'Connell, K.A., et al., *Control of HIV-1 in elite suppressors despite ongoing replication and evolution in plasma virus*. *J Virol*, 2010. 84(14): p. 7018-28.
- Spivak, A.M., et al., *Circulating monocytes are not a major reservoir of HIV-1 in elite suppressors*. *J Virol*, 2011. 85(19): p. 10399-403.
- Migueles, S.A., et al., *HLA B\*5701 is highly associated with restriction of virus replication in a subgroup of HIV-infected long term nonprogressors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. 97(6): p. 2709-14.
- Bochud, P.Y., et al., *Polymorphisms in Toll-like receptor 9 influence the clinical course of HIV-1 infection*. *AIDS*, 2007. 21(4): p. 441-6.
- Machmach, K., et al., *Plasmacytoid dendritic cells reduce HIV production in elite controllers*. *J Virol*, 2012. 86(8): p. 4245-52.
- Blankson, J.N., *Effector mechanisms in HIV-1 infected elite controllers: highly active immune responses?* *Antiviral Res*, 2010. 85(1): p. 295-302.
- Berger, C.T. and G. Alter, *Natural killer cells in spontaneous control of HIV infection*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 208-13.
- Thomas, R., et al., *HLA-C cell surface expression and control of HIV/AIDS correlate with a variant upstream of HLA-C*. *Nat Genet*, 2009. 41(12): p. 1290-4.
- Bjorkstrom, N.K., H.G. Ljunggren, and J.K. Sandberg, *CD56 negative NK cells: origin, function, and role in chronic viral disease*. *Trends Immunol*, 2010. 31(11): p. 401-6.

25. Vieillard, V., et al., *Specific phenotypic and functional features of natural killer cells from HIV-infected long-term nonprogressors and HIV controllers*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010. 53(5): p. 564-73.
26. Brenchley, J.M. and D.C. Douek, *HIV infection and the gastrointestinal immune system*. *Mucosal Immunol*, 2008. 1(1): p. 23-30.
27. Forthal, D.N. and C. Moog, *Fc receptor-mediated antiviral antibodies*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2009. 4(5): p. 388-93.
28. Lambotte, O., et al., *Heterogeneous neutralizing antibody and antibody-dependent cell cytotoxicity responses in HIV-1 elite controllers*. *AIDS*, 2009. 23(8): p. 897-906.
29. Shacklett, B.L. and A.L. Ferre, *Mucosal immunity in HIV controllers: the right place at the right time*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 202-7.
30. Critchfield, J.W., et al., *Magnitude and complexity of rectal mucosa HIV-1-specific CD8+ T-cell responses during chronic infection reflect clinical status*. *PLoS One*, 2008. 3(10): p. e3577.
31. Ferre, A.L., et al., *Mucosal immune responses to HIV-1 in elite controllers: a potential correlate of immune control*. *Blood*, 2009. 113(17): p. 3978-89.
32. Loke, P., et al., *Correlating cellular and molecular signatures of mucosal immunity that distinguish HIV controllers from noncontrollers*. *Blood*, 2010. 115(15): p. e20-32.
33. Ferre, A.L., et al., *HIV controllers with HLA-DRB1\*13 and HLA-DQB1\*06 alleles have strong, polyfunctional mucosal CD4+ T-cell responses*. *J Virol*, 2010. 84(21): p. 11020-9.
34. Pereyra, F., et al., *Genetic and immunologic heterogeneity among persons who control HIV infection in the absence of therapy*. *J Infect Dis*, 2008. 197(4): p. 563-71.
35. Doria-Rose, N.A., et al., *Frequency and phenotype of human immunodeficiency virus envelope-specific B cells from patients with broadly cross-neutralizing antibodies*. *J Virol*, 2009. 83(1): p. 188-99.
36. Nakanishi, Y., et al., *CD8(+) T lymphocyte mobilization to virus-infected tissue requires CD4(+) T-cell help*. *Nature*, 2009. 462(7272): p. 510-3.
37. Yang, Y., et al., *CD4 T-cell regeneration in HIV-1 elite controllers*. *AIDS*, 2012. 26(6): p. 701-6.
38. Sedaghat, A.R., et al., *T cell dynamics and the response to HAART in a cohort of HIV-1-infected elite suppressors*. *Clin Infect Dis*, 2009. 49(11): p. 1763-6.
39. Chen, H., et al., *CD4+ T cells from elite controllers resist HIV-1 infection by selective upregulation of p21*. *J Clin Invest*, 2011. 121(4): p. 1549-60.
40. Saez-Cirion, A., et al., *Restriction of HIV-1 replication in macrophages and CD4+ T cells from HIV controllers*. *Blood*, 2011. 118(4): p. 955-64.
41. Rabi, S.A., et al., *Unstimulated primary CD4+ T cells from HIV-1-positive elite suppressors are fully susceptible to HIV-1 entry and productive infection*. *J Virol*, 2011. 85(2): p. 979-86.
42. O'Connell, K.A., et al., *CD4+ T cells from elite suppressors are more susceptible to HIV-1 but produce fewer virions than cells from chronic progressors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011. 108(37): p. E689-98.
43. Tilton, J.C., et al., *Changes in paracrine interleukin-2 requirement, CCR7 expression, frequency, and cytokine secretion of human immunodeficiency virus-specific CD4+ T cells are a consequence of antigen load*. *J Virol*, 2007. 81(6): p. 2713-25.
44. Betts, M.R., et al., *Analysis of total human immunodeficiency virus (HIV)-specific CD4(+) and CD8(+) T-cell responses: relationship to viral load in untreated HIV infection*. *J Virol*, 2001. 75(24): p. 11983-91.
45. Hunt, P.W., et al., *Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy*. *J Infect Dis*, 2008. 197(1): p. 126-33.
46. Owen, R.E., et al., *HIV+ elite controllers have low HIV-specific T-cell activation yet maintain strong, polyfunctional T-cell responses*. *AIDS*, 2010. 24(8): p. 1095-105.
47. Emu, B., et al., *HLA class I-restricted T-cell responses may contribute to the control of human immunodeficiency virus infection, but such responses are not always necessary for long-term virus control*. *J Virol*, 2008. 82(11): p. 5398-407.
48. Potter, S.J., et al., *Preserved central memory and activated effector memory CD4+ T-cell subsets in human immunodeficiency virus controllers: an ANRS EP36 study*. *J Virol*, 2007. 81(24): p. 13904-15.
49. Vingert, B., et al., *HIV controller CD4+ T cells respond to minimal amounts of Gag antigen due to high TCR avidity*. *PLoS Pathog*, 2010. 6(2): p. e1000780.
50. Porichis, F. and D.E. Kaufmann, *HIV-specific CD4 T cells and immune control of viral replication*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 174-80.
51. D'Souza, M., et al., *Programmed death 1 expression on HIV-specific CD4+ T cells is driven by viral replication and associated with T cell dysfunction*. *J Immunol*, 2007. 179(3): p. 1979-87.
52. Kaufmann, D.E., et al., *Upregulation of CTLA-4 by HIV-specific CD4+ T cells correlates with disease progression and defines a reversible immune dysfunction*. *Nat Immunol*, 2007. 8(11): p. 1246-54.
53. Brandt, L., et al., *Low level of regulatory T cells and maintenance of balance between regulatory T cells and TH17 cells in HIV-1-infected elite controllers*. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2011. 57(2): p. 101-8.
54. Genovese, L., M. Nebuloni, and M. Alfano, *Cell-Mediated Immunity in Elite Controllers Naturally Controlling HIV Viral Load*. *Front Immunol*, 2013. 4: p. 86.
55. Li, D., et al., *Loss of balance between T helper type 17 and regulatory T cells in chronic human immunodeficiency virus infection*. *Clin Exp Immunol*, 2011. 165(3): p. 363-71.
56. Almeida, J.R., et al., *Superior control of HIV-1 replication by CD8+ T cells is reflected by their avidity, polyfunctionality, and clonal turnover*. *J Exp Med*, 2007. 204(10): p. 2473-85.
57. Saez-Cirion, A., et al., *Heterogeneity in HIV suppression by CD8 T cells from HIV controllers: association with Gag-specific CD8 T cell responses*. *J Immunol*, 2009. 182(12): p. 7828-37.
58. Saez-Cirion, A., et al., *HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. 104(16): p. 6776-81.
59. Betts, M.R., et al., *HIV nonprogressors preferentially maintain highly functional HIV-specific CD8+ T cells*. *Blood*, 2006. 107(12): p. 4781-9.
60. Lopez, M., et al., *Elite controllers display higher activation on central memory CD8 T cells than HIV patients successfully on HAART*. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2011. 27(2): p. 157-65.
61. Hersperger, A.R., et al., *Qualitative features of the HIV-specific CD8+ T-cell response associated with immunologic control*. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011. 6(3): p. 169-73.
62. Ndhlovu, Z.M., et al., *Elite controllers with low to absent effector CD8+ T cell responses maintain highly functional, broadly directed central memory responses*. *J Virol*, 2012. 86(12): p. 6959-69.



ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

# Micoses endémicas em doentes sob imunomoduladores

# Endemic mycoses in patients on immunomodulatory treatment

/ Rute Aleixo<sup>1</sup> / Cândida Abreu<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

<sup>2</sup> Assistente Hospitalar Graduada – Serviço de Doenças Infecciosas do Centro Hospitalar São João e Faculdade de Medicina do Porto, Portugal

Instituto de Inovação e Investigação em Saúde (I&S). Grupo de I&D em Nefrologia e Doenças Infecciosas. Instituto Nacional de Engenharia Biomédica (INEB)

Correspondência:

**Cândida Abreu**

Alameda Prof. Hernâni Monteiro  
4200 - 319, Porto, Portugal  
e-mail: candida.abreu@gmail.com

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade

Artigo recebido em  
25/05/2015

Artigo aceite para publicação em  
12/08/2015

/ **Resumo**

No arsenal terapêutico das doenças inflamatórias os imunomoduladores, dos quais se destacam os inibidores do fator de necrose tumoral alfa (anti-TNF $\alpha$ ), em monoterapia ou em associação, são cada vez mais prescritos, com indelével vantagem para os doentes. A terapêutica com inibidores do TNF $\alpha$ , especialmente se em associação com outros imunomoduladores, apresenta risco acrescido de infeção granulomatosa, nomeadamente por fungos endémicos. Dentro destes, destaca-se a infeção por *Histoplasma capsulatum*.

O *Histoplasma*, *Blastomyces* e *Coccidioides spp*, os três principais fungos endémicos, têm localização restrita a zonas da América do Norte e Central, áreas da África subsariana, Médio Oriente e Índia, causando doença essencialmente pulmonar. Nos hospedeiros sob imunomoduladores a infeção tende a ser grave e as manifestações inespecíficas, pulmonares, extrapulmonares ou disseminadas. A inespecificidade de sintomas contribui para que a infeção fúngica não seja diagnosticada, ou o seja tardiamente, com implicações na evolução e desfecho clínico. A doença é ainda de mais difícil diagnóstico em áreas não endémicas, onde é raramente observada.

Contudo, devido à elevada mobilidade populacional é necessário estar atento ao potencial risco epidemiológico de micose endémica nos doentes sob terapêutica imunomoduladora. A abordagem dos doentes que desenvolvem infeção fúngica endémica sob terapêutica com inibidores do TNF $\alpha$  pressupõe implementação precoce de antifúngicos e a suspensão do inibidor do TNF $\alpha$ . Dos casos descritos na literatura mais de 98% surgiram em doentes sob associação de imunomoduladores, mais frequentemente em doentes tratados com infliximab. A duração da terapêutica antifúngica, a retoma de imunossuppressores e as medidas preventivas da infeção fúngica endémica são também abordadas.

**Palavras-chave:** histoplasmose, blastomicose, coccidioidomicose, imunomoduladores, anti-TNF $\alpha$ .



## / Abstract

*Inflammatory diseases are widely treated with immunomodulators, including tumour necrosis factor alfa (TNF $\alpha$ ) inhibitors, and frequently with more than one drug. Patients treated with TNF $\alpha$  inhibitors, especially if in association with other immunomodulators, are at significant risk for granulomatous infection, namely endemic fungi, being the most common *Histoplasma capsulatum*.*

*Histoplasma, Blastomyces and Coccidioides spp, the three most common endemic fungi, have a restrict distribution on North and Central America and some regions in Sub-Saharan Africa, Middle East and India, causing more commonly pulmonary disease. In the immunosuppressed host the infection tends to be severe and disseminated and mortality has been high. Patients may present atypical and severe pulmonary, extrapulmonary or disseminated disease, and the fungal infection can be mistaken or lately diagnosed and treated. The disease is even more difficult to diagnose out of endemic areas. Globalization, travel and migration change the scenario of these diseases and attention should be paid to epidemiological risks concerning patients under immunomodulators. The management of patients who develop endemic fungal infection while receiving TNF $\alpha$  inhibitor therapy entails early use of antifungal agents and should include discontinuation of the TNF $\alpha$  inhibitor. More than 98% of the cases published in the literature were diagnosed in patients treated with two or more immunomodulatory drugs, more commonly in patients treated with infliximab. Antifungal therapy duration, restarting immunosuppressors after the disease and preventive measures of endemic fungus infection are debated.*

**Key-words:** *histoplasmosis, blastomycosis, coccidioidomycosis, immunomodulators, anti-TNF $\alpha$ .*

## / Introdução

O paradigma no tratamento das doenças inflamatórias, resultante da disponibilização dos novos fármacos imunomoduladores, alterou a história natural destas doenças com um ganho indelével na qualidade de vida dos doentes<sup>1-3</sup>. Doentes com doença inflamatória intestinal, artrite reumatoide, espondilite anquilosante, artrite psoriática e até mesmo esclerose múltipla (citando apenas as mais comumente diagnosticadas) são agora muito mais eficazmente tratados, graças a uma plêiade de fármacos biológicos – em que se incluem inibidores dos fatores de necrose tumoral alfa (anti-TNF $\alpha$ ) – e a um sempre crescente número de anticorpos monoclonais<sup>2,3</sup>. Contudo, e paralelamente a este ganho, surgem receios em relação ao risco infeccioso que se lhes possa associar<sup>3</sup>. Frequentemente várias classes de fármacos como tiopurinas, inibidores da calcineurina e corticoides são prescritos em associação a fármacos biológicos, o que aumenta o risco infeccioso<sup>2</sup>. Particularmente em relação aos anti-TNF $\alpha$ , o risco

de infeções por agentes intracelulares e de infeções granulomatosas (das quais se salienta a tuberculose e infeções por outras micobactérias, a infeção grave por *Listeria monocytogenes* e as infeções micóticas) está aumentado, já que estes fármacos impedem ou diminuem a capacidade de formação de granulomas e dificultam assim a contenção da infeção<sup>1,2,4</sup>.

Muito se tem escrito relativamente a algumas destas infeções mais comuns em associação a anti-TNF $\alpha$ , como a tuberculose, a listeriose invasiva e a pneumocistose<sup>1,4</sup>. As micoses endémicas (histoplasmose, blastomicose e coccidioidomicose), igualmente infeções granulomatosas – comumente associadas a infeções respiratórias em zonas endémicas – constituem um risco nesta população de doentes imunomodulados. Se bem que com uma distribuição em áreas geográficas restrita, a capacidade que os fungos causadores das micoses endémicas têm de permanecer latentes e serem reativados anos depois<sup>5,6</sup> coloca em risco uma maior faixa de população e, muito em particular, os doentes sob

anti-TNF $\alpha$ . Acresce que estes doentes vão sendo cada vez mais velhos, sendo a idade em si um fator de risco para infeções micóticas<sup>7</sup>.

Considerando a cada vez maior mobilidade populacional – pelo aumento do turismo, deslocações por trabalho, programas de cooperação internacional e migração – o risco é potenciado<sup>5, 7-9</sup>. De facto têm sido descritos cada vez mais casos destas micoses em zonas não endémicas, ocorrendo na sua maioria em doentes imunossuprimidos<sup>5, 7-9</sup>. Nestes doentes a doença adquire frequentemente um carácter disseminado e grave, associando-se a uma mais elevada taxa de mortalidade<sup>1</sup>. Assim, urge um diagnóstico precoce, que só será possível se houver suspeição clínica. Contrariamente ao que se passa com a tuberculose, não há *guidelines* no rastreio de micoses endémicas antes de iniciar terapêutica com agentes anti-TNF $\alpha$ <sup>10</sup>.

Com a presente revisão pretende-se alertar para o risco das micoses endémicas em doentes imunomodulados, revendo o que está descrito e estabelecido na literatura bem como aspetos em discussão, após breve revisão de zonas de endemia e considerações sobre a clínica, diagnóstico e terapêutica, com especial atenção às especificidades do doente imunomodulado.

## / Materiais e Métodos

Realizou-se pesquisa em bases de dados da PubMed e MEDLINE. Foram analisados todos os artigos publicados em revistas indexadas sujeitas a revisão por pares entre 1 de janeiro de 1995 e 1 de março de 2015 referentes a micoses endémicas em doentes imunomodulados, utilizando os termos "*endemic mycosis*", "*endemic fungi*", "*fungal infection*", "*Histoplasma capsulatum*", "*histoplasmosis*", "*Blastomyces spp*", "*blastomycosis*", "*Coccidioides*", "*coccidioidomycosis*" "*anti-TNF*", "*immunomodulators*", "*immunossuppression*".

## / Micoses endémicas: áreas de distribuição e incidência

De distribuição assimétrica, as três mais importantes micoses endémicas (histoplasmose, coccidioidomicose e blastomicose) tendem a ocorrer em áreas climáticas específicas<sup>8</sup>. A histoplasmose é a infeção fúngica endémica mais comum e a mais amplamente disseminada, encontrando-se descrita em mais de 60 países<sup>1, 8</sup>. A variante americana é mais prevalente, causada pelo *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (com predisposição para climas tropicais, surgindo maioritariamente na América Central e do Sul, costa Este dos EUA, Vales do Rio Mississipi e Ohio, Sudoeste mexicano, Índia e Médio-Oriente) – Figura 1. A histoplasmose causada pela variante africana (*Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*) é muito mais rara, sendo descrita em Madagáscar, África Central e Ocidental – em especial Nigéria e República do Níger<sup>7, 8, 11-15</sup>.

A histoplasmose é a micose endémica mais frequentemente adquirida pelos viajantes europeus<sup>9</sup>. Têm sido descritos alguns

casos autóctones causados por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* na Europa, maioritariamente em Itália (solo do vale do rio Pó)<sup>9, 14</sup>. Também foram descritos casos autóctones na Hungria, Roménia, Alemanha, Grã-Bretanha, Turquia, antiga União Soviética, Espanha e Portugal<sup>8, 9, 14</sup>, podendo assim ser considerada uma doença emergente em países não-endémicos<sup>9</sup>.

A blastomicose, provocada pelo fungo dimórfico *Blastomyces dermatidis*, surge maioritariamente no Canadá e Este dos EUA, entre os Vales dos Rios Ohio e Mississipi, mas também na África Central e Oriental<sup>5, 8</sup> – Figura 1.

Já a coccidioidomicose, causada pelo *Coccidioides immitis*, tem uma distribuição mais limitada em estados americanos (Califórnia – maioritariamente Vale de San Joaquin – Arizona, Texas, Nevada, Utah e Novo México) – Figura 1. A variante causada pelo *Coccidioides posadasii* distribui-se por algumas regiões dos EUA, norte mexicano e áreas da América Central (Guatemala, Honduras, Nicarágua) e do Sul (Argentina, Paraguai, Venezuela, Colômbia, Brasil)<sup>8, 16, 17</sup>.

A incidência destas doenças em áreas endémicas é difícil de determinar com precisão, por não serem de declaração obrigatória na maioria dos estados/áreas geográficas e terem um amplo espectro de manifestações clínicas<sup>18-20</sup>. Nos EUA foi estimado, por teste cutâneo de deteção de histoplasmina, que 60 a 90% dos habitantes dos Vales dos Rios Ohio e Mississipi já contactaram com *Histoplasma*<sup>21</sup>. Um estudo americano relativo ao ano de 2002 evidencia que a mortalidade hospitalar por histoplasmose foi de 8% nos adultos, estando sob imunomoduladores 14% desses doentes hospitalizados<sup>22</sup>. Outro estudo abordando histoplasmose sintomática, entre 1998 e 2008, verificou mortalidade de 4% aos 6 meses<sup>23</sup>.

Nas zonas endémicas para coccidioidomicose há estudos, utilizando testes de deteção antigénica cutânea, que apontam para prevalência de 30% de infeção na população<sup>24</sup>. Cerca de 130.000 casos foram declarados aos CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (EUA) entre 1998 e 2011, mas só no ano de 2012 foram declarados 17.000<sup>18, 25, 26</sup>.

## / Risco e impacto das micoses endémicas em doentes sob anti-TNF $\alpha$

O fator de necrose tumoral alfa é essencial para a formação e manutenção do granuloma e estimula a produção de interferão, que leva à fagocitose e atividade antifúngica<sup>27-30</sup>. Por outro lado, o uso de inibidores de TNF $\alpha$  diminui a resposta celular, também esta importante na defesa contra as infeções fúngicas. Em 2002 foram relatados os primeiros 10 casos de histoplasmose associados a anti-TNF $\alpha$ <sup>31</sup>; dois anos após, Wallis<sup>32</sup> mostrou que havia risco significativo de micoses endémicas em doentes sob infliximab. Parece ser consensual que em quase todos os casos a doença surge nos doentes sob anti-TNF $\alpha$  com associação de imunomoduladores (98% em 281 casos, publicados por Tsiodras et

a/ em 2008<sup>3</sup>) e maioritariamente são casos de histoplasmoze. Também é globalmente aceite que os casos de histoplasmoze representem maioritariamente infeção primária atendendo a que a reativação de doença latente parece ser rara, mesmo em áreas endémicas<sup>31, 33, 34</sup>.

### Histoplasmoze

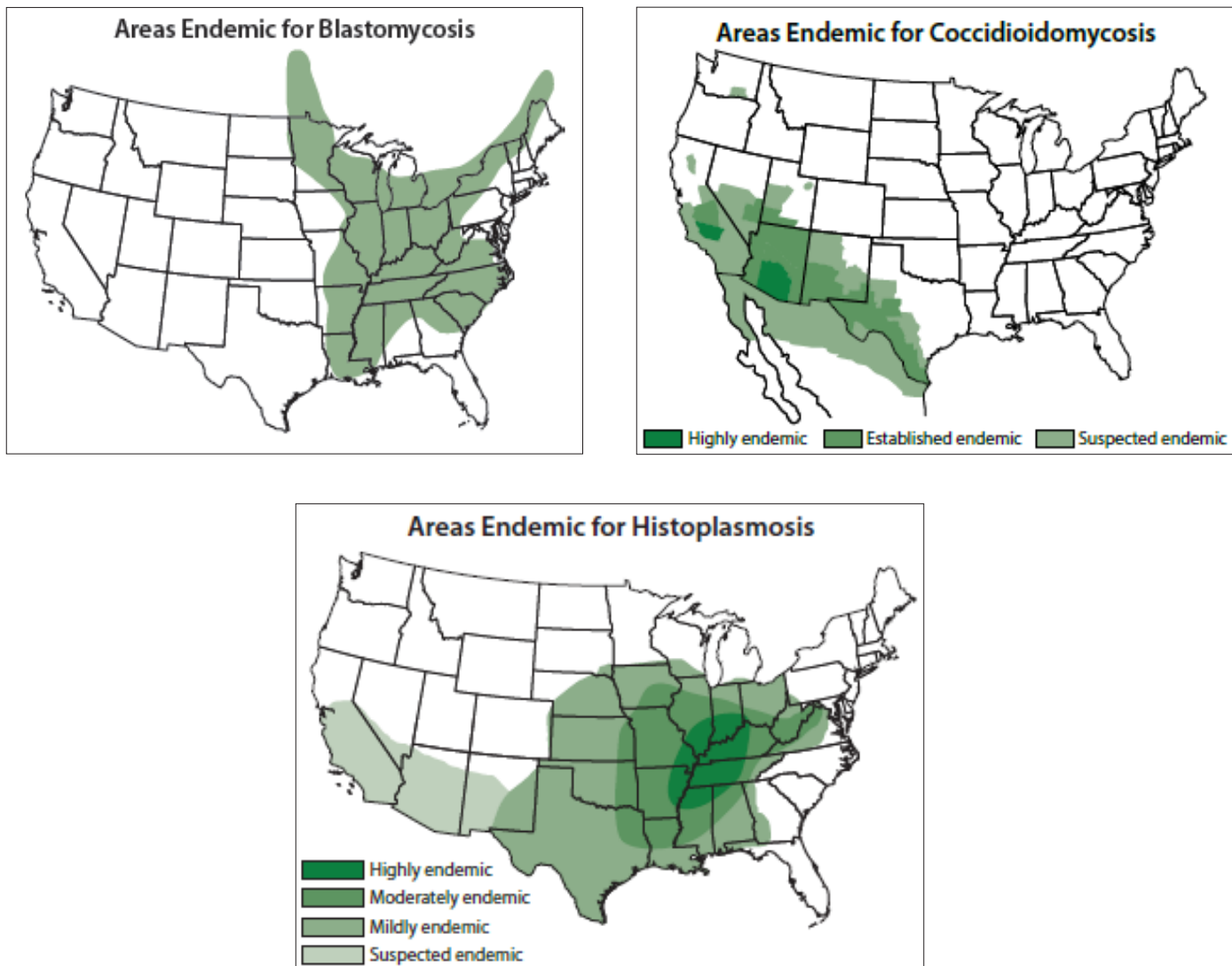
Dos primeiros 10 casos relatados em 2002<sup>31</sup> todos estavam medicados com associações de imunomoduladores, 9 faziam infliximab e 1 etanercept. Nos doentes medicados com infliximab

as manifestações clínicas surgiram 1 a 20 semanas após a primeira (e em alguns doentes única) dose do fármaco.

Em 2008 a Food and Drug Administration (FDA)<sup>37</sup> registava 240 casos de histoplasmoze em doentes tratados com infliximab (207 casos), etanercept (17 casos) e adalimumab (16 casos); um caso foi mais tarde associado ao certolizumab pegol.

A incidência de histoplasmoze em doentes tratados com anti-TNF $\alpha$  foi estimada em 18,78 por 100 000 pessoas para o infliximab e 2,65 por 100 000 pessoas para o etanercept<sup>35</sup>. Contudo, esta

Figura 1 – Áreas endémicas de *Histoplasma*, *Blastomyces* e *Coccidioides* nos EUA



incidência tem grande variabilidade geográfica e pode ser mesmo mais elevada em zonas endémicas<sup>35</sup>. Em áreas endémicas para o fungo, a histoplasmose em doentes sob anti-TNF $\alpha$  tem sido diagnosticada três vezes mais do que tuberculose<sup>10</sup>. A mortalidade associada à infeção foi em alguns estudos de 20%<sup>10</sup>.

#### **Coccidioidomicose**

Dada a restrição geográfica do *Coccidioides* (*C. immitis* no sul da Califórnia e *C. posadasii* nas outras áreas) é difícil estimar a incidência em doentes sob anti-TNF $\alpha$ . Ainda assim foi estimada uma incidência de doença sintomática, sendo esta de 5,58 por 100 000 pessoas tratadas com infliximab, e de 0,88 por 100 000 pessoas no tratamento com etanercept<sup>35</sup>.

Dos primeiros 13 casos em doentes sob anti-TNF $\alpha$  publicados, 12 estavam medicados com infliximab (associado a metotrexato em 11 destes) e um com etanercept<sup>36</sup>. Tsiodras e co-autores referem (em 2008) estarem publicados na literatura 29 casos de coccidioidomicose, 27 (93%) dos quais associados a infliximab e dois (7%) a adalimumab<sup>3</sup>; todos estavam concomitantemente medicados com corticoide ou metotrexato.

#### **Blastomicose**

Classicamente este fungo dimórfico, *B. dermatitidis*, causador da blastomicose, não é considerado agente de infeção oportunista nos doentes imunossuprimidos, já que a infeção pelo fungo induz imunidade celular de células T e imunidade associada a neutrófilos<sup>5</sup>. Em doentes tratados com anti-TNF $\alpha$  foram registados pela FDA (Adverse Event Reporting System) sete casos até meados de 2008<sup>37</sup>.

### **/ Portas de entrada dos agentes fúngicos**

Tal como noutras infeções fúngicas, a porta de entrada dos fungos endémicos no hospedeiro humano é a inalação de conídios, que sofrem transformação e divisão no alvéolo pulmonar<sup>4,5</sup>. Enquanto agentes patogénicos intracelulares, são incorporados por neutrófilos e macrófagos, replicando-se no seu interior. A infeção pode desencadear resposta imune celular (infeção ativa) ou o fungo pode permanecer quiescente, muitas vezes durante anos<sup>4,38</sup>. O pulmão é, assim, o local de infeção inicial a partir do qual pode haver disseminação linfática e hematogénea<sup>8,38</sup>.

Pode ainda ocorrer infeção cutânea primária por inoculação direta, se bem que seja muito pouco frequente<sup>5,38</sup>. Os casos existentes foram descritos em indivíduos feridos com objetos contaminados ou mordidos por animais infetados; no local de inoculação é descrito um nódulo ou úlcera, frequentemente acompanhado de linfangite ou linfadenopatia regional, sem sinais ou sintomas sistémicos na maioria dos casos<sup>5,38</sup>.

A transmissão pelo contacto direto com pessoas ou animais infetados é ainda mais rara e ocorre apenas excepcionalmente<sup>6,44</sup>.

### **/ Manifestações Clínicas**

O espectro de doença vai desde infeção subclínica e autolimitada a doença disseminada progressiva, sendo o estado de imunidade do hospedeiro determinante na apresentação e evolução<sup>8,9,45</sup>. A doença pode assumir um carácter pulmonar agudo, crónico ou disseminado<sup>1,4,5,38,46</sup>. Na histoplasmose, a infeção pulmonar pode resolver até sem terapêutica mas pode persistir pneumonite ou inflamação dos gânglios mediastínicos. Pericardite, artrite e eritema nodoso podem ocorrer. A doença disseminada significa falência da resposta imune e está associada a atingimento gastrointestinal, medular (pancitopenia), hepatoesplenomegalia e lesões cutâneas<sup>47</sup>.

Na blastomicose a doença extrapulmonar (atingindo pele, osso, sistema genito-urinário) está descrita em 25-40% dos doentes com infeção crónica<sup>48</sup>. É considerada infeção oportunista em fase tardia de SIDA e em transplantados sob terapêutica imunossupressora.

A coccidioidomicose habitualmente apresenta-se como uma pneumonia aguda ou subaguda; contudo a doença pode ser progressiva ou disseminada. As complicações extrapulmonares que são escassas na população caucasiana (0,5%) podem ser muito frequentes nos doentes sob imunossupressores<sup>49</sup>. Em 29 doentes com coccidioidomicose sob imunomoduladores, 15 tinham formas pulmonares e 4 infeção disseminada<sup>3</sup>.

Nas apresentações de doença crónica há que considerar os diagnósticos diferenciais com micobacterioses por *M. tuberculosis*, *M. avium* e *M. kansasii*<sup>16</sup>.

### **/ Teoria explicativa do efeito do TNF $\alpha$**

A citocina TNF- $\alpha$  aparenta ser a mais influente na defesa do organismo contra o fungo, limitando a formação e manutenção de granulomas e estimulando a resposta inflamatória celular; é, pois, aceite que exista uma maior suscetibilidade à reinfeção sintomática e um maior risco de reativação em doentes sob o efeito de inibidores do TNF $\alpha$ <sup>2-4,11,38,39</sup>. Nestes indivíduos, o fungo quiescente pode ser ativado após início de terapêutica imunossupressora, despoletando doença, muitas vezes disseminada<sup>2,5,7,16,39-41</sup>. A reativação do fungo no caso da histoplasmose é, para alguns autores<sup>10</sup>, rara mas mais frequente no caso da coccidioidomicose<sup>42</sup> e blastomicose (até 25% dos casos nos doentes com infeção por vírus da imunodeficiência humana)<sup>43</sup>. No entanto outros autores dizem ser a histoplasmose associada a anti-TNF $\alpha$  sugestiva de reativação, já que os sintomas surgem tão cedo quanto as 1-4 semanas após a administração de anti-TNF $\alpha$ . Há também um caso de histoplasmose descrito num doente residente fora de zona endémica, mas que tinha habitado anteriormente em zona de endemia para o fungo<sup>39</sup>.

## / Diagnóstico

Em doentes imunomediados com história de estada em zonas de micose endémica, sintomas respiratórios que não resolvem com o tratamento habitual do quadro respiratório e que se prolongam no tempo devem fazer suspeitar de infeção micótica<sup>50</sup>. Quadros respiratórios graves, com insuficiência respiratória e síndrome de dificuldade respiratória aguda podem, nesses doentes, ser tradutores de infeção micótica<sup>50</sup>. A suspeição clínica assume assim o primeiro passo no diagnóstico.

Laboratorialmente, o diagnóstico baseia-se em cinco pilares (Tabela 1): a cultura fúngica, que é o *goldstandard* mas demorada; a histopatologia dos tecidos afetados; a pesquisa de anticorpos (estudo serológico); a determinação de antígenos específicos do fungo (sangue e/ou urina e testes cutâneos) e, mais recentemente, a deteção de material genético do fungo por técnica de biologia molecular, que poderá vir a ganhar maior relevância futuramente<sup>1, 5, 8, 13, 46, 51, 52</sup>. No hospedeiro imunomodulado a resposta serológica pode não ser positiva numa percentagem de casos importante (falsos-negativos). A deteção dos antígenos pode ainda ser útil na avaliação da resposta terapêutica ou na reinfeção<sup>53</sup>.

Em Portugal para além de cultura é possível realizar teste antigénico para *Histoplasma*, *Coccidioides* e *Blastomyces* no

Instituto Ricardo Jorge. Na suspeita clínica do diagnóstico e dado serem fungos dimórficos, o laboratório deve ser informado, já que a cultura deverá incluir sementeira em meios ricos com incubação a 35°C (onde o fungo se apresenta sob a forma de levedura) e em meios mais pobres com incubação a 25°C (onde o fungo tem forma filamentosa).

As técnicas de biologia molecular para *Histoplasma* vão estando disponíveis em alguns hospitais.

### *Histoplasmoses*

Na suspeita de histoplasmoses a avaliação deve incluir duas hemoculturas e cultura do lavado broncoalveolar, deteção antigénica de polissacarídeos capsulares de *Histoplasma* (antigenemia e antigenúria) e serologia<sup>54</sup>. O diagnóstico histopatológico utiliza coloração pela metenammina de prata, que revela os pequenos fungos ovais com protuberância, sugestivos de *H. capsulatum*. No hospedeiro sob imunomoduladores, até 40% dos doentes com histoplasmoses sintomática não são capazes de montar uma resposta de anticorpos, o que impede a utilização fiável de testes serológicos<sup>52, 53</sup>. O antígeno histoplasmina pode ser detetado na urina, soro, líquido cefalorraquidiano ou lavado bronco-alveolar<sup>52, 53</sup>. A sensibilidade antigénica é de 90% quando o teste é realizado na urina, e de 80% quando realizado no soro,

**Tabela 1 – Avaliação diagnóstica nos doentes com micose endémica**

Teste Diagnóstico	<i>Histoplasma</i>	<i>Blastomyces</i>	<i>Coccidioides</i>
<b>Cultura</b> ( <i>goldstandard</i> )	Lavado broncoalveolar, aspirado de medula óssea, hemocultura  Maior sensibilidade em doentes com carga fúngica elevada <sup>5, 14</sup>	Lavado broncoalveolar, aspirado de medula óssea, hemocultura	Lavado broncoalveolar, aspirado de medula óssea, hemocultura  Rápido crescimento quando comparado com as outras micoses endémicas <sup>1</sup>
<b>Biopsia com Histopatologia</b>	Sobretudo útil em doença disseminada <sup>14</sup>	Método de resultado mais rápido <sup>1</sup>	Método de resultado mais rápido <sup>1</sup>
<b>Deteção Antigénica</b>  (Teste não invasivo, Rápido; 24-48h)	Teste cutâneo com histoplasmina Teste urinário e no soro: sensibilidade elevada; útil no imunodeprimido  Reação cruzada com blastomicose e paracoccidioidomicose  Útil para monitorizar eficácia pós-início de terapêutica e avaliar infeção recrudescente <sup>5, 14, 46</sup>	Teste urinário: importância no diagnóstico rápido de doença grave  Reação cruzada com histoplasmoses <sup>1, 5</sup>	Teste cutâneo com coccidoína  Teste urinário: a aguardar maior experiência na sua utilização <sup>1</sup>
<b>Serologia</b> (baixas especificidade e sensibilidade)	Reação cruzada com outras micoses  Útil em infeção crónica (2 a 6 semanas pós-contágio)  Exame positivo mesmo anos após primoinfeção <sup>5, 14, 46</sup>		Mais útil do que nas outras micoses nos doentes imunomediados <sup>17</sup>
<b>Testes de Biologia Molecular</b>	Confirmação de diagnóstico <sup>46</sup>	Confirmação de diagnóstico <sup>5</sup>	Confirmação de diagnóstico <sup>17</sup>



ocorrendo no entanto falsos-positivos por reação cruzada com blastomicose e coccidioomicose<sup>55</sup>. A realização seriada de teste antigénico no soro pode ser útil na avaliação da resposta à terapêutica ou nos casos de suspeita de reinfeção<sup>53</sup>.

### **Blastomicose**

O diagnóstico da blastomicose baseia-se na cultura e análise histopatológica do lavado bronco-alveolar, biópsia pulmonar ou cutânea<sup>43</sup>. Na biópsia surgem leveduras em gemulação com base alargada, assemelhando-se a um oito. O *Blastomyces dermatidis* é facilmente isolado a partir de secreções respiratórias, sendo a expectoração e lavado bronco-alveolar positivos em 86% e 100% dos casos, respetivamente. As serologias não têm sensibilidade e especificidade significativa para o diagnóstico; o teste de deteção antigénica na urina apresenta reação cruzada com histoplasmose<sup>56-58</sup>.

### **Coccidioomicose**

O exame histopatológico do tecido afetado é a forma mais rápida de chegar ao diagnóstico. As *Coccidioides spp* apresentam-se como esférulas grandes e podem ser visualizadas com colorações como a hematoxilina e eosina ou coloração pela prata. A cultura, ao contrário da histoplasmose e blastomicose, é rápida mas obriga a cuidados laboratoriais para evitar a dispersão dos artroconídios<sup>1</sup>. A cultura de *Coccidioides* a partir de expectoração tem baixo valor diagnóstico (positiva em 10-20% dos casos), devendo por isso ser realizada a partir de lavado bronco-alveolar<sup>17</sup>. Os testes serológicos são de sensibilidade e especificidade questionável, apesar de muito utilizados<sup>59</sup>. Um teste urinário antigénico para *Coccidioides spp* foi recentemente desenvolvido e pode vir a ser útil no diagnóstico<sup>60</sup>. A deteção de material nuclear do fungo por técnica de PCR é outra forma de diagnosticar<sup>17</sup>.

### **/ Terapêutica**

A Sociedade de Doenças Infecciosas Americana (IDSA) atualizou em 2007 as *guidelines* de tratamento da histoplasmose<sup>47</sup> e em 2008 as da Blastomicose<sup>61</sup>; normas no tratamento da coccidioomicose foram publicadas em 2005<sup>49</sup>.

O tratamento depende da gravidade da doença, mas é expectável que muitos dos doentes sob anti-TNF $\alpha$  tenham doença pulmonar moderada a grave ou doença disseminada e, nessas circunstâncias, uma formação lipídica de anfotericina B é indicada para início de terapêutica (Tabela 2). Nos doentes com formas não ligeiras, o tratamento deve ser iniciado logo que feitas as colheitas para diagnóstico laboratorial e mesmo antes da sua confirmação. Logo que haja melhoria clínica a terapêutica pode ser alterada para itraconazol oral, devendo ser completados pelo menos 12 meses de terapêutica. De salientar que o itraconazol tem má biodisponibilidade, demorando cerca de uma semana a atingir níveis estáveis e tem muitas interações medicamentosas que requerem a atenção do clínico.

Logo que haja suspeição do diagnóstico de histoplasmose, blastomicose ou coccidioomicose o anti-TNF $\alpha$  deve ser suspenso.

Nos casos em que a imunossupressão não possa ser revertida, e nos doentes que têm recidiva apesar da terapêutica adequada, pode ser necessário manter itraconazol para lá da duração usual da terapêutica<sup>1</sup>.

### **/ Reintrodução de anti-TNF $\alpha$ após micose endémica**

Só quando as culturas ficam negativas e há controlo do antigénio urinário (no caso da histoplasmose) é que deve ser considerada a reintrodução de anti-TNF $\alpha$  e, segundo alguns autores, sempre sob itraconazol – admitindo-se a sua suspensão ao fim de 1 ano após o início da terapêutica<sup>1</sup>.

No caso da coccidioomicose a retoma de anti-TNF $\alpha$  é menos clara, sobretudo se há doença do sistema nervoso central, mesmo que esse envolvimento implique por si só manter itraconazol para o resto da vida; pelo menos um doente teve recidiva da doença micótica anos mais tarde, mesmo sob terapêutica com itraconazol<sup>36</sup>.

### **/ Prevenção**

Nos doentes a submeter a imunomodulação a primeira questão a colocar será se pode ter havido exposição prévia a micoses endémicas e, eventualmente, presença de sintomas que evoquem a doença. Nas áreas endémicas deve ter-se um particular cuidado com atividades que facilitem a inalação de esporos (em particular sempre que exista revolver de solos) tais como agricultura, avicultura (limpeza de aviários), jardinagem, construção civil, arqueologia e espeleologia<sup>17, 45</sup>. Nesses doentes o rastreio serológico da coccidioomicose prévio à imunomodulação mostrou-se útil na avaliação pré-transplante de órgãos sólidos, mas não há prova de que seja igualmente útil na pré-imunomodulação com inibidores do TNF $\alpha$ . O mesmo se passa em relação à histoplasmose e também em relação à blastomicose, nesta pela ausência de anticorpos específicos e sensíveis<sup>1</sup>. Os testes de antigénios, no soro ou urinários, também não são passíveis de serem considerados testes de rastreio.

Nos doentes que já fazem algum tipo de imunossupressão terapêutica, acresce que muitas vezes não há uma resposta de anticorpos, e os testes de antigénios farão sentido em situações muito particulares – como por exemplo no doente que teve histoplasmose documentada e em que o rastreio seriado de antigénio urinário a cada 2-3 meses pode ajudar na deteção de eventual reativação, aquando do início de anti-TNF $\alpha$ <sup>47</sup>. É no entanto evidente que se a maior parte das infeções micóticas forem infeções de novo<sup>36</sup> o rastreio serológico perde importância. Por isso doentes imunomodulados que pretendam viver ou viajar para regiões endémicas, bem como realizar atividades com risco de exposição a solos contaminados devem ser desencorajados, pelo risco de contraírem infeção<sup>14, 17, 31, 62</sup>.



Tabela 2 – Esquema terapêutico nos doentes com infeção micótica endémica (segundo guidelines da IDSA)

		Terapêutica de Primeira Linha	Alternativa Terapêutica	
Histoplasmosose <sup>47</sup>	Pulmonar Aguda	Ligeira a moderada	Por norma desnecessária. Se sintomas >1 mês: Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, seguido de 200mg 1-2x/dia durante 6-12 semanas)	—
		Moderadamente Grave a Grave	Anfotericina B lipossómica (3-5 mg/kg/dia EV durante 1-2 semanas) seguido de Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, e depois 200mg 2x/dia durante 12 semanas) §	Se baixo risco de nefrotoxicidade: Anfotericina B desoxicolato (0,7-1mg/kg/dia EV) Se complicações respiratórias: Metilprednisolona (0,5-1mg/kg/dia EV durante as primeiras 1-2 semanas de terapêutica antifúngica)
	Pulmonar Crónica	Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, seguido de 200mg 1-2x/dia durante ≥1ano; considerar prolongar até 18-24 meses pelo risco de infeção recrudescente) §	—	
	Disseminada	Ligeira a Moderada	Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, e depois 200mg 2x/dia durante ≥12 meses) §	—
Moderadamente Grave a Grave		Anfotericina B lipossómica (3 mg/kg/dia durante 1-2 semanas) seguido de Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, e depois 200mg 2x/dia durante pelo menos 12 meses) §	Se baixo risco de nefrotoxicidade: Anfotericina B desoxicolato (0,7-1mg/kg/dia EV) Pode ser preferível aplicar outro tipo de formulação lipídica (5mg/kg/dia), devido a custos ou tolerabilidade	
Blastomicose <sup>51</sup>	Pulmonar Aguda	Ligeira a moderada	Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, seguido de 200mg 1-2x/dia durante 6-12 meses) §	—
		Moderadamente Grave a Grave	Anfotericina B lipossómica (3-5 mg/kg/dia EV) ou Anfotericina B desoxicolato (0,7-1mg/kg/dia EV) durante 1-2 semanas) seguido de Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, e depois 200mg 2x/dia durante 6-12 meses) §	—
	Disseminada §§	Ligeira a Moderada	Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, e depois 200mg 1-2x/dia durante 6 a 12 meses) §	—
		Moderadamente Grave a Grave	Anfotericina B lipossómica (3-5 mg/kg/dia EV) ou Anfotericina B desoxicolato (0,7-1mg/kg/dia EV) durante 1-2 semanas ou até melhoria sintomática seguido de Itraconazol (200mg 3x/dia durante 3 dias, e depois 200mg 2x/dia durante pelo menos 12 meses) §	—
Coccidioidomicose <sup>49</sup>	Pulmonar Aguda	Ligeira a Moderada	Itraconazol, Fluconazol ou Itraconazol (200-400mg/dia durante 3-6 meses)	—
		Moderadamente Grave a Grave	Anfotericina B, podendo ser substituída no período de convalescência por Itraconazol (200mg 2-3x/dia) ou Fluconazol (400-800mg/dia) ou Ketaconazol (400mg/dia) §§§	Fluconazol em doses elevadas
	Pulmonar Crónica	Itraconazol (200mg 2-3x/dia) ou Fluconazol (400-800mg/dia) ou Ketaconazol (400mg/dia) durante pelo menos 1 ano.	Se terapêutica não for eficaz: - Substituir azol - Aumentar a dose do azol - Terapêutica alternativa com Anfotericina B	
	Grave/Disseminada	Itraconazol (200mg 2-4x/dia) ou Fluconazol (200mg 2-10x/dia) ou Anfotericina B (maior gravidade) § § §	Ketaconazol	

§ Verificar os níveis sanguíneos de itraconazol de forma a garantir uma exposição adequada à terapêutica (viável após no mínimo 2 semanas de tratamento).

§§ Doentes com blastomicose osteoarticular deverão receber terapêutica antifúngica durante pelo menos 12 meses.

§§§ Anfotericina B pode ser administrada na forma anfotericina B desoxicolato (0,5-1,5mg/kg/dia EV) ou — em doentes cuja terapêutica não foi eficaz/apresentem intolerabilidade à terapêutica — na forma lipossómica (2-5mg/kg/dia EV, por vezes em doses ainda mais elevadas). A duração do tratamento deve ser de pelo menos 1 ano.

Acresce ainda referir que nos doentes sob anti-TNF $\alpha$  não existe nenhuma recomendação formal de utilização de antifúngico, nomeadamente do itraconazol enquanto profilaxia<sup>1</sup>.

## / Conclusões

Dado que vivemos num mundo de mobilidade e saúde global, em que as doenças inflamatórias são cada vez mais tratadas com fármacos biológicos – entre os quais os inibidores de TNF $\alpha$ , que assumem um papel importante e se associam a maior incidência de infeções granulomatosas – a doença micótica endémica parece-nos justificar atenção (Tabela 3).

Em todos os doentes candidatos a fármacos anti-TNF $\alpha$  o risco epidemiológico de infeção micótica deve ser investigado. Sabe-se que a histoplasmose e a coccidioidomicose são as duas micoses endémicas mais frequentemente associadas a anti-TNF $\alpha$  e que dentro destes o infliximab parece representar o maior risco, seguido de adalimumab e etanercept. Se, num doente sob anti-TNF $\alpha$  e com risco epidemiológico de infeção fúngica endémica, surgirem sintomas ou sinais evocadores da doença (febre, arrepios, anorexia, mal estar e tosse, dispneia) o diagnóstico deve ser considerado. Na avaliação deve ser realizada biópsia dos tecidos afetados (pulmão, pele, gânglios linfáticos, fígado, medula óssea) para exame histopatológico com pesquisa de fungos, alertando o patologista para a hipótese de micose endémica. Da mesma forma, e se disponível, devem ser pesquisados os antígenos fúngicos. Se a suspeição é grande e os sintomas exuberantes a terapêutica, idealmente com anfotericina B, deve

ser iniciada mesmo antes da confirmação diagnóstica, devendo ainda suspender-se o anti-TNF $\alpha$ . Sabe-se que doentes sob anti-TNF $\alpha$  possuem um maior risco de infeções rapidamente progressivas, graves e disseminadas, e que a terapêutica precoce é fundamental.

A retoma do anti-TNF $\alpha$  após infeção micótica deve ser ponderada caso a caso. Acresce ainda que a necessidade de prolongar terapêutica antifúngica na reintrodução de anti-TNF $\alpha$  é ainda pouco esclarecida, sobretudo para a blastomicose e coccidioidomicose, relativamente às quais há menos dados na literatura.

Nos doentes com história recente de infeção por *Histoplasma*, com pneumonia associada a antigenúria e antigenemia ou teste serológico positivo nos últimos dois anos, alguns autores indicam profilaxia antifúngica com itraconazol por três meses antes de iniciar inibidor do TNF- $\alpha$ , mantendo o esquema terapêutico até pelo menos um ano pós-início da terapêutica<sup>54</sup>.

A importância das medidas preventivas da infeção micótica endémica, dos dados epidemiológicos e o diagnóstico precoce são de momento as principais formas de proteção do doente sob anti-TNF $\alpha$ . A acumulação de experiência, sobretudo nos países de endemia, virá a ser importante no lidar da doença em hospedeiros imunomediados.

**Tabela 3 – Aspetos Práticos**

### Ideias a reter:

- A terapêutica com imunomoduladores, em especial em associação com os inibidores do TNF- $\alpha$ , está associada a um maior risco de infeção micótica endémica.
- O risco epidemiológico para a infeção micótica deve ser equacionado em todos os doentes previamente à prescrição de anti-TNF $\alpha$ .
- As micoses endémicas em doentes imunossuprimidos tendem a ser graves, com manifestações variáveis e inespecíficas, sejam elas pulmonares ou disseminadas, podendo ser rapidamente progressivas.
- O diagnóstico laboratorial baseia-se na cultura, histopatologia, pesquisa de antígenos, serologia e mais recentemente em técnicas de pesquisa de ADN do fungo.
- O diagnóstico tardio está associado a elevada taxa de mortalidade.
- Em doentes imunomodulados o diagnóstico ou forte suspeita de micose endémica deve levar a suspensão do anti-TNF $\alpha$ .
- A terapêutica da micose endémica em hospedeiros imunomodulados faz-se habitualmente com anfotericina B, seguida de itraconazol oral por períodos prolongados.
- A reintrodução de anti-TNF $\alpha$  após micose endémica é alvo de discussão, não estando claramente definidas as condições e situações em que pode ser feita com segurança.

## / Bibliografia

1. Smith JA, Kauffman CA. Endemic fungal infections in patients receiving tumour necrosis factor- $\alpha$  inhibitor therapy. *Drugs*. 2009;69(11):1403-15.
2. Crum NF, Lederman ER, Wallace MR. Infections associated with tumor necrosis factor- $\alpha$  antagonists. *Medicine (Baltimore)*. 2005;84(5):291-302.
3. Tsiodras S, Samonis G, Boumpas DT, Kontoyiannis DP. Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(2):181-94.
4. Bennett JE, Dolin R, and Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eighth ed: Saunders; 2014.
5. Kauffman CA. Endemic mycoses: blastomycosis, histoplasmosis, and sporotrichosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20(3):645-62, vii.
6. Lortholary O, Denning DW, Dupont B. Endemic mycoses: a treatment update. *J Antimicrob Chemother*. 1999;43(3):321-31.
7. Kauffman CA. Fungal infections in older adults. *Clin Infect Dis*. 2001;33(4):550-5.
8. Bonifaz A, Vazquez-Gonzalez D, Perusquia-Ortiz AM. Endemic systemic mycoses: coccidioidomycosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and blastomycosis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2011;9(9):705-14; quiz 15.
9. Norman FF, Martin-Davila P, Fortun J, Dronda F, Quereda C, Sanchez-Sousa A, et al. Imported histoplasmosis: two distinct profiles in travelers and immigrants. *J Travel Med*. 2009;16(4):258-62.
10. Ordonez ME, Farraye FA, Di Palma JA. Endemic fungal infections in inflammatory bowel disease associated with anti-TNF antibody therapy. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(11):2490-500.
11. Deepe GS, Jr. Modulation of infection with *Histoplasma capsulatum* by inhibition of tumor necrosis factor- $\alpha$  activity. *Clin Infect Dis*. 2005;41 Suppl 3:S204-7.
12. Anderson AM, Mehta AK, Wang YF, Jing Q, Easley K, Nguyen ML. HIV-associated histoplasmosis in a nonendemic area of the United States during the HAART era: role of migration from endemic areas and lack of antiretroviral therapy. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)*. 2010;9(5):296-300.
13. Kauffman CA, Hedderwick SA. Treatment of systemic fungal infections in older patients: achieving optimal outcomes. *Drugs Aging*. 2001;18(5):313-23.
14. Wheat LJ. Histoplasmosis: a review for clinicians from non-endemic areas. *Mycoses*. 2006;49(4):274-82.
15. Gugnani HC, Muotoe-Okafor F. African histoplasmosis: a review. *Rev Iberoam Micol*. 1997;14(4):155-9.
16. Taroumian S, Knowles SL, Lisse JR, Yanes J, Ampel NM, Vaz A, et al. Management of coccidioidomycosis in patients receiving biologic response modifiers or disease-modifying antirheumatic drugs. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(12):1903-9.
17. Desai NR, McGoey R, Troxclair D, Simeone F, Palomino J. Coccidioidomycosis in nonendemic area: case series and review of literature. *J La State Med Soc*. 2010;162(2):97-103.
18. Coccidioidomycosis Statistics [Internet]. 2015 [cited March 5, 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/coccidioidomycosis/statistics.html>.
19. Histoplasmosis Statistics [Internet]. 2015 [cited March 5, 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/histoplasmosis/statistics.html>.
20. Blastomycosis Statistics [Internet]. 2015 [cited March 5, 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/blastomycosis/statistics.html>.
21. Manos NE, Ferebee SH, Kerschbaum WF. Geographic variation in the prevalence of histoplasmin sensitivity. *Dis Chest*. 1956;29(6):649-68.
22. Chu JH, Feudtner C, Heydon K, Walsh TJ, Zaoutis TE. Hospitalizations for endemic mycoses: a population-based national study. *Clin Infect Dis*. 2006;42(6):822-5.
23. Ledtke C, Tomford JW, Jain A, Isada CM, van Duin D. Clinical presentation and management of histoplasmosis in older adults. *J Am Geriatr Soc*. 2012;60(2):265-70.
24. Dodge RR, Lebowitz MD, Barbee R, Burrows B. Estimates of *C. immitis* infection by skin test reactivity in an endemic community. *Am J Public Health*. 1985;75(8):863-5.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Increase in Reported Coccidioidomycosis – United States, 1998–2011. March 29, 2013. Report No.: 62(12).
26. Centers for Disease Control and Prevention. Notice to Readers: Final 2012 Reports of Nationally Notifiable Infectious Diseases. August 23, 2013. Report No.: 62(33).
27. Allendoerfer R, Deepe GS, Jr. Regulation of infection with *Histoplasma capsulatum* by TNFR1 and -2. *J Immunol*. 2000;165(5):2657-64.
28. Djeu JY, Blanchard DK, Halkias D, Friedman H. Growth inhibition of *Candida albicans* by human polymorphonuclear neutrophils: activation by interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor. *J Immunol*. 1986;137(9):2980-4.
29. Bekker LG, Freeman S, Murray PJ, Ryffel B, Kaplan G. TNF- $\alpha$  controls intracellular mycobacterial growth by both inducible nitric oxide synthase-dependent and inducible nitric oxide synthase-independent pathways. *J Immunol*. 2001;166(11):6728-34.
30. Beaman L. Effects of recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor on in vitro interactions of human mononuclear phagocytes with *Coccidioides immitis*. *Infect Immun*. 1991;59(11):4227-9.
31. Lee JH, Slifman NR, Gershon SK, Edwards ET, Schwieterman WD, Siegel JN, et al. Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor alpha antagonists infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum*. 2002;46(10):2565-70.
32. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO. Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. *Clin Infect Dis*. 2004;38(9):1261-5.
33. Wood KL, Hage CA, Knox KS, Kleiman MB, Sannuti A, Day RB, et al. Histoplasmosis after treatment with anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(9):1279-82.
34. Vail GM, Young RS, Wheat LJ, Filo RS, Cornetta K, Goldman M. Incidence of histoplasmosis following allogeneic bone marrow transplant or solid organ transplant in a hyperendemic area. *Transpl Infect Dis*. 2002;4(3):148-51.
35. Wallis RS, Broder M, Wong J, Lee A, Hoq L. Reactivation of latent granulomatous infections by infliximab. *Clin Infect Dis*. 2005;41 Suppl 3:S194-8.
36. Bergstrom L, Yocum DE, Ampel NM, Villanueva I, Lisse J, Gluck O, et al. Increased risk of coccidioidomycosis in patients treated with tumor necrosis factor alpha antagonists. *Arthritis Rheum*. 2004;50(6):1959-66.
37. Information for Healthcare Professionals: Cimzia (certolizumab pegol), Enbrel (etanercept), Humira (adalimumab), and Remicade (infliximab) [Internet]. [cited March 10, 2015]. Available from: [www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/rketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm124185.htm](http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/rketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm124185.htm).
38. Smith JA, Riddell Jt, Kauffman CA. Cutaneous manifestations of endemic mycoses. *Curr Infect Dis Rep*. 2013;15(5):440-9.
39. Jain VV, Evans T, Peterson MW. Reactivation histoplasmosis after treatment with anti-tumor necrosis factor alpha in a patient from a nonendemic area. *Respir Med*. 2006;100(7):1291-3.
40. Mertz LE, Blair JE. Coccidioidomycosis in rheumatology patients: incidence and potential risk factors. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1111:343-57.

41. Dewshup DH, Galgiani JN, Graybill JR, Diaz M, Rendon A, Cloud GA, et al. Is it ever safe to stop azole therapy for *Coccidioides immitis* meningitis? *Ann Intern Med.* 1996;124(3):305-10.
42. Blair JE, Logan JL. Coccidioidomycosis in solid organ transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001;33(9):1536-44.
43. McKinnell JA, Pappas PG. Blastomycosis: new insights into diagnosis, prevention, and treatment. *Clin Chest Med.* 2009;30(2):227-39, v.
44. Laniado-Laborin R. Expanding understanding of epidemiology of coccidioidomycosis in the Western hemisphere. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1111:19-34.
45. Desai SA, Minai OA, Gordon SM, O'Neil B, Wiedemann HP, Arroliga AC. Coccidioidomycosis in non-endemic areas: a case series. *Respir Med.* 2001;95(4):305-9.
46. Kauffman CA. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(1):115-32.
47. Wheat LJ, Freifeld AG, Kleiman MB, Baddley JW, McKinsey DS, Loyd JE, et al. Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2007;45(7):807-25.
48. Crampton TL, Light RB, Berg GM, Meyers MP, Schroeder GC, Hershfield ES, et al. Epidemiology and clinical spectrum of blastomycosis diagnosed at Manitoba hospitals. *Clin Infect Dis.* 2002;34(10):1310-6.
49. Galgiani JN, Ampel NM, Blair JE, Catanzaro A, Johnson RH, Stevens DA, et al. Coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis.* 2005;41(9):1217-23.
50. Pfaff BL, Agger WA, Volk TJ. Blastomycosis diagnosed in a nonhyperendemic area. *WMJ.* 2014;113(1):11-8; quiz 9.
51. Gomez BL. Molecular diagnosis of endemic and invasive mycoses: advances and challenges. *Rev Iberoam Micol.* 2014;31(1):35-41.
52. Wheat LJ. Nonculture diagnostic methods for invasive fungal infections. *Curr Infect Dis Rep.* 2007;9(6):465-71.
53. Wheat LJ. Improvements in diagnosis of histoplasmosis. *Expert Opin Biol Ther.* 2006;6(11):1207-21.
54. Hage CA, Bowyer S, Tarvin SE, Helper D, Kleiman MB, Wheat LJ. Recognition, diagnosis, and treatment of histoplasmosis complicating tumor necrosis factor blocker therapy. *Clin Infect Dis.* 2010;50(1):85-92.
55. Wheat J, Wheat H, Connolly P, Kleiman M, Supparatpinyo K, Nelson K, et al. Cross-reactivity in *Histoplasma capsulatum* variety *capsulatum* antigen assays of urine samples from patients with endemic mycoses. *Clin Infect Dis.* 1997;24(6):1169-71.
56. Martynowicz MA, Prakash UB. Pulmonary blastomycosis: an appraisal of diagnostic techniques. *Chest.* 2002;121(3):768-73.
57. Durkin M, Witt J, Lemonte A, Wheat B, Connolly P. Antigen assay with the potential to aid in diagnosis of blastomycosis. *J Clin Microbiol.* 2004;42(10):4873-5.
58. Spector D, Legendre AM, Wheat J, Bemis D, Rohrbach B, Taboada J, et al. Antigen and antibody testing for the diagnosis of blastomycosis in dogs. *J Vet Intern Med.* 2008;22(4):839-43.
59. Ampel NM. Coccidioidomycosis: a review of recent advances. *Clin Chest Med.* 2009;30(2):241-51, v.
60. Durkin M, Connolly P, Kuberski T, Myers R, Kubak BM, Bruckner D, et al. Diagnosis of coccidioidomycosis with use of the *Coccidioides* antigen enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis.* 2008;47(8):e69-73.
61. Chapman SW, Dismukes WE, Proia LA, Bradsher RW, Pappas PG, Threlkeld MG, et al. Clinical practice guidelines for the management of blastomycosis: 2008 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008;46(12):1801-12.
62. Vikram HR, Blair JE. Coccidioidomycosis in transplant recipients: a primer for clinicians in nonendemic areas. *Curr Opin Organ Transplant.* 2009;14(6):606-12.
63. Dweik M, Baethge BA, Duarte AG. Coccidioidomycosis pneumonia in a nonendemic area associated with infliximab. *South Med J.* 2007;100(5):517-8.
64. Ellickalputhenpura BE, Torres HA. Histoplasmosis: an asymptomatic to life-threatening infection. *JAAPA.* 2012;25(12):18, 25-6.

CASO CLÍNICO / CLINICAL CASE

# Infeção por *Loa loa* – diagnóstico raro em Portugal

# *Loa loa* infection – a rare diagnosis in Portugal

/ S. M. Santos<sup>1</sup> / J. Alves<sup>2</sup> / S. Peres<sup>3</sup>  
/ F. Borges<sup>4</sup> / K. Mansinho<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Interna do complementar de Medicina Interna;

<sup>2</sup> Interno do complementar de Infeciologia;

<sup>3</sup> Assistente hospitalar de Infeciologia;

<sup>4</sup> Assistente hospitalar graduado de Infeciologia;

<sup>5</sup> Chefe de serviço de Infeciologia / Diretor do Serviço de Infeciologia e Medicina Tropical.

Serviço de Medicina II, Serviço de Infeciologia e Medicina Tropical, Hospital Egas Moniz, Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, Portugal

Correspondência:

**Sofia Marques Santos**

Morada: Rua Da Junqueira, nº 126,

1349-019 Lisboa

Telefone: 210432577

Fax: 210432582

e-mail: sofiamarques@yaho.com

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade

Artigo recebido em

27/08/2015

Artigo aceite para publicação em

07/10/2015

## / Resumo

O nemátodo *Loa loa*, presente em África, é uma causa rara de eosinofilia nos países desenvolvidos, mas de importância crescente devido ao mundo globalizado em que vivemos.

Os autores descrevem o caso de um doente do sexo masculino, 57 anos, sem medicação habitual, que é referenciado à consulta de Infeciologia por eosinofilia persistente. Com várias deslocações à República Democrática do Congo, refere a ocorrência de múltiplas picadas por um tabanídeo cerca de um ano e meio antes da ida à consulta. Sete meses antes, inicia edema migratório pruriginoso, que se localizava junto às grandes articulações dos membros. Analiticamente apresentava leucocitose ( $19 \times 10^9/L$ ), com 35,1% de eosinófilos ( $6,67 \times 10^9/L$ ). A pesquisa de microfilárias no sangue foi negativa (2 amostras), mas com serologia para filárias positiva. Foi internado com o diagnóstico de infeção por *Loa loa* e iniciou terapêutica com dietilcarbamazina, que cumpriu durante 21 dias sem intercorrências. Cinco meses depois, apresentava completa normalização do leucograma (eosinófilos 3,3%;  $0,39 \times 10^9/L$ ) e sem recidiva do quadro clínico. Este caso demonstra a importância de uma história clínica detalhada, com necessidade de recuar a eventos ocorridos anos antes para conseguir chegar ao diagnóstico de uma parasitose raramente encontrada nos países desenvolvidos.

**Palavras-chave:** *Loa loa*, eosinofilia, microfilárias.

## / Abstract

The nematode *Loa loa*, present in Africa, is a rare cause of eosinophilia in developed countries, but increasingly important due to the globalized world we live in. The authors describe the case of a male patient, 57, with no usual medication, which is referenced to Infectious diseases consultation by persistent eosinophilia. With several trips to the Democratic Republic of Congo, he refers the occurrence of multiple stings by tabanidae a year and a half before going to the appointment. Seven months earlier, it starts prickly migratory edema, which was located next to the large joints of the limbs. Analytically he has leukocytosis ( $19 \times 10^9/L$ ) with 35.1% eosinophils ( $6,67 \times 10^9/L$ ). The microfilariae research in the blood was negative (2 samples), but with positive serology for filaria. He was admitted with the diagnosis

*of infection by *Loa loa* and started therapy with diethylcarbamazine, completed in 21 days without complications. Five months later, he showed complete normalization of white blood cell count (eosinophils 3.3; 0,39 x10<sup>9</sup>/L) and no recurrence of the clinical picture.*

*This case demonstrates the importance of a detailed clinical history, requiring to go back to events that occurred years earlier to make it to the diagnosis of a parasitic disease rarely found in developed countries.*

**Keywords:** *Loa loa, eosinophilia, microfilariae.*

## / Introdução

O nemátodo *Loa loa* encontra-se presente apenas no continente africano, numa região limitada, compreendida entre o Benin (a oeste), Sudão e Uganda (a este), Zâmbia (a sul) e 10° de latitude (a norte).<sup>1</sup> Acredita-se que este parasita afete cerca de 3 a 13 milhões de pessoas<sup>2</sup> e a infeção ocorre após a inoculação de larvas através da pele após a picada de moscas do género *Chrysops* (tabanídeos).<sup>3</sup> O desenvolvimento até atingir a fase adulta pode levar vários meses (6 a 12) e o verme adulto pode sobreviver até 17 anos,<sup>3</sup> permanecendo no tecido subcutâneo e não sofrendo replicação.<sup>4</sup> As fêmeas dão origem às microfílarias, que migram através do sistema linfático e entram ocasionalmente na corrente sanguínea, habitualmente durante o período diurno, altura em que podem ser detetadas diretamente numa amostra de sangue.<sup>4</sup> Estas após serem ingeridas pelo vetor, terminam o seu desenvolvimento em larvas, completando o ciclo de vida.<sup>4</sup>

Apesar do elevado número de pessoas afetadas, raramente são detetados casos noutras continentes, estando estes associados a casos importados, quer seja através da imigração ou turismo.<sup>5</sup> Em muitos casos a infeção é assintomática, o que dificulta a melhor caracterização epidemiológica desta entidade nosológica.<sup>6</sup> Uma das principais manifestações clínicas é a presença dos edemas de Calabar, angioedema transitório e migratório, com a duração de 2 a 4 dias, frequentemente localizado junto às articulações dos membros superiores e causados por uma reação de hipersensibilidade à passagem do parasita adulto.<sup>6</sup> Este pode migrar ainda no tecido subconjuntival, sendo nessa altura diretamente visualizado, causando edema e prurido transitórios, não deixando quaisquer sequelas locais.<sup>6</sup> Os doentes podem também apresentar-se com urticária, prurido ou asma. Estas alterações podem surgir cerca de 5 meses após a inoculação, mas existem casos descritos com vários anos de intervalo.<sup>4</sup> A forma de apresentação pode diferir entre os residentes e os não residentes

nas áreas afetadas. Os primeiros tendem a apresentar prurido, microfílarias em elevada quantidade no sangue periférico e passagem do nemátodo na região subconjuntival, enquanto os não residentes habitualmente apresentam edemas de Calabar e uma menor probabilidade de deteção de microfilarémia.<sup>7</sup> Podem ocorrer complicações como a cardiomiopatia, nefropatia e encefalopatia, sendo estas mais frequentes nos doentes com parasitemias elevadas.<sup>6</sup>

## / Caso clínico

Os autores descrevem o caso clínico de um doente do sexo masculino, 57 anos, com história prévia de hipercolesterolemia e hábitos tabágicos de 68 Unidades Maço Ano, não se encontrando sob nenhuma medicação. Natural de Portugal, encontrava-se por motivos profissionais desde há dois anos a residir na região ocidental de África (Angola e República Democrática do Congo).

Em aparente bom estado de saúde até 18 meses antes da ida à consulta de Infeciologia, altura em que se encontrava na floresta tropical de Maiombe, reserva natural com vegetação densa, partilhada entre Angola, a República Democrática do Congo, a República do Congo e a República do Gabão, onde é picado múltiplas vezes no membro superior direito por uma mosca da família *Tabanidae*, com reação inflamatória local exuberante mas autolimitada, não tendo recorrido a nenhum serviço de saúde. Onze meses depois, inicia prurido e edema da mão direita, sem alterações da temperatura, coloração ou evidência de picadas ou mordeduras. Algumas semanas após aparecimento das alterações ao nível da mão direita, surge edema pruriginoso, migratório, junto às grandes articulações dos quatro membros (cotovelos, punhos, joelhos e tornozelos), com a duração de três dias em cada localização. É avaliado em consulta médica, onde é detetada pela primeira vez a presença de eosinofilia (desconhecem-se valores), tendo sido medicado com mebendazol e cotrimoxazol, sem



melhoria. É posteriormente enviado a consulta de Pneumologia, onde é pedida tomografia computadorizada torácica (mostrou enfisema centrilobular) e provas de função respiratória (evidenciaram alteração ventilatória moderada do tipo obstrutivo). É excluído o diagnóstico de pneumonia eosinofílica e é enviado à consulta de Infeciologia para prosseguir estudo etiológico.

Na avaliação inicial em consulta, o doente refere a permanência de edemas migratórios, mialgias ao nível dos membros inferiores e gonalgia. Do exame objetivo salientava-se apenas a presença de tumefação localizada junto ao cotovelo direito, na sua superfície flexora, sem presença de calor ou rubor (Figura 1). Analiticamente destacava-se a presença de leucocitose -  $19 \times 10^9/L$  com 35,1% de eosinófilos ( $6,67 \times 10^9/L$ ), proteína C reativa negativa ( $<0,29\text{mg/dL}$ ), sem alterações da função renal e hepática, bem como da imunofenotipagem do sangue periférico. O estudo da autoimunidade foi negativo para anticorpos antinucleares, anticorpos anti *DNA* de cadeia dupla, anticorpos anticitoplasma dos neutrófilos, antígenos nucleares extraíveis e fator reumatóide. A pesquisa de *Plasmodium* e *Trypanosoma* no esfregaço de sangue periférico foi negativa, bem como as serologias para o vírus da imunodeficiência humana, vírus da hepatite B e C. No exame parasitológico das fezes não foram

detetados agentes patogênicos. Foi pedida a pesquisa de microfilárias diurnas no sangue (que foi negativa em 2 ocasiões) e serologia para filárias, que foi positiva (através de ensaio imunoenzimático, com imunoglobulina G de 1,523, sendo o valor normal  $<0,5$ ).

Foi internado com o diagnóstico de filariase (provável loíase) para iniciar terapêutica sob vigilância com dietilcarbamazina (DEC), com uma dose inicial de 50mg. No 2.º dia de internamento, aumentou-se a posologia para 150mg/dia (dividido em 3 tomas) e pela boa tolerância fez 100mg de 8 em 8 horas no terceiro dia. Teve alta ao quarto dia de internamento, medicado com DEC 600mg/dia (correspondendo a 8mg/kg/dia), durante 18 dias (totalizando 21 dias de terapêutica). Durante o internamento foi repetida por duas vezes a pesquisa de microfilárias no sangue, que foi novamente negativa.

Após término da terapêutica, foi reavaliado em consulta, apresentando-se assintomático (sem mialgias ou novos episódios de edema periarticular) e com diminuição marcada da eosinofilia (10,2%;  $1,3 \times 10^9/L$ ). Cinco meses após terapêutica, repetiu hemograma que mostrava a completa normalização do leucograma (eosinófilos 3,3%;  $0,39 \times 10^9/L$ ), sem recidiva do quadro clínico.



**Figura 1** – Presença de edemas de Calabar, junto ao cotovelo direito, na sua superfície flexora.

## / Discussão

Este caso salienta a dificuldade no diagnóstico diferencial de eosinofílias em doentes provenientes de climas tropicais. Adicionam-se à lista etiológica numerosos agentes infecciosos raramente detetados nos países desenvolvidos e como tal poucas vezes equacionados pela maioria dos médicos ocidentais. Muitas vezes designadas como doenças tropicais negligenciadas pela fraca atenção que despertam por parte das autoridades sanitárias locais e internacionais, causam no entanto elevada morbidade e mortalidade (nomeadamente na África subsariana).<sup>7</sup> As filariases (loíase, oncocercose e filariases linfáticas) são um dos exemplos, cujo risco de transmissão está diretamente relacionado com o tempo de exposição a vetores.<sup>8</sup>

Num doente com eosinofilia, a colheita de uma história clínica detalhada é essencial, sendo imperativo questionar o doente não só sobre viagens recentes, mas também incidir sobre acontecimentos anos antes. Na infecção por *Loa loa* pode existir um hiato de tempo importante (entre 5 meses e vários anos) entre a infeção e as manifestações da doença.<sup>4</sup> Neste caso clínico, a picada pelo vetor ocorreu 18 meses antes da nossa primeira avaliação e 11 meses antes do aparecimento dos primeiros sintomas.

O teste recomendado para o diagnóstico de loíase é a deteção de microfilárias num esfregaço de sangue periférico.<sup>4</sup> Estas, libertadas pela fêmea adulta, encontram-se no sangue periférico durante o período diurno, com valores máximos de parasitemia entre as 10 e as 14h.<sup>4</sup> Os sintomas estão geralmente associados à presença e migração do verme adulto nos tecidos. Embora as microfilárias não estejam associadas às manifestações clínicas, podem contribuir para complicações aquando do tratamento.<sup>6</sup> Em alguns doentes a sua pesquisa é persistentemente negativa (loíase oculta). O mesmo pode ser devido a: colheita de sangue fora da periodicidade habitual, infeção apenas por um adulto macho ou níveis baixos de parasitemia que não permitem a sua deteção (embora a utilização de técnicas de concentração possa ultrapassar este último ponto).<sup>4,5</sup> Após a deteção das microfilárias, deve-se proceder à sua quantificação, pela implicação que tal valor tem na terapêutica, nomeadamente probabilidade de ocorrerem complicações e na decisão do fármaco a utilizar.<sup>4</sup>

A identificação do verme adulto, habitualmente após a sua extração do tecido subconjuntival, também é diagnóstica, embora seja sempre necessário complementar o estudo com a pesquisa e quantificação das microfilárias em sangue periférico (pela implicação na decisão terapêutica).<sup>4</sup> Nos doentes com loíase oculta, o diagnóstico é apoiado através da pesquisa de anticorpos, por ensaios imunoenzimáticos ou por imunoelctrodiffusão.<sup>4</sup> A serologia apresenta elevada sensibilidade, mas menor especificidade, já que não permite a distinção entre os diferentes agentes de filariase nem a confirmação de infeção ativa (apenas a demonstração da exposição).<sup>9</sup> Em doentes com sintomatologia e história epidemiológica compatíveis, a pesquisa de anticorpos é

suficiente para o diagnóstico, tal como aconteceu no caso clínico descrito. A área geográfica de onde o doente provinha, bem como a presença de edemas de Calabar levaram à suspeição de infeção por *Loa loa*, sendo este diagnóstico apoiado pela positividade da serologia.

Em relação ao tratamento, existem atualmente 3 fármacos que podem ser utilizados: dietilcarbamazina (DEC), ivermectina e albendazol. Destes, a terapêutica de primeira linha é a DEC, por ser a única que apresenta efeito comprovado sobre os parasitas adultos e sobre as microfilárias, estando associada a uma resolução mais rápida das manifestações clínicas.<sup>4,10</sup> Os efeitos adversos após o início da terapêutica com a DEC são devidos à reação imunológica causada pela rápida destruição das microfilárias e são mais severos em doentes com parasitemias elevadas, mas podem ocorrer em doentes amicrofilaremicos.<sup>11</sup> As manifestações mais frequentes são o prurido, febre, urticária, asma, angioedema e distúrbios gastrointestinais, que habitualmente cedem com a utilização de anti-histamínicos e corticoides.<sup>11,12</sup> Em casos mais graves pode surgir encefalite e choque. A encefalite ocorre habitualmente com contagem superior a 30 000 microfilárias/mL de sangue, em que a terapêutica com DEC (e também com a ivermectina) pode causar a passagem destas para o líquido céfalo raquidiano, originando inflamação local e manifestando-se com cefaleia, insónia ou depressão do estado de consciência, podendo culminar na morte do doente.<sup>12,13</sup> É essencial que o tratamento seja iniciado em ambiente hospitalar, sob vigilância apertada.<sup>11</sup> A ivermectina não apresenta atividade contra os parasitas adultos, causando apenas destruição das microfilárias por mecanismos ainda não totalmente compreendidos, com efeitos adversos semelhantes à DEC.<sup>10</sup> O albendazol, sem reações imunológicas descritas mas com resposta clínica mais lenta, tem um efeito sobre os vermes adultos e interrompe a formação de novas microfilárias (embora não as elimine por completo). É habitualmente bem tolerado e utilizado nos casos refratários à terapêutica com DEC (cerca de 10 a 25% dos casos) ou numa fase inicial para diminuição da microfilaremia.<sup>4,10</sup> É usado na dose de 200 mg 2 vezes por dia durante 21 dias.<sup>4</sup>

## / Conclusão

A infeção por *Loa loa* é raramente detetada em Portugal. Salienta-se assim a importância de uma história clínica detalhada para a obtenção do diagnóstico, podendo haver a necessidade de recuar vários anos para identificação da exposição. De ressaltar a maior dificuldade diagnóstica em doentes não residentes em áreas endémicas pela elevada percentagem de loíases ocultas que apresentam, o que pode fazer adiar o diagnóstico. A terapêutica acarreta inúmeros riscos, ligados à reação imunológica provocada pela morte das microfilárias, devendo por isso ser iniciada em ambiente hospitalar, sob vigilância apertada.

## / Bibliografia

1. Boussinesq M, Gardon J. Prevalences of Loa loa microfilaraemia throughout the area endemic for the infection. *Ann Trop Med Parasitol* 1997 Sep; 91(6):573-89.
2. Fernández-Soto P, Mvoulouga PO, Akue JP, Abán JL, Santiago BV, Sánchez MC et al. Development of a highly sensitive loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for the detection of Loa loa. *PLoS One*. 2014 Apr 10; 9(4): e94664. Acessível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0094664>
3. Cho HY, Lee YJ, Shin SY, Song HO, Ahn MH, Ryu JS. Subconjunctival Loa loa with Calabar Swelling. *J Korean Med Sci*. 2008 Aug;23(4):731-3.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Parasites – Loiasis: Resources for Health Professionals. 2015. Acessível em <http://www.cdc.gov/parasites/loiasis/epi.html>
5. Passos RM, Barbosa CP, Almeida JS, Ogawa GM, Camargo LM. Subconjunctival Loa loa worm: first case report in Brazil. *Arq Bras Oftalmol*. 2012 Jan-Feb;75(1):67-70.
6. Sgrelli A, De Socio GV, Papili R, D'Annibale ML, Baldelli F. Loa loa filariasis in Italy: review of the literature with a clinical report. *Infez Med*. 2011 Sep;19(3):147-51.
7. Feasey N, Wansbrough-Jones M, Mabey DC, Solomon AW. Neglected tropical diseases. *Br Med Bull*. 2010;93:179-200.
8. Kazura J. Tissue Nematodes, Including Trichinellosis, Dracunculiasis, and the Filariases. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. London: Churchill Livingstone; 2009. p. 3587-94.
9. Lammie PJ, Weil G, Noordin R, Kaliraj P, Steel C, Goodman D et al. Recombinant antigen-based antibody assays for the diagnosis and surveillance of lymphatic filariasis – a multicenter trial. *Filaria J*. 2004 Sep 3;3(1):9.
10. Metzger W. and Mordmuller B. Loa loa—does it deserve to be neglected? *Lancet Infect Dis*. 2014 Apr;14(4):353-7.
11. Boussinesq M. Loiasis: New Epidemiologic Insights and Proposed Treatment Strategy. *J Travel Med*. 2012 May-Jun;19(3):140-3.
12. Twum-Danso N. Loa loa encephalopathy temporally related to ivermectin administration reported from onchocerciasis mass treatment programs from 1989 to 2001: implications for the future. *Filaria J*. 2003 Oct 24;2 Suppl 1:S7
13. Gardon J, Gardon-Wendel N, Demanga-Ngangue, Kamgno J, Chippaux JP, Boussinesq M. Serious reactions after mass treatment of onchocerciasis with ivermectin in an area endemic for Loa loa infection. *Lancet*. 1997 Jul 5; 350(9070):18-22..

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

# Abcesso hepático amebiano – a propósito de dois casos clínicos

## *Amoebic liver abscess – case reports*

/ A. Silva / R. Tavares / I. Galvão / J. Calha  
/ P. Rodrigues

1?

Correspondência:

**Ana Rita Domingues da Silva**

Serviço Infeciologia, Hospital Beatriz Ângelo

Avenida Carlos Teixeira, 3

2674-514 Loures

Tel: +351 219 847 200

Fax: +351 219 847 209

e-mail: anarita.dominguesdasilva@gmail.com

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por  
qualquer entidade

Artigo recebido em

10/03/2015

Artigo aceite para publicação em

29/06/2015

### / Resumo

A amebíase é uma infeção parasitária com ampla distribuição geográfica, causada pela *Entamoeba histolytica*. Embora curse habitualmente com uma colonização assintomática do tracto gastrointestinal, pode resultar em doença invasiva, sendo o abcesso amebiano hepático a manifestação extra-intestinal mais frequente.

Descrevem-se os casos clínicos de dois homens entre os 30 e 40 anos, naturais de São Tomé, cuja doença cursou com formas de apresentação semelhantes, mas com diferentes tempos de evolução. Os exames de imagem, realizados aquando da investigação etiológica, revelaram a presença de uma lesão abcedada no lobo direito hepático.

Considerando a epidemiologia, apresentação clínica e alterações imagiológicas, foram colocadas as hipóteses diagnósticas de abcesso hepático piogénico *versus* amebiano, com instituição terapêutica dirigida. O diagnóstico foi confirmado através das serologias para *Entamoeba histolytica*, que tiveram de ser repetidas no caso com forma de apresentação mais aguda.

Os autores apresentam uma breve revisão desta entidade que, embora rara em Portugal, deve ser considerada no diagnóstico diferencial dos abscessos hepáticos.

**Palavras-chave:** abcesso hepático, parasita, amebíase

### / Abstract

*Amebiasis is a parasitic infection with worldwide distribution, caused by Entamoeba histolytica. Although the majority of patients are asymptomatic carriers, some may develop invasive disease. The most common extra intestinal manifestation of the disease is amoebic liver abscess.*

*The authors present the clinical cases of two male patients, between 30 and 40 years of age, born in São Tomé and Príncipe, with similar presenting features but different durations of disease. Imaging studies in both patients revealed the presence of an abscess on the right hepatic lobe.*

*Based on the epidemiology, clinical presentation and radiological results, the differential diagnosis between amoebic and pyogenic liver abscess was considered and prompt directed therapy was initiated. The diagnosis was confirmed by Entamoeba histolytica serology, which had to be repeated in the case with a more acute presentation.*

*The authors present a brief review of this entity that, although rare in Portugal, should always be considered in the differential diagnosis of liver abscesses.*

**Keywords:** liver abscess, parasite, amebiasis



## / Introdução

A amebíase é uma infecção parasitária com uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo a nível mundial. Estima-se que cerca de 12% da população mundial esteja infetada, com a prevalência da infecção variando entre 1% em países industrializados e 50 a 80% em países tropicais <sup>1</sup>. Em Portugal, estimava-se uma taxa de incidência mediana entre 1992-96 de 0,04/10<sup>5</sup>, não sendo uma doença de declaração obrigatória desde 1999<sup>2</sup>. Constitui um importante problema de saúde pública mundial, sendo a terceira causa mais frequente de morte devida a doenças parasitárias (depois da malária e schistosomose) <sup>3</sup>.

O agente etiológico é *Entamoeba histolytica*, um protozoário não flagelado, cujo ciclo de vida inclui uma forma quística (infeciosa) e trofozoária (invasiva). A transmissão ocorre através da ingestão de quistos a partir de água ou alimentos contaminados, ou pela via fecal-oral <sup>4</sup>. Os quistos infeciosos podem durar dias em ambientes secos a altas temperaturas (30°C) ou até semanas em ambientes húmidos, sendo resistentes ao pH gástrico <sup>5</sup>.

A infecção resulta em colonização ou invasão dependendo de fatores como a estirpe de *E. histolytica*, suscetibilidade genética do hospedeiro, idade e imunidade do indivíduo. A gravidez, neoplasias, malnutrição, alcoolismo, uso prolongado de corticoterapia e idade jovem estão associadas a formas graves da doença e a um aumento da mortalidade <sup>6</sup>.

A *E. dispar*, uma ameba morfologicamente semelhante, tem capacidade de colonizar o trato digestivo, embora não tenha potencial de causar doença <sup>7</sup>.

Até 90% das infecções por *E. histolytica* são assintomáticas <sup>8</sup>. Contudo, estes indivíduos representam um risco para a comunidade, podendo ser a fonte de novas infecções. Embora baixo, existe o risco de desenvolvimento de doença invasiva nos portadores assintomáticos.

Nos doentes sintomáticos, ocorre doença invasiva intestinal, que se apresenta como colite. Por vezes, os trofozoitos existentes no lúmen intestinal atravessam a barreira mucosa, levando a manifestações extra-intestinais da doença, com envolvimento hepático, pleuropulmonar, cardíaco, cutâneo <sup>9</sup>, do sistema nervoso central ou do trato geniturinário <sup>10</sup>.

Nos países desenvolvidos, ocorre mais frequentemente em imigrantes ou viajantes para áreas endémicas. Embora pouco frequente, pode ocorrer após estadias inferiores a uma semana <sup>11</sup>. Os homossexuais masculinos ou doentes crónicos imunossuprimidos (transplantados ou infetados pelo VIH) são também considerados grupos de risco.

## / Caso Clínico 1

Doente do sexo masculino, 34 anos, leucomelanodérmico, natural de São Tomé e Príncipe, residente em Portugal há oito anos, sem viagens desde essa altura.

História de malária durante a infância. Negava outros antecedentes pessoais relevantes ou hábitos medicamentosos.

Enviado ao Serviço de Urgência (SU) do Hospital Beatriz Ângelo (HBA) pelo seu Médico de Família por hemoglobina (Hg) de 7,3mg/dl e velocidade de sedimentação (VS) de 120 mm/h. Referia um quadro com mais de seis meses de evolução, de agravamento progressivo, caracterizado por astenia, cansaço para médios esforços, tosse seca, toracalgia direita, desconforto abdominal e sensação de febre (não quantificada). Negava alterações tróficas, do trânsito intestinal ou queixas génito-urinárias.

Ao exame objetivo (EO), de relevante, apresentava-se subfebril (temperatura timpânica: 37,5°C), com palidez das mucosas, subictérico, eupneico (ar ambiente). A auscultação cardiopulmonar era normal e o abdómen mole e depressível, palpando-se hepatomegalia dolorosa, cerca de quatro dedos abaixo do rebordo costal direito e esplenomegalia; apresentava também edemas bilaterais dos membros inferiores. Analiticamente de referir anemia (Hg 7,8 g/dl) e leucocitose (11.400 leucócitos), com 83,1% de neutrófilos, sem eosinofilia (0,7% eosinófilos), aspartato-aminotransferase (AST) 18 UI/ml, alanina-aminotransferase (ALT) 17 UI/ml, fosfatase alcalina (FA) 184 UI/ml, gamaglutiltransferase (GGT) 103 UI/ml, bilirrubina total (BT) 0,89 mg/dl, proteína C reactiva (PCR) 18,22 mg/dl. A função renal, exame sumário de urina e radiografia de tórax (RX Tx) não mostravam alterações. A ecografia abdominal, revelou imagem de natureza quística, com 16,4x14 cm no lobo direito hepático e volumosa esplenomegalia. Atendendo as principais hipóteses diagnósticas (abscesso hepático piogénico vs amebiano), foi iniciada terapêutica empírica com ceftriaxone 2g ev/dia e metronidazol 500mg *per os* (PO) de 8/8h, que cumpriu durante 14 dias. Decidida colocação de dreno guiado por tomografia axial computadorizada (TAC), com saída de cerca de 3000ml de líquido de cor achocolatada, tipo "puré de anchovas" (Figuras 1, 2 e 3). As hemoculturas, exame bacteriológico (aeróbio e anaeróbio), micológico, micobacteriológico e parasitológico do material aspirado e o exame parasitológico de fezes (três amostras) foram negativos, bem como as serologias para *Echinococcus* e *Entamoeba histolytica*. Durante o internamento foi diagnosticada também hepatite B crónica (AgHBs, AchBc e AchBe positivo, genótipo A, ADN VHB: 2170 UI/ml), com serologias para o vírus da imunodeficiência humana (VIH), vírus da hepatite C (VHC) e vírus da hepatite D (VHD) negativas. Assistiu-se a uma melhoria clínica e analítica progressiva, com redução da lesão abcedada, remoção do dreno após dez dias e alta clínica ao 19.º dia. As serologias de *Entamoeba histolytica*, repetidas após 15 dias, foram positivas com IgG > 400 e IgM > 10 (análise realizada por IFI, limiar IgG < 100, limiar IgM < 10). Em consulta de reavaliação dois meses após a alta, o doente mantinha-se assintomático, com anticorpos para *Entamoeba histolytica* (IgG: 200 e IgM < 10).

Reavaliado em consulta ao longo de cerca de um ano, mantendo-se clinicamente estável e assintomático, sem anemia ou leucocitose, com normalização das serologias para *Entamoeba*. A

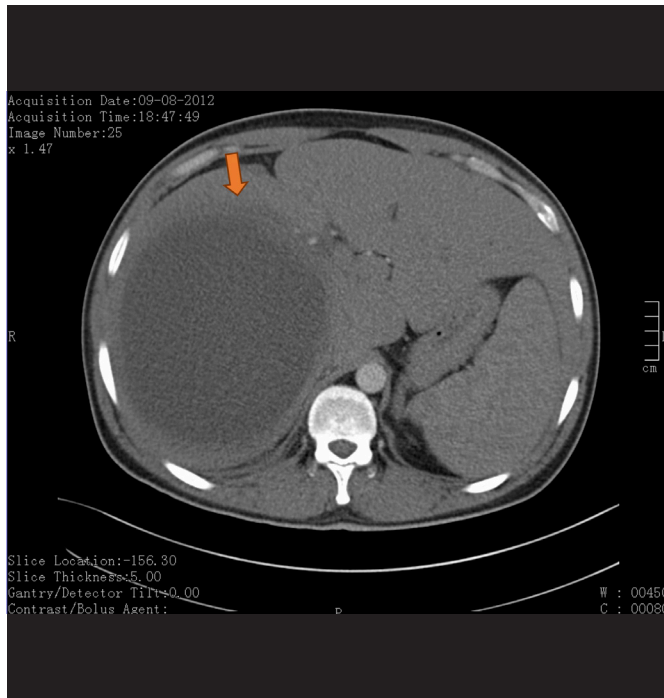


Figura 1 – TAC Abdominal à data de diagnóstico – Caso Clínico 1 (corte axial).

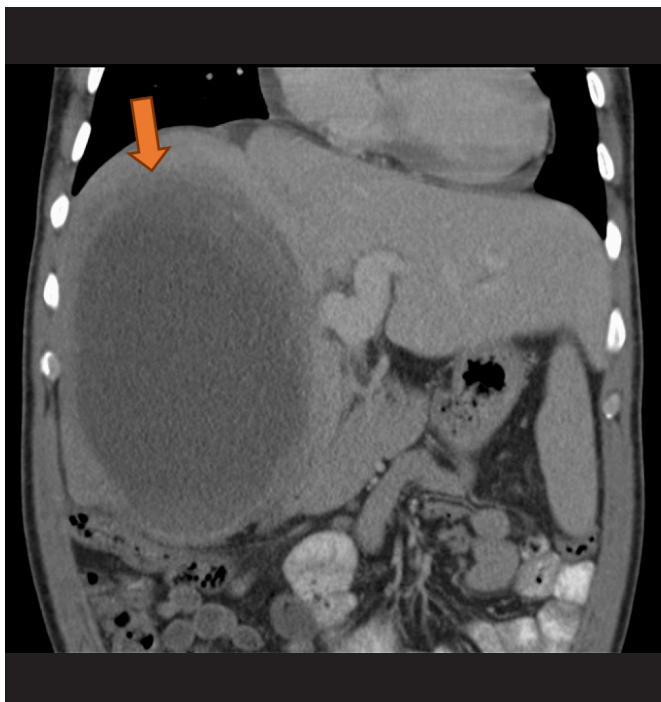


Figura 2 – TAC Abdominal à data de diagnóstico – Caso Clínico 1 (corte coronal).

TAC abdominal de controlo revelou redução importante das dimensões do abscesso hepático do lobo direito, centrado sobretudo no segmento VI, medindo ainda, 5,5 x 4,4 cm de diâmetro (Figura 4 e 5). Mantém seguimento da Hepatite B crónica.

### / Caso Clínico 2

Doente do sexo masculino, 40 anos, leucomelanodérmico, natural de São Tomé e Príncipe, residente em Portugal há seis anos.

Dos antecedentes pessoais de referir "hepatite" (sic) durante a infância e malária na adolescência. Negava outros antecedentes pessoais relevantes ou hábitos medicamentosos.

Viagem de férias à sua terra natal, estadia com familiares, negando vacinações prévias ou profilaxia da malária. Cerca de três semanas após a chegada a São Tomé, inicia de modo súbito quadro de febre (temperatura axilar: 38-39°C), sem calafrio, com mialgias, náuseas e dor abdominal epi e mesogástrica. Negava queixas neurológicas, cardio-respiratórias, do trânsito intestinal ou das características das fezes. Recorre a hospital local, tendo realizado ecografia abdominal e feito o diagnóstico de "abscesso no fígado" (sic). Cumpru três semanas de antibioterapia com metronidazol e amicacina, com apirexia e melhoria das queixas algicas abdominais. Regressa a Portugal, recorrendo ao SU HBA pretendendo "acabar o tratamento" (sic). Ao EO apresentava-se subictérico, com temperatura timpânica de 37,7°C. A palpação



Figura 3 – Material drenado do abscesso hepático.



abdominal revelou um bordo hepático palpável, cerca de dois centímetros abaixo do rebordo costal, sendo a palpação profunda ligeiramente dolorosa. Analiticamente de relevante: Hg de 9,2 g/dl, sem leucocitose ou neutrofilia, VS 107 mm, FA 165 UI/ml, GGT 151 UI/ml, PCR 12,95 mg/dl. A TAC abdominal revelou uma formação de características abcedadas no lobo direito hepático, com aproximadamente 10 cm de diâmetro. As serologias para *Entamoeba histolytica* revelaram IgM 10 e IgG superior a 100. As hemoculturas para aeróbios e anaeróbios e serologias para VIH, VHC e vírus da hepatite B (VHB) foram negativas. Foi iniciada terapêutica antibiótica empírica com ceftriaxone 2g ev/dia e metronidazol 500mg PO de 8/8h, que cumpriu durante 14 dias. Procedeu-se à drenagem da lesão sob controlo imagiológico, com saída de 200 cc de líquido de aspeto "achocolatado", cujo exame bacteriológico (aeróbio e anaeróbio) foi negativo. O doente manteve-se apirético, com normalização da PCR. A TAC abdominal após terapêutica revelou aspeto vestigial da lesão hepática abcedada. Foi reavaliado em Consulta de Infeciologia uma semana após a alta, mantendo-se assintomático e com melhoria da anemia (Hg 9,9 g/dl) e da bioquímica sérica, com PCR de 1,03. O controlo imagiológico ecográfico demonstrava grande redução do abcesso, identificando-se no lobo direito imagem grosseiramente nodular com cerca 37 x 17 mm, mal definida, discretamente hipocogénica, com mínima lâmina de líquido peri-hepático e derrame pleural a direita. A TAC abdominal de controlo, realizada após seis meses, revelava: "fígado com dimensões conservadas, contornos regulares e parênquima homogêneo, atualmente sem

individualização de alterações focais, observando-se resolução completa do abcesso anteriormente drenado". Manteve-se assintomático, tendo alta da consulta de Infeciologia após um ano de seguimento.

### / Discussão

O abcesso amebiano hepático é a manifestação extra-intestinal mais frequente da amebíase, ocorrendo por disseminação da *Entamoeba* através do sistema venoso portal<sup>9</sup>. É mais comum em indivíduos do sexo masculino, entre os 30 e os 50 anos, podendo mecanismos hormonais ou um maior consumo de álcool estar associado a esta prevalência<sup>12</sup>.

Clinicamente apresenta-se como um quadro com cerca de duas semanas de evolução de febre e dor abdominal, embora em alguns casos possa ocorrer um quadro mais indolente, com alguns meses de evolução. A dor é habitualmente referida ao hipocôndrio direito, podendo irradiar ao ombro direito e agravar com a inspiração, esforços ou decúbito direito, como descrito no primeiro caso clínico. Podem coexistir queixas de astenia, anorexia, perda de peso, hipersudorese, tosse ou toracalgia, com diminuição do murmúrio vesicular ou fevres da base pulmonar direita. A icterícia e a diarreia são pouco frequentes, embora alguns doentes refiram episódios de dejeções líquidas ou pastosas meses antes do início do quadro. Em caso de rutura ou perfuração extra-hepática podem estar presentes sinais de irritação peritoneal<sup>13</sup>.

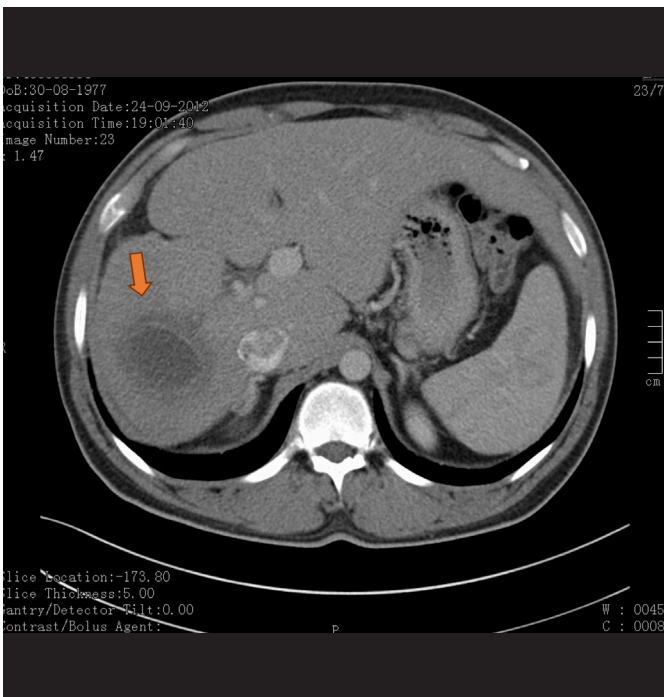


Figura 4 – TAC Abdominal de controlo – Caso Clínico 1 (corte axial)



Figura 5 – TAC Abdominal de controlo – Caso Clínico 1 (corte coronal)

As alterações analíticas mais frequentes são a leucocitose sem eosinofilia e a elevação da fosfatase alcalina. Pode também ocorrer elevação das transaminases, da bilirrubina e velocidade de sedimentação, com discreta anemia e hipoalbuminémia.

O diagnóstico é habitualmente feito através de exames de imagem, como ecografia, TAC ou ressonância magnética. O abscesso amebiano hepático atinge sobretudo o lobo hepático direito, sob a forma de imagem nodular (habitualmente única), hipocóica, de conteúdo heterogêneo e bordos bem definidos. Após o tratamento, as lesões podem tornar-se anecóides, calcificarem ou podem manter uma aparência cística <sup>14</sup>.

A aspiração percutânea (guiada por imagem) pode ser necessária na exclusão de diagnósticos diferenciais (abscessos piogénicos ou mistos) ou em caso de risco iminente de rutura.

O diagnóstico definitivo dos abscessos amebianos é feito através da identificação de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* no material aspirado, com positividade em até 50% dos casos. A pesquisa da ameba neste material é realizada a fresco ou por coloração com iodo e hematoxilina férrica, melhorando-se a sensibilidade quando são aspiradas as paredes do abscesso. O material aspirado no abscesso amebiano é caracterizado por um material viscoso, acastanhado, tipo "pasta de anchovas".

Os testes serológicos, realizados habitualmente através de técnicas de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), têm maior relevância em países de baixa endemicidade, como em Portugal <sup>2</sup>. Contudo, a deteção de anticorpos séricos pode ser negativa na primeira semana e não distinguem entre infeção ativa ou passada, podendo persistir positivos por vários anos. É também possível, em alguns laboratórios, a pesquisa por PCR (Polymerase chain reaction) de *E. histolytica*, podendo contudo ocorrer falsos positivos <sup>15</sup>.

O material deve ser sempre enviado para estudo microbiológico (bacteriológico e parasitológico) em conjunto com um par de hemoculturas (em meios selectivos para aeróbios e anaeróbios). Estas serão negativas no caso de um abscesso amebiano "puro". Em caso positivo, provavelmente ocorreu superinfeção bacteriana, caracterizando assim os abscessos mistos.

Nos casos de forte suspeita diagnóstica, baseada na epidemiologia, manifestações clínicas e achados imagiológicos, pode ser iniciada terapêutica empírica, enquanto se aguardam os resultados confirmatórios. O tratamento antibiótico empírico deve visar também bactérias Gram-negativas (anaeróbias e aeróbias) e Gram-positivas.

Os nitroimidazóis (incluindo o metronidazol) são eficazes em mais de 90% dos casos <sup>4</sup>. Assim, a terapêutica de eleição para o abscesso amebiano hepático é o metronidazol, na dose de 500 a 750mg, três vezes por dia, durante sete a dez dias. O metronidazol é bem absorvido pelo trato gastrointestinal, pelo que a via endovenosa não apresenta benefícios relativamente à oral. Não estão reportadas resistências dos trofozoítos da *E. histolytica* ao metronidazol.

A drenagem percutânea está indicada quando o volume estimado do abscesso, à ultrassonografia, ultrapassa 150 cm<sup>3</sup> ou quando não há diminuição do tamanho do abscesso apenas com o uso de antibióticos <sup>16,17</sup>.

A drenagem cirúrgica aberta é raramente indicada, e está reservada somente aos pacientes com múltiplos abscessos, abscesso único volumoso (especialmente quando se localiza no lobo esquerdo do fígado), falhas na drenagem percutânea ou ruptura espontânea <sup>9</sup>.

Os nitroimidazóis não têm ação sobre os parasitas intraluminais, pelo que a terapêutica da amebiose intestinal deve incluir um amebicida luminal, como a paramomicina <sup>18</sup>. Esta não deve ser administrada simultaneamente com o metronidazol, uma vez que pode causar diarreia, dificultando a perceção da resposta à terapêutica.

Face ao aumento progressivo das viagens e migrações populacionais, em particular entre Portugal e os países africanos de língua oficial portuguesa, o abscesso amebiano hepático deve ser considerado no diagnóstico diferencial das lesões hepáticas abcedadas.

## / Bibliografia

1. RMJ F, AM C, P K. Intestinal protozoa. In: GC C, editor. Manson's tropical diseases. 20th ed. London: WB Saunders Company; 1996. p. 1255-69.
2. Pina APBd. Amebíase 1998 [cited 2015 17 January]. Available from: <http://www.saudepublica.web.pt/04-prevencaodoenca/dtdomanual/ameb.htm>.
3. Haque R. Human intestinal parasites. *Journal of health, population, and nutrition*. 2007;25(4):387-91.
4. Haque R, Huston CD, Hughes M, Houpt E, Petri WA, Jr. Amebiasis. *N Engl J Med*. 2003;348(16):1565-73.
5. Yost J. Amebiasis. *Pediatr Rev*. 2002;23(8):293-4.
6. Petri W, Singh U. Enteric Amebiasis. In: Guerrant R, Walker D, Weller P, editors. *Tropical Infectious Diseases: Principles, pathogens, and practice*. Second edition ed. Philadelphia: Elsevier; 2006. p. 967.
7. Clark CG. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene meeting at Manson House, London, 19 February 1998. Amoebic disease. *Entamoeba dispar*, an organism reborn. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998;92(4):361-4.
8. Gupta KB, Manchanda M, Chaudhary U, Verma M. Superior vena cava syndrome caused by pulmonary amoebic abscess. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 2006;48(4):275-7.
9. Sharma M, Ahuja V. Amoebic liver abscess. *J Indian Acad Clin Med*. 2003;4(2):107-11.
10. Reed SL. Amebiasis and infection with free-living amebas. In: Kasper DL, Fauci AS, editors. *Harrison's Infectious Diseases: The McGraw-Hill Companies, Inc*; 2010. p. 1070-5.
11. Aucott JN, Ravdin JI. Amebiasis and "nonpathogenic" intestinal protozoa. *Infect Dis Clin North Am*. 1993;7(3):467-85.
12. Pritt BS, Clark CG. Amebiasis. *Mayo Clin Proc*. 83(10):1154-60.
13. Stanley SL, Jr. Amoebiasis. *Lancet*. 2003;361(9362):1025-34.
14. Park MS, Kim KW, Ha HK, Lee DH. Intestinal parasitic infection. Abdominal imaging. 2008;33(2):166-71.
15. Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):511-32.
16. Jha AK, Das G, Maitra S, Sengupta TK, Sen S. Management of large amoebic liver abscess—a comparative study of needle aspiration and catheter drainage. *J Indian Med Assoc*. 2012;110(1):13-5.
17. Bammigatti C, Ramasubramanian NS, Kadiravan T, Das AK. Percutaneous needle aspiration in uncomplicated amoebic liver abscess: a randomized trial. *Trop Doct*. 2013;43(1):19-22.
18. Wuerz T, Kane JB, Boggild AK, Krajden S, Keystone JS, Fuksa M, et al. A review of amoebic liver abscess for clinicians in a nonendemic setting. *Can J Gastroenterol*. 2012;26(10):729-33.

**10<sup>as</sup> Jornadas de Atualização em Doenças Infecciosas**

28 e 29 de Janeiro de 2016  
Lisboa, Auditório da Caixa Geral de Depósitos  
<http://www.10jornadascurrycabral.com/>

**11<sup>a</sup> Reunião Nacional de Co-Infeção VIH/Hepatites**

20 e 21 de Maio de 2016  
[www.gepcoi2016.com](http://www.gepcoi2016.com)

**XIII Congresso Nacional de Doenças Infecciosas e Microbiologia Clínica**

**XI Congresso Nacional de VIH/SIDA**  
Coimbra, 30 de novembro a 2 de dezembro de 2016  
Hotel Vila Galé  
Secretariado: Eurocongressos

**Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI)**

February 22 to February 25, 2016  
Boston, MA  
<http://www.croiconference.org/>

**17<sup>th</sup> International Congress on Infectious Diseases**

Hyderabad, India  
March 2-5, 2016  
<http://www.isid.org/icid/>

**26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2016)**

9 - 12 April 2016  
Amsterdam, Netherlands  
<http://www.eccmid.org/>

**22nd Annual Conference of the British HIV Association (BHIVA)**

19–22 April 2016  
Manchester Central, Manchester UK  
<http://www.bhiva.org/AnnualConference2016.aspx>

**HIV Management 2016: New York Course**

May 5, 2016 - May 6, 2016  
New York, United States  
<http://www.newyorkcourse.com/>

**Hepatitis C Management: State of the Art 2016**

May 6, 2016 - May 7, 2016  
New York, United States  
<http://www.hep2016.com/>

**Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 20th Congress 2016**

May 26, 2016 - May 28, 2016  
Barcelona, Spain  
<http://www.seimc.org/index.php>

**ASM Microbe 2016**

June 16-20  
Boston, Massachusetts, USA  
<http://asmmicrobe.org/>

**15th European Society of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ESCMID) Summer School**

July 2nd to 9th  
Spain / Seville  
Email: [info@escmid.org](mailto:info@escmid.org)  
Website: [https://www.escmid.org/profession\\_career/educational\\_activities/15th\\_escmid\\_summer\\_school](https://www.escmid.org/profession_career/educational_activities/15th_escmid_summer_school)

**The 21<sup>st</sup> International AIDS Conference (AIDS 2016)**

18-22 July 2016  
Durban, South Africa  
<http://www.aids2016.org/>

**27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2017)**

22 - 25 April 2017  
Vienna, Austria  
[www.escmid.org](http://www.escmid.org)

**RPDI Revista Portuguesa  
de Doenças Infecciosas**

Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa  
de Doenças Infecciosas  
e Microbiologia Clínica

## Checklist destinada aos Autores

Título do manuscrito:

---

Nome do primeiro Autor:

---

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

**Nota:** para informações complementares sobre as normas de publicação, consulte o site da SPDIMC  
<http://spdinc.org/revista/normas-de-publicacao/>

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

(Assinatura do Primeiro Autor)

Data:     /   /

---