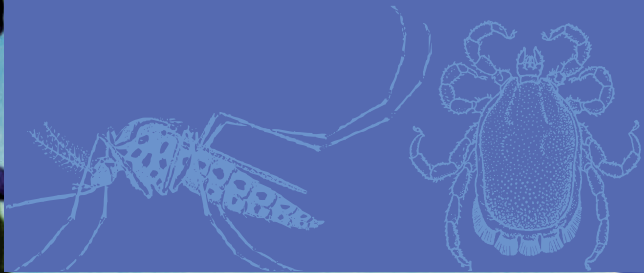


**DOENÇAS**  
**ASSOCIADAS A**  
**ARTRÓPODES**  
**VETORES E**  
**ROEDORES**



Instituto **Nacional de Saúde**  
Doutor Ricardo Jorge



# **DOENÇAS ASSOCIADAS A ARTRÓPODES VETORES E ROEDORES**

editores

Maria Sofia Núncio

Maria João Alves

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP

Lisboa, 2014

---

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2014

**MINISTÉRIO DA SAÚDE**

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP  
Departamento de Doenças Infeciosas  
Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas  
Doutor Francisco Cambournac  
[www.insa.pt](http://www.insa.pt)

**Título**

**Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores**

**Editores**

Maria Sofia Núncio e Maria João Alves

**Coordenação técnica editorial; Design gráfico e paginação**

Elvira Silvestre; Francisco Tellechea

**Impressão**

Guide – Artes Gráficas, Lda

ISBN 978-972-8643-90-4

Lisboa, 2014

## Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP (INSA)

O INSA é um organismo público integrado na administração indireta do Estado, sob a tutela do Ministério da Saúde, dotado de autonomia científica, técnica, administrativa, financeira e património próprio.

Fundado em 1899 pelo médico e humanista Ricardo Jorge (Porto, 1858 – Lisboa, 1939), como braço laboratorial do sistema de saúde português, o INSA desenvolve uma tripla missão como laboratório do Estado no sector da saúde, laboratório nacional de referência e observatório nacional de saúde.

O INSA dispõe de unidades operativas na sua sede em Lisboa, em centros no Porto (Centro de Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira) e em Águas de Moura (Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac).

O INSA, em termos técnico-científicos, está organizado, em seis departamentos: Departamento da Alimentação e Nutrição; Departamento de Doenças Infeciosas; Departamento de Epidemiologia; Departamento de Genética Humana; Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção das Doenças Não Transmissíveis; Departamento de Saúde Ambiental.

Enquanto Laboratório do Estado, o INSA tem por missão contribuir para ganhos em saúde pública através de atividades de investigação e desenvolvimento tecnológico, atividade laboratorial de referência, observação da saúde e vigilância epidemiológica, bem como coordenar a avaliação externa da qualidade laboratorial, difundir a cultura científica, fomentar a capacitação e formação e ainda assegurar a prestação de serviços diferenciados, nos referidos domínios.

São atribuições do INSA: Promover e desenvolver a atividade de investigação científica orientada para as necessidades em saúde pública, procedendo à gestão científica, operacional e financeira dos programas de investigação do sector da saúde pública; Promover a capacitação de investigadores e técnicos, bem como realizar ações de divulgação da cultura científica, numa perspetiva de saúde em todas as políticas; Promover, organizar e coordenar programas de avaliação, nomeadamente na avaliação externa da qualidade laboratorial e colaborar na avaliação da instalação e funcionamento dos laboratórios que exerçam atividade no sector da saúde; Promover, organizar e coordenar programas de observação em saúde; Assegurar o apoio técnico-normativo aos laboratórios de saúde pública; Prestar assistência diferenciada em genética médica para prevenção e diagnóstico, em serviços laboratoriais; Planear e executar o programa nacional de diagnóstico precoce; Colaborar na realização de atividades de vigilância epidemiológica de doenças, transmissíveis e não transmissíveis, e desenvolver ou validar instrumentos de observação em saúde; Assegurar a resposta laboratorial em caso de emergência biológica; Proceder à monitorização do consumo de aditivos e da exposição da população a contaminantes e outras substâncias potencialmente nocivas presentes nos alimentos; Assegurar a recolha, compilação e transmissão dos dados analíticos relativos à composição, incluindo contaminantes e outras substâncias químicas, dos géneros alimentícios e alimentos para animais; Avaliar a execução e resultados das

---

políticas, do Plano Nacional de Saúde e programas de saúde do Ministério da Saúde; Desenvolver ações de cooperação nacional e internacional, de natureza bilateral ou multilateral, no âmbito das suas atribuições; Prestar serviços remunerados a entidades dos setores público, privado e social, a nível nacional e internacional, nas áreas das suas atribuições; Instituir prémios científicos e bolsas para a execução de atividades de I&D; Assegurar a gestão e promoção do Museu da Saúde.

O INSA concretiza a sua missão e atribuições através do desenvolvimento de diversas atividades no âmbito das suas funções essenciais.

<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/QuemSomos/Paginas/INSA.aspx>

## **Departamento de Doenças Infeciosas (DDI)**

Ao DDI compete promover, coordenar e realizar atividades e projetos de investigação em doenças infecciosas, seus agentes e determinantes; contribuir para planeamento da agenda de investigação em Saúde; colaborar na vigilância epidemiológica das doenças infecciosas, na sua componente laboratorial, em articulação com as redes nacionais e internacionais; realizar prestação de serviços diferenciados e consultoria na área das doenças infecciosas e seus agentes e vetores; atuar na avaliação do risco biológico de emergência em saúde pública; coordenar as atividades do biotério.

O DDI compreende cinco unidades: Unidade Laboratorial Integrada; Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica; Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação; Unidade de Investigação e Desenvolvimento; Unidade de Apoio Técnico e Gestão.

As duas primeiras Unidades do Departamento asseguram a realização do diagnóstico laboratorial de referência de doenças infecciosas, disponibilizando uma lista alargada de prestação de serviços que pode ser consultada através da página web do INSA.

O DDI desenvolve a sua atividade na Sede, no Centro de Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira e no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac.

## **Unidade Laboratorial Integrada (ULI)**

A ULI tem por principal missão a prestação de serviços diferenciados em microbiologia, e compreende os laboratórios de Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular, localizados em Lisboa e no Porto.

Além do diagnóstico laboratorial de doenças infecciosas, os vários laboratórios organizam e mantêm coleções nacionais de estirpes bacterianas, soros e outros produtos microbiológicos e participam, em articulação com outros sectores do INSA, na organização de programas de avaliação externa da qualidade em microbiologia clínica destinados à rede nacional de laboratórios públicos e privados.

A colaboração privilegiada que se tem mantido com os clínicos, tem permitido aos profissionais desta Unidade desenvolver testes laboratoriais específicos como resposta a necessidades de diagnóstico, para as quais o mercado não oferece alternativa.

## Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas

O Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas está integrado na Unidade de Referência e Vigilância do DDI. Desenvolve atividades técnico-científicas aplicadas ao diagnóstico e à investigação na área da parasitologia e micologia e tem delegados nacionais em redes de vigilância epidemiológica nacionais e internacionais. Possui técnicos e investigadores qualificados, participa em programas de avaliação externa da qualidade nacionais e internacionais e é acreditado pelo IPAC, NP EN ISO17025 (L0425) para vários parâmetros. Promove formação especializada em micologia e parasitologia clínica (individual – estágios laboratoriais e pós-graduações e em grupo – aulas e reuniões científicas) e desenvolve parcerias em projetos de investigação com várias instituições.

## Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais

O Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais está subdividido em três laboratórios: *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, e outras bactérias entéricas; *Campylobacter* spp e *Helicobacter* spp; *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp e *Entamoeba histolytica*.

O Laboratório Nacional de Referência de *Salmonella*, *E. coli*, *Shigella* spp, *Yersinia* spp, *Listeria monocytogenes* e outras bactérias entéricas tem como funções: desenvolver novas metodologias laboratoriais, implementar métodos de referência, participar na normalização de técnicas laboratoriais, assegurar o apoio técnico-científico aos laboratórios dos serviços de saúde, promover, organizar e garantir a avaliação externa da qualidade no âmbito laboratorial, bem como preparar e distribuir materiais de referência.

A ação estratégica no combate às infeções gastrointestinais é representada pelas quatro linhas fundamentais da missão destes laboratórios: a vigilância, a prevenção, a investigação e a cooperação nacional e internacional: a vigilância epidemiológica laboratorial das infeções causadas por bactérias ou parasitas do foro gástrico e intestinal enquadra-se no âmbito do Plano Nacional de Saúde e está vocacionada para a identificação, o estudo e diferenciação de estirpes utilizando marcadores epidemiológicos (clássicos e moleculares) e a identificação de fatores de patogenia; a prevenção, que se traduz-se pela divulgação de resultados obtidos e pela formação; a participação em projetos visando o esclarecimento da situação portuguesa insere-se nas atividades de investigação; a cooperação nacional e internacional é desenvolvida através das colaborações com diferentes instituições nacionais (DGS, LNIV, Universidades, etc.) e internacionais (ECDC, OMS, e Institutos Nacionais de Saúde congéneres ao INSA).

## Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac (CEVDI)

O CEVDI, localizado em Águas de Moura, é a Unidade do DDI que assegura o diagnóstico de referência, a vigilância epidemiológica e a investigação científica e dá apoio ao desenvolvimento de estudos na área dos agentes infecciosos transmitidos por vetores ao Homem e outros animais.

---

Algumas das doenças estudadas neste centro são a borreliose de Lyme, tularémia, febre Q, febre escaro-nodular e outras rickettsioses, febre por *West Nile*, Chikungunya e dengue, arnaviroses e hantaviroses e outras febres hemorrágicas virais. O CEVDI é responsável pela implementação e execução do programa REVIVE, um projeto nacional de vigilância dos artrópodes vetores. Assegura também consultadoria técnica, interna e externa, e colabora em atividades de formação.

---

## AUTORES:

### Unidade Laboratorial Integrada

**Rita Matos**

rita.matos@insa.min-saude.pt

### Laboratório Nacional de Referência de Infecções Sistémicas e Zoonoses

**Maria João Gargaté**

m.joao.gargate@insa.min-saude.pt

### Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais

**Jorge Machado**

jorge.machado@insa.min-saude.pt

**Leonor Silveira**

leonor.silveira@insa.min-saude.pt

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge  
Av. Padre Cruz  
1649-016 Lisboa, Portugal  
Tel.: (+351) 217 519 242  
Fax: (+351) 217 526 400

### Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas

**Ana Sofia Santos**

ana.santos@insa.min-saude.pt

**Carina Luísa da Costa**

carina-l-carvalho@sapo.pt

**Fátima Amaro**

fatima.amaro@insa.min-saude.pt

**Hugo Osório**

hugo.osorio@insa.min-saude.pt

**Isabel Lopes de Carvalho**

isabel.carvalho@insa.min-saude.pt

**Líbia Zé-Zé**

libia.zeze@insa.min-saude.pt

**Margarida Santos Silva**

m.santos.silva@insa.min-saude.pt

**Maria João Alves**

m.joao.alves@insa.min-saude.pt

**Maria Sofia Nuncio**

sofia.nuncio@insa.min-saude.pt

**Natacha Milhano**

natacha.milhano@insa.min-saude.pt

**Rita de Sousa**

rita.sousa@insa.min-saude.pt

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge  
Av. da Liberdade, 5  
2965-575 Águas de Moura, Portugal  
Tel.: (+351) 265 912 222 / 265 938 290  
Fax: (+351) 265 912 155

# Índice

PREFÁCIO .....	9
INTRODUÇÃO .....	11
I. ARTRÓPODES E ROEDORES ASSOCIADOS À TRANSMISSÃO DE AGENTES INFECIOSOS.....	13
Mosquitos.....	16
Flebótomos.....	23
Carrças.....	29
Piolhos.....	35
Pulgas.....	37
Roedores.....	39
II. DOENÇAS ASSOCIADAS A MOSQUITOS .....	43
Viroses transmitidas por mosquitos.....	45
Malária.....	53
Filaríase.....	59
III. DOENÇAS ASSOCIADAS A FLEBÓTOMOS.....	61
Leishmaníase.....	63
Fleboviroses.....	71
IV. DOENÇAS ASSOCIADAS A CARRÇAS.....	77
Viroses transmitidas por carrças.....	79
Febre recorrente endémica ou associada a carrças.....	83
Borreliose de Lyme.....	87
Tularémia.....	99
Febre escaro-nodular e outras rickettsioses em Portugal.....	107
Ehrlichiose e anaplasmoses.....	117
Febre Q.....	121
Babesiose humana.....	127
V. DOENÇAS ASSOCIADAS A PULGAS.....	131
Peste.....	133
Rickettsias transmitidas por pulgas.....	135
VI. DOENÇAS ASSOCIADAS A PIOLHOS.....	139
Tifo epidémico.....	141
Febre das trincheiras.....	143
Febre recorrente epidémica ou febre recorrente por piolho.....	147
VII. DOENÇAS ASSOCIADAS A ROEDORES.....	149
Hantaviroses.....	151
Coriomeningite linfocitária.....	157
Leptospirose.....	161
<i>Salmonella</i> spp. associada a roedores.....	169
Febre da mordedura do rato.....	177
CONCLUSÕES .....	181

---

## Índice de Quadros

Quadro 1. Agentes etiológicos mais representativos transmitidos por mosquitos.....	19
Quadro 2. Agentes etiológicos transmitidos por ixodídeos presentes ou em risco de emergirem em Portugal.....	33
Quadro 3. Características biológicas, distribuição geográfica e sintomatologia dos vários agentes etiológicos de filariase.....	60
Quadro 4. Classificação do género <i>Leishmania</i> . Análise filogenética.....	64
Quadro 5. Localização geográfica das diferentes espécies de <i>Leishmania</i> sp.....	66
Quadro 6. Distribuição geográfica das espécies do complexo <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. e seus principais vetores.....	88
Quadro 7. Fases evolutivas da borreliose de Lyme.....	92
Quadro 8. Evidência laboratorial aconselhada para validar o diagnóstico de borreliose de Lyme de acordo com a manifestação clínica.....	94
Quadro 9. Amostras rececionadas no CEVDI e no laboratório de imunologia do INSA-Porto para diagnóstico laboratorial de borreliose de Lyme.....	96
Quadro 10. Rickettsias patogénicas do grupo das febres exantemáticas identificadas na Europa.....	108
Quadro 11. Espécies de rickettsias do grupo das febres exantemáticas identificadas em ixodídeos no programa REVIVE, 2011-2013.....	114
Quadro 12. Número de casos de infeção por <i>Salmonella</i> confirmados laboratorialmente, principais serotipos e percentagens relativas 2000 - 2012.....	173

## Índice de Figuras

Figura 1. Ciclo de vida dos mosquitos.....	18
Figura 2. Ciclo de vida dos flebótomos.....	25
Figura 3. Ciclo de vida dos ixodídeos.....	30
Figura 4. Fêmea de ixodídeo na fase final da postura.....	30
Figura 5. Taxas de notificação e origem de infeções de <i>Salmonella</i> spp. em humanos na EU/EFTA, 2012.....	172

## PREFÁCIO

As doenças infecciosas transmitidas por vetores e roedores ao Homem são uma questão importante para a saúde global.

Nas últimas duas décadas, muitos agentes patogénicos associados a vetores têm surgido em novas regiões, enquanto muitas doenças endémicas têm aumentado a sua incidência.

A importância que estas patologias têm atualmente em todo o mundo foi um fator decisivo para que a Organização Mundial de Saúde dedicasse o Dia Mundial da Saúde de 2014 ao tema das Doenças Transmitidas por Vetores.

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), no sentido de se associar a este evento, divulga este livro onde são abordadas as principais doenças associadas a artrópodes vetores e roedores que existem, ou que estão em risco de serem introduzidas, em Portugal. Se algumas delas já são bem conhecidas dos profissionais de saúde, outras há que começam a ser reconhecidas como potenciais ameaças à saúde pública em Portugal. É importante fazer a disseminação de informação aos profissionais de saúde envolvidos na investigação, diagnóstico clínico e laboratorial e tratamento de vetores artrópodes, roedores e doenças transmitidas.

O objetivo deste livro é dar a conhecer as atividades realizadas no INSA no seu Departamento de Doenças Infecciosas<sup>1</sup>, com especial relevância para o Centro de Estudo de Vetores e Doenças Infecciosas<sup>2</sup>, como unidade especializada sediada em Águas de Moura que participa ativamente na Rede de Vigilância de Vetores (REVIVE)<sup>3</sup> resumizando dados colhidos nos últimos anos de experiência de investigação e diagnóstico de doenças associadas a artrópodes vetores e roedores.

**José Pereira Miguel**

Presidente do INSA

1. <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/Paginas/inicio.aspx>
2. <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/AreasTrabalho/EstVectDoencasInfecciosas/Paginas/inicial.aspx>
3. <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/AreasTrabalho/EstVectDoencasInfecciosas/Paginas/Revive.aspx>



## INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas associadas a vetores transmitidas ao Homem constituem um grupo de doenças com grande importância clínica, epidemiológica e laboratorial. Os principais vetores são, os mosquitos, os flebótomos, as carrças, as pulgas e os piolhos, não só porque integram um conjunto muitíssimo alargado de doenças, algumas consideradas como as de maior mortalidade e morbidade a nível mundial, mas também porque um diagnóstico e uma vigilância epidemiológica integradas permitem que sejam desencadeadas medidas de prevenção que em muito podem reduzir a sua severidade.

Os agentes das doenças infecciosas transmitidas por mosquitos destacam-se, pela sua gravidade, em doenças causadas por parasitas como a Malária (*Plasmodium*) e as Filárias, mas também por vírus como o Dengue e *West Nile*, assim como Batai (Calovo vírus), Ockelbo, Inkoo, Tahyna, Usutu, menos conhecidas mas que necessitam de um diagnóstico laboratorial preciso e diferencial.

Os flebótomos são responsáveis pela transmissão de agentes como a Leishmania e o Flebovírus.

As carrças são outro grupo de vetores transmissores de doenças infecciosas de que a Febre recorrente por carrça, a Borreliose de Lyme, a Tularémia, a Febre Q, a Ehrlichiose, a Anaplasmose e a Babesiose são as mais conhecidas, mas também outras doenças causadas por vírus devem ser considerados como o TBE, CCHF, Bhanja, Thogoto, Dhori, Tribec, Tettngang e vírus Eyach virus.

Entre as doenças transmitidas por pulgas a Peste é, sem dúvida, a que se reveste de maior importância em termos mundiais, mas outras existem que necessitam de um diagnóstico laboratorial como a doença da arranhadura do gato (*Cat scratch disease*) e outras que tem as rickettsias como causa.

Os piolhos podem também transmitir agentes infecciosos como nos casos das *Louse-borne rickettsial diseases*, *Trench fever* e *Louse-borne relapsing fever*.

Os roedores são outro importante grupo de transmissores de agentes infecciosos, de que as leptospiroses e as salmoneloses, de origem bacteriana, são as doenças mais importantes, devendo no entanto, devem ser consideradas também as de origem viral associadas aos vírus Puumala, Dobrava, Saarema e vírus da coriomeningite linfocitária.

---

Em Portugal, assim como no resto da Europa, os agentes mencionados podem ser diagnosticados clínica e laboratorialmente e embora, a sua importância relativa seja muito variável de país para país, nenhum deles pode ser negligenciado. A globalização viabilizou a algumas destas doenças em locais muito distantes dos ecossistemas em que algumas delas estavam circunscritas.

Em Portugal muitas destas doenças não são notificadas e mesmo as de notificação obrigatória, mesmo nas que o são, a subnotificação é elevada, levando ao desconhecimento da sua real situação epidemiológica.

Com o conhecimento desta nova realidade a componente laboratorial tem efetuado um esforço para permitir que os diagnósticos estejam disponíveis, no sentido de identificar cada possível caso causado por estes agentes, de forma a que a vertente da vigilância epidemiológica permita prevenir novos casos.

Deve, no entanto, ter-se em consideração que uma vigilância clínica, epidemiológica e laboratorial integradas (e não apenas, a componente laboratorial, ainda que decisiva) com os recursos das novas tecnologias de informação permitirá um sistema mais eficaz de prevenção. Assim urge dar forma a um novo Sistema Nacional de Informação de Vigilância Epidemiológica (SINAVE). Este livro vem contribuir para que a informação sobre estas doenças em Portugal seja melhor conhecida e compreendida.

**Jorge Machado**

Coordenador do Departamento de Doenças Infeciosas

# **I. ARTRÓPODES E ROEDORES ASSOCIADOS À TRANSMISSÃO DE AGENTES INFECIOSOS**



# MOSQUITOS

Hugo Costa Osório

## Introdução

Os mosquitos são insetos que pertencem à família *Culicidae*, uma das mais primitivas famílias da ordem Diptera, na qual se reconhecem mais de 3500 espécies e subespécies distribuídas por todo o mundo, exceto nos locais permanentemente gelados [1].

Os mosquitos são o mais importante grupo de artrópodes do ponto de vista médico e veterinário pelo facto de serem vetores de importantes doenças da espécie humana.

A malária, várias arboviroses e filarioses linfáticas causam anualmente elevada morbidade e mortalidade. Estima-se que em 2012 tenha havido 207 milhões de casos de malária que causaram aproximadamente 627 000 mortes. Em 2013, foi relatada a transmissão de malária em 97 países e estima-se que 3,4 mil milhões de pessoas se encontrem em risco de contrair malária [2]. Quanto aos arbovírus (*arthropod-borne virus*), o dengue é a mais importante infeção viral transmitida por mosquitos. Nas últimas décadas a incidência de dengue cresceu dramaticamente em todo o mundo, estimando-se que ocorram 50-100 milhões de infeções todos os anos [3]. A febre amarela, apesar da vacina altamente eficaz, provoca 200 000 casos e 30 000 mortes por ano, número que tem vindo a aumentar nas últimas duas décadas devido ao declínio da imunidade da população vacinada e a fatores sociais e ecológicos, como migrações populacionais, deflorestação, urbanização e alterações climáticas [4]. A encefalite japonesa, a mais comum encefalite viral transmitida por mosquitos nos países asiáticos, tem uma casuística de 50 000 casos anuais [5]. A febre por *West Nile*, causada pelo vírus *West Nile*, tem um elevado impacto em países onde é ou se tornou endémico, como no Norte da América [6] e nas últimas duas décadas os surtos epidémicos do vírus *West Nile* na Europa e bacia mediterrânica têm vindo a aumentar [7]. O arbovírus Chikungunya, que causa febre e dores articulares intensas, atingiu proporções epidémicas entre 2005-2007 quando foram registados 1,25 milhões de casos em ilhas do Oceano Índico e na Índia [4]. Quanto às filarioses linfáticas, cerca

---

de 1,4 mil milhões de pessoas em 73 países estão em risco e mais de 120 milhões são anualmente infetadas [4].

Os números estimados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram o impacto dos mosquitos na saúde pública global e evidenciam a importância da entomologia médica aplicada ao estudo desta família de insetos.

### **Taxonomia dos mosquitos**

Os mosquitos, ou culicídeos, pertencem ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae. A família Culicidae divide-se em três subfamílias, Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae.

A sistemática dos mosquitos é complexa e tem sido continuamente sujeita a revisões que incluem a adição de novas taxa e a modificação e/ ou remoção de outros desde o início das primeiras revisões taxonómicas [8,9]. O catálogo mundial da família Culicidae é atualmente mantido eletronicamente pela *Walter Reed Biosystematics Unit* em Washington DC (<http://wrbu.si.edu/>) e conta com 3 528 espécies válidas distribuídas por 43 géneros [10].

As espécies com importância em saúde pública pertencem às subfamílias Anophelinae e Culicinae, nas quais as fêmeas fazem refeições sanguíneas.

### **Bioecologia e ciclo de vida dos mosquitos**

Tal como os outros dípteros, os mosquitos são insetos holometabólicos, exibem metamorfoses completas passando pelos estádios de ovo, larva e pupa que são anatomicamente diferentes do inseto adulto, têm outro tipo de alimentação e ocupam habitats diferentes.

Os ovos são colocados isoladamente (anofelíneos e culicíneos) ou agrupados (culicíneos) e flutuam devido à tensão superficial da água (culicíneos) ou à presença de flutuadores laterais no ovo (anofelíneos).

As larvas são formadas por três segmentos morfológicamente distintos: cabeça, com numerosas sedas nas placas epicranianas e com duas antenas nas extremidades antero-laterais; tórax, esférico e achatado dorso-ventralmente; e abdómen, formado por oito segmentos, encontrando-se, na metade dorso-apical do oitavo segmento das subfamílias Culicinae e Toxorhynchitinae, o sifão respiratório.

As pupas, tal como as larvas, são móveis e aquáticas, mas não se alimentam. Têm forma de vírgula, cabeça e tórax fundidos em cefalotórax onde se encontram as trombetas respiratórias, e um abdómen longo e encurvado que apresenta no último segmento duas paletas natatórias flexíveis [11].

Os mosquitos adultos têm cerca de 3-6 mm de comprimento, apresentam um corpo delgado revestido com sedas e escamas mais ou menos abundantes e patas longas e finas. A cabeça é esférica, com olhos reniformes, compostos e sem ocelos. A probóscide (aparelho bucal) é longa e flexível, sendo, nas fêmeas, adaptada à perfuração de tegumentos para obtenção da refeição sanguínea. Os palpos maxilares, constituídos por cinco segmentos, localizam-se lateralmente à probóscide. As antenas são longas, compostas por 13 artículos revestidos por sedas e com acentuado dimorfismo sexual, sendo em geral plumosas nos machos e pilosas nas fêmeas. No tórax inserem-se três pares de patas, um par de asas membranosas, um par de halteres (segundo par de asas modificadas) e identificam-se dois pares de orifícios respiratórios ou espiráculos. O abdómen é constituído por dez segmentos, sendo oito facilmente visíveis e revestidos por sedas e ou escamas. Na sua extremidade encontram-se os orifícios anal e genital, rodeados por estruturas designadas de genitálias, sendo a masculina saliente e com importância taxonómica.

O ciclo de vida dos mosquitos compreende necessariamente uma fase aquática, relativa às formas imaturas, ovo, quatro estádios larvares e pupa e uma fase terrestre/aérea correspondente ao mosquito adulto (Figura 1). As fêmeas de mosquitos colocam 50 a 300 ovos por postura, sendo o número e a forma da postura dependente da espécie e do estado fisiológico da fêmea. A postura pode ser efetuada sobre a superfície da água ou em locais húmidos que posteriormente serão inundados. Pode ocorrer diapausa na fase de ovo. Os mosquitos exploram uma grande variedade de habitats aquáticos para o desenvolvimento larvar, estando a maioria das espécies de mosquitos apenas adaptadas a criadouros de água doce.

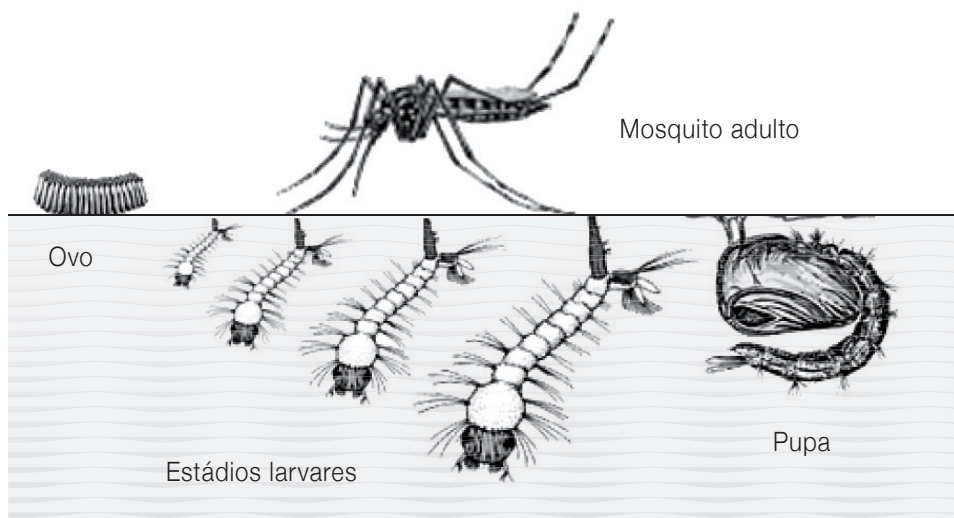


Figura 1: Ciclo de vida dos mosquitos

Após eclodirem do ovo as larvas estão perfeitamente adaptadas à vida aquática. Duas características principais determinam o seu modo de vida: o uso de oxigênio atmosférico na respiração e a alimentação de partículas orgânicas em suspensão ou no sedimento do sistema aquático. Relativamente à primeira, esta exige uma dependência quase permanente com a superfície da água, onde se estabelecem as trocas gasosas. O tempo necessário para o desenvolvimento completo da larva depende de vários fatores, sendo a temperatura da água e a disponibilidade de alimentos os mais importantes.

Na pupa a função das trocas gasosas é assegurada por duas largas trompetas respiratórias no cefalotórax. Neste estágio de desenvolvimento o inseto não se alimenta e há substituição de vários órgãos da larva por órgãos do inseto adulto. A eclosão do adulto pode dar-se em um ou dois dias caso a temperatura seja favorável. Quando o mosquito adulto está formado a pressão interna no interior da cutícula da pupa aumenta e o inseto lentamente se expande para fora da cutícula.

Em condições naturais os mosquitos machos são os primeiros a emergir. O acasalamento acontece perto do criadouro das formas imaturas após eclosão das fêmeas, caracterizando-se muitas espécies pela formação de enxames compostos por dezenas a milhares de indivíduos sobre o criadouro.

Quanto à alimentação, machos e fêmeas necessitam de hidratos de carbono, geralmente na forma de néctares e sucos vegetais. As fêmeas dos anofelíneos e culicíneos necessitam de proteínas para o desenvolvimento dos ovos que são obtidas do sangue de animais vertebrados. A preferência alimentar das fêmeas, animais (zoofilia)

ou humanos (antropofilia), condiciona o seu papel como vetores de agentes patogénicos. Após a refeição sanguínea as fêmeas de mosquito procuram um abrigo e entram num período de inatividade relativa em que se dá a digestão e maturação dos ovos [12, 13].

## Microrganismos transmitidos por mosquitos

Os mosquitos são hospedeiros e vetores de uma variedade de agentes de doenças humanas, algumas das quais com reservatórios animais que constituem verdadeiras zoonoses (Quadro 1). Estes microrganismos podem alternar a fase parasítica com uma fase de vida livre ou ser exclusivamente parasitas, alternado no seu ciclo de vida entre hospedeiros vertebrados e invertebrados, neste caso o mosquito.

Quadro 1. Agentes etiológicos mais representativos transmitidos por mosquitos

Doença/ Agente	Hospedeiro		Vetores principais
	Natural	Tangencial	
Arboviroses/ Vírus			
Chikungunya	Primata	Humano	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i>
Encefalite equina oriental	Ave	Humano, equídeo	<i>Coquilletidea perturbans</i>
Encefalomielite equina ocidental	Ave	Humano, equídeo	<i>Culex tarsalis</i>
Encefalomielite venezuelana	Mamíferos	Humano	<i>Cx. pipiens</i>
Dengue	Humano	Humano	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i>
Encefalite japonesa	Porco	Humano	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>
Encefalite de Saint Louis	Ave	Humano	<i>Cx. pipiens</i> , <i>Cx. nigripalpus</i>
Febre-amarela	Primata	Humano	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Haemagogus spp.</i>
Encefalite de La Crosse	Roedores	Humano	<i>Ae. triseriatus</i>
Febre/ encefalite West Nile	Ave	Humano, Cavalos	<i>Culex spp.</i>
Protozoários/ Plasmódios			
Malária humana	Humano		<i>Anopheles spp.</i>
Helmintes/ Filárias			
<i>Wuchereria bancrofti</i>	Humano	Humano	<i>Culex</i> , <i>Mansonia spp.</i>
<i>Brugia malayi</i>	Gato	Humano	<i>Culex</i> , <i>Mansonia spp.</i>
<i>Dirofilaria immitis</i>	Cão	Humano	<i>Culex</i> , <i>Aedes spp.</i>

---

## Medidas de proteção e métodos de controlo

As medidas de proteção individual contra a picada de mosquitos compreendem: a redução da exposição corporal e/ou limitar o tempo de atividades exteriores nos períodos de maior atividade dos mosquitos; a utilização de vestuário adequado, roupas largas e de cor clara que cubram a maior área corporal possível; a utilização caseira de velas e incensos repelentes e inseticidas; a aplicação cutânea de repelentes de insetos.

Os métodos de controlo de mosquitos podem ser dirigidos às formas imaturas, controlo larvar, ou aos adultos, sendo a metodologia adequada às características ecológicas de cada estágio. São classificados como: métodos físicos, químicos e biológicos. O objetivo das diferentes metodologias é a diminuição da densidade de mosquitos reduzindo assim o risco de transmissão de doenças e o incómodo para as populações. A atual abordagem da OMS visa o Controlo Integrado de Vetores (*Integrated Vector Management*) [14], apelando à utilização racional, eficaz e ecologicamente sustentável dos três tipos de abordagem no controlo de vetores e das doenças transmitidas.

Os métodos de controlo físicos ou ecológicos incluem a gestão estratégica de sistemas aquáticos que possam servir de criadouros naturais de mosquitos, recorrendo, por exemplo, a medidas de saneamento básico, obras de drenagem de pântanos ou terrenos alagados, cultivo de solos abandonados e o controlo de descargas de águas residuais. De menor dimensão incluem-se atividades de remoção de criadouros artificiais peri-domésticos, como por exemplo vasos de plantas, pneus e recipientes abandonados, coberturas e piscinas não vigiadas, bem como de atividades que garantam saneamento básico doméstico e peri-doméstico.

Os métodos químicos levantam geralmente problemas ambientais, por não serem seletivos e em muitos casos eliminarem outros organismos para além dos mosquitos. No controlo das larvas são utilizados inibidores de crescimento de insetos (*Insect growth inhibitor*, ex. piriproxifeno, fenoxicarbo e metopreno) e inibidores de desenvolvimento (*Insect development inhibitor*, ex. diflubenzuron, fluazuron). Para os adultos são utilizados inseticidas, quer de uso doméstico quer de aplicação a larga escala com máquinas de aerossóis.

Os principais métodos biológicos no controlo dos estádios imaturos consistem na utilização de predadores naturais de larvas dos mosquitos, como o peixe larvícola *Gambusia* spp. e a utilização de bactérias letais, como *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) e *B. sphaericus*, que são recorrentemente utilizadas a escala mundial.

Para o controlo biológico de mosquitos adultos, técnicas inovadoras de manipulação genética (ex: *sterile insect technique*) estão a ser alvo de investigação e expectativa, estando a ser os resultados utilizados na validação do sucesso desta abordagem.

## Bibliografia

1. Bates, M. The Natural History of Mosquitoes. New York : Macmillan, 1954.
2. World Health Organization (WHO). World malaria report 2013. Switzerland : WHO Library Cataloguing-Publication Data, 2013. ISBN 978-92-4-156469-4.
3. World Health Organization (WHO). Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. France : WHO Library Cataloguing-Publication Data, 2009. ISBN 978-92-4-154787-1.
4. World Health Organization (WHO). Fact sheet. [Online] [Cited: Fevereiro 26, 2014.] (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en>)
5. Go, YY, Balasuriya, UB, Lee, CK. Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. Clinical and experimental vaccine research. 2014, Vols. 3 (1): 58-77.
6. Komar, N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. 2003, Advances in Virus Research, pp. 61: 185-234.
7. Danis, K, et al. Ongoing outbreak of West Nile virus infection in humans, Greece, July to August 2011. 2011, Eurosurveillance, p. 16 (34) pii: 19951.
8. Edwards, FW. Diptera, Family Culicidae. [book auth.] P. Wytzman. Genera Insectorum. Brussels : Desmet Verteneuil, 1932, pp. 1-258.
9. A Synoptic Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera, Culicidae). Stone, Alan, Knight, Kenneth L. and Starcke, Helle. s.l.: The Thomas Say Foundation, Entomological Society of America, 1959, Entomological Society of America, p. 358.
10. Harbach, RE, Howard, TM. Mosquito Classification. The Walter Reed Biosystematics Unit. [Online] 2010. [Cited: Fevereiro 26, 2014.] <http://wrbu.si.edu/index.html>.
11. Snodgrass, RE. The Anatomical life of the Mosquito. Washington, DC : Smithsonian Institution, 1959.
12. Silver, JB. Mosquito Ecology. Field Sampling Methods 3rd ed. New York : Springer, 2008.
13. Clements, AN. The Biology of Mosquitoes Volume I - Development, nutrition and reproduction. London, United Kingdom : CABI Publishing, 2000.
14. World Health Organization (WHO). Integrated Vector Management. WHO. [Online] [Cited: Fevereiro 28, 2014.] [http://www.who.int/neglected\\_diseases/vector\\_ecology/ivm\\_concept/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/ivm_concept/en/)

---

# FLEBÓTOMOS

Fátima Amaro

## Introdução

Os flebótomos, do grego *phlebos* (veia) + *tomos* (cortar), são insetos hematófagos muitas vezes confundidos com os mosquitos. Apesar de estas duas famílias de insetos serem responsáveis pela transmissão de diversos agentes através da sua picada, elas são, no entanto, muito distintas, não só no que diz respeito aos níveis taxonómico, morfológico e biológico, mas também no que diz respeito aos microrganismos transmitidos.

A distribuição dos flebótomos poderá vir a alargar-se com as alterações climáticas, o que significa que a distribuição dos agentes etiológicos a eles associados poderá vir também a expandir-se num futuro próximo.

## Taxonomia e distribuição

Os flebótomos pertencem à ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae.

Actualmente estima-se que existam cerca de 800 espécies de flebótomos em diferentes regiões do mundo mas a sua classificação taxonómica não é universal e está longe de ser definitiva. No entanto, de um modo geral, são aceites três géneros no Velho Mundo - *Phlebotomus*, *Sergentomyia* e *Chinius* e três géneros no Novo Mundo - *Lutzomyia*, *Brumptomyia* e *Warileya*. Existem outras espécies em classificação mas até ao momento sem importância médica reconhecida [1].

Os flebótomos ocorrem numa grande variedade de habitats, contudo, a sua distribuição pode ser limitada por temperaturas extremas ou humidade relativa baixa. Deste modo, a sua ocorrência está restringida a áreas com temperaturas médias acima dos 15,6 °C durante pelo menos três meses por ano. Em muitos habitats áridos e semi-áridos, as populações de flebótomos são maiores no fim da estação das chuvas e menores no fim da estação seca. Nos desertos quentes e secos ou em climas secos temperados com Verões quentes e Invernos frios (e.g. sul da Europa), os adultos de

---

algumas espécies podem desaparecer inteiramente durante as estações mais secas ou mais frias do ano [2]. As regiões onde podem ser encontradas mais espécies são as Américas Central e do Sul e a região que compreende a Europa, Ásia e Norte de África.

Todas as espécies com importância médica no Velho Mundo (Regiões Paleártica, Afrotropical, Oriental e Australiana) pertencem ao género *Phlebotomus* e as do Novo Mundo (Regiões Neártica e Neotropical) ao género *Lutzomyia* [2, 3].

Em Portugal estão descritas, actualmente, cinco espécies de flebotomos, pretendentes a dois géneros nomeadamente, *Phlebotomus ariasi*, *P. papatasi*, *P. perniciosus*, *P. sergenti* e *Sergentomyia minuta*. Esta última espécie ainda não foi associada à transmissão de agentes patogénicos ao Homem uma vez que este género pica maioritariamente répteis.

## Morfologia e Biologia

Os flebotomos adultos são pequenos, têm cerca de dois a três milímetros de comprimento e a sua cor pode ir do cinzento prateado ou amarelo pálido até a quase preto. Todo o corpo está coberto por sedas e a sua característica mais distintiva são as asas eretas, para cima e para trás, formando um “V” quando os insetos se encontram em repouso. A cabeça forma um ângulo quase recto com o tórax.

Uma vez que as horas de atividade diária dos flebotomos são condicionadas pela temperatura e humidade relativa do ambiente, a sua atividade restringe-se ao período nocturno, quando a temperatura diminui e a humidade aumenta.

Muitos aspectos da biologia dos flebotomos ainda são desconhecidos. O facto de os seus estádios imaturos serem raramente colhidos na natureza faz com que não existam, por exemplo, estimativas das densidades ou longevidade de larvas em condições naturais [4, 5]. No entanto, com informações recolhidas em colónias estabelecidas em laboratório, já é possível esclarecer alguns aspectos do seu ciclo de vida. Pode dizer-se assim que os flebotomos são insectos com metamorfose completa (holometábolos).

Os adultos, de ambos os sexos, consomem açúcares das plantas ou produzidos por afídeos ou coccídeos [6]. As fêmeas, no entanto, efetuam refeições de sangue. Os flebotomos são telmófagos, ou *pool feeders*, o que significa que as fêmeas possuem uma armadura bucal cuja função é cortar a pele e seccionar os vasos sanguíneos, alimentando-se depois da gota de sangue que se forma à superfície, o que torna a picada dolorosa [4, 5, 6]. Os hospedeiros incluem não só vertebrados

endotérmicos, como gado, cães e roedores, ou o Homem mas também vertebrados exotérmicos como répteis e anfíbios.

Salvo algumas exceções, correspondendo a uma minoria de espécies de flebótomos, a libertação dos espermatozóides a partir dos espermatóforos e o movimento em direcção à espermateca ocorre, normalmente, apenas nas fêmeas que realizam uma refeição sanguínea [7]. É esta necessidade alimentar que as leva a desempenhar um papel vetorial tão importante na transmissão de vários agentes patogénicos ao homem.

Após a refeição sanguínea, as fêmeas recolhem-se em locais de repouso, escuros e abrigados, cerca de seis a nove dias, para digerirem o sangue e para que os ovos se desenvolvam. Ao fim desse tempo, são depositados, cerca de 30 a 70 ovos por postura, em locais ricos em matéria orgânica e os estádios larvares desenvolvem-se e alimentam-se nela. O período médio até à eclosão dos ovos é de uma a duas semanas.

As larvas passam por quatro estádios sucessivos, durante cerca de quatro a oito semanas. Quando na fase de pupa, os insetos não se alimentam e sofrem uma reorganização extrema para se transformarem em imagos, o que decorre em quatro a seis dias (Figura 2). A duração deste ciclo é muito variável e depende de fatores bióticos e abióticos. Em condições ótimas, o ciclo de vida pode durar entre 40 a 45 dias [2, 6].

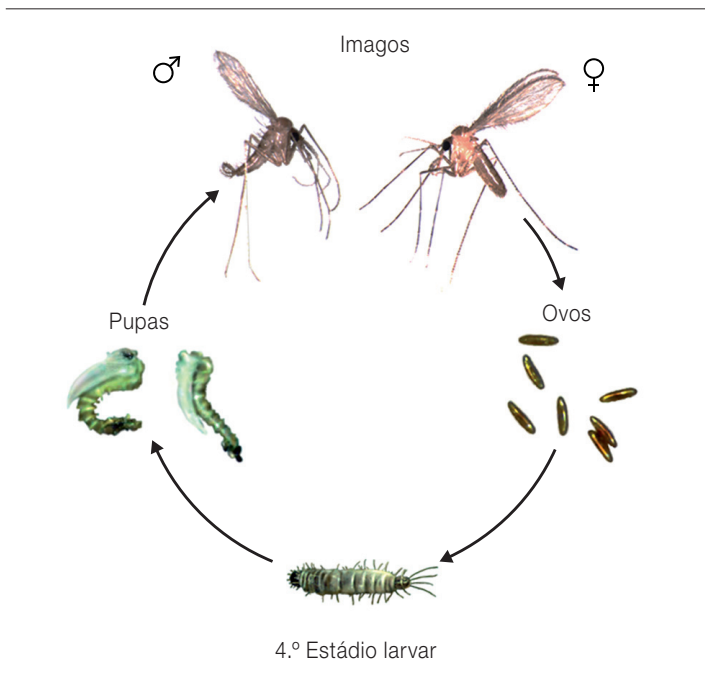


Figura 2: Ciclo de vida dos flebótomos.

---

## Microrganismos transmitidos por flebótomos

A picada dos flebótomos pode causar reações cutâneas provocadas pela injúria do corte ou pela saliva do inseto. A intensidade das reações observadas (dor ou aparição de uma pápula ou escara hemorrágica) varia em função da sensibilidade individual da pessoa picada. Alguns indivíduos podem sensibilizar-se progressivamente ou apresentar reações anafiláticas, mais ou menos violentas, com prurido, edemas ou exantemas (na face, em particular), ou afeções gerais (febre, náuseas, problemas no ritmo cardíaco). Na manipulação dos flebótomos, os indivíduos que fazem capturas com aspiradores de boca, podem ter reações alérgicas ao pó que cobre o corpo dos insectos e desenvolver alergias respiratórias [4]. Contudo, a importância médica dos flebótomos deve-se essencialmente aos agentes etiológicos por eles transmitidos.

Os flebótomos dos géneros *Lutzomyia* e *Phlebotomus* são vetores de protozoários, bactérias e vírus. As patologias mais importantes transmitidas por estes flebótomos são a leishmaníase que existe em todo o mundo e a febre transmitida por flebótomos também conhecida por febre dos três dias ou febre de *papataci* que é mais frequente no Velho Mundo. No nosso País *P. ariasi* e *P. perniciosus* são vetores de *Leishmania infantum*, agente responsável pela leishmaníase visceral e, mais raramente, pela leishmaníase cutânea localizada ou pela leishmaníase cutânea difusa. *Phlebotomus perniciosus* transmite ainda o flebovírus Toscana, pertencente ao grupo da febre por flebótomos e que pode causar doença no sistema nervoso central [1].

## Prevenção e controlo de picadas de flebótomos

As medidas de controlo direccionadas para os estádios imaturos não são muito utilizadas uma vez que os locais de reprodução de flebótomos são muito difíceis de encontrar na natureza. No entanto, embora a aplicação prática de biolarvicidas seja limitada, existem alguns estudos realizados em colónias de laboratório que demonstram a eficácia de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ou *Bacillus sphaericus* no controlo de determinadas espécies de flebótomos [8].

Devido às limitações para a eliminação de estádios imaturos de flebótomos na natureza, o combate a estes vetores é focado nos imagos e em medidas de protecção pessoal.

Em locais onde decorreram campanhas contra o vetor da malária, com utilização de DDT, verificou-se uma diminuição do número de casos de febre por flebótomos, no entanto, pelo seu impacto ambiental, atualmente este inseticida não é autorizado

em muitos países. Além disso, algumas espécies de flebotomos desenvolveram resistência a este composto [9].

Em habitações humanas o uso de redes de malha fina impregnadas com inseticidas/repelentes aparenta ser a melhor solução. A aplicação tópica de compostos sintéticos do grupo dos piretróides, tais como a deltametrina ou a permetrina em pessoas ou a colocação de coleiras impregnadas com os mesmos em animais domésticos também se revela eficaz.

No que diz respeito a repelentes naturais, podem encontrar-se várias referências ao óleo da árvore *Azadirachta indica*, da família dos cedros, presente no subcontinente indiano, e também ao óleo de alho, que indicam que estes são bastante eficientes na prevenção da picada por flebotomos [10]. A título de curiosidade, plantas ornamentais, como a buganvília ou o jasmim são tóxicas para os flebotomos que morrem após se alimentarem nas suas flores [11].

## Bibliografia

1. Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol* 2013; 27 (2): 123-147.
2. Armed Forces Pest Management Board. Regional disease vector ecology profile. Defense pest management information analysis center. Forest Glen section. Washington DC: Walter Reed Army Medical Center; 2001: 231pp. ([http://books.google.pt/books?id=Hpr10wAwoE0C&printsec=frontcover&dq=regional+disease+vetor+ecology+profile+Central+Europe&ei=VOyOSa3UG4iUzATy\\_PysB](http://books.google.pt/books?id=Hpr10wAwoE0C&printsec=frontcover&dq=regional+disease+vetor+ecology+profile+Central+Europe&ei=VOyOSa3UG4iUzATy_PysB))
3. Young DG & Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (*Diptera: Psychodidae*). *Mem Am Entomol* 1994; 54: 1-881.
4. Léger N, Depaquit J. Phlebotominae. In *Épidémiologie des maladies parasitaires. Arthropodes et affections qu'ils provoquent ou qu'ils transmettent*. Tome 4. Ripert (C), coordonnateur. *Editi Méd Internat* 2007; 159-175.
5. Munstermann LE. Phlebotomine sand flies, the *Psychodidae*. In *Biology of disease vectors* (2nd edn). *Munstermann WC* (Ed). Elsevier Academic Press 2005; 141-151.
6. Lucientes J, Antonio J, Gracia MJ, Peribañez MA. Flebotomos, de la biología al control. *Revista electrónica de veterinaria REDVET* 2005. 6 (8). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080805/080502B.pdf>
7. Chelbi I, Zhioua E. Biology of *Phlebotomus papatasi* (*Diptera: Psychodidae*) under laboratory conditions. *Proceedings of the Fifth International Symposium on phlebotomine sandflies*. *Arch Inst Pasteur Tunis* 2005; 82 (1) ISOPS V:33.
8. Robert LL, Perich MJ, Schlein Y, Jacobson RL, Wirtz RA, Lawyer PG, Githure JI. Phlebotomine sand fly control using bait-fed adults to carry the larvicide *Bacillus sphaericus* to the larval habitat. *J Am Mosq Control Assoc* 1997; 13(2): 140-144.
9. Alexander B, Maroli M. Control of phlebotomine sandflies. *Medic Vet Entomol* 2003; 17: 1-18.

- 
10. Maroli M. Use of insect repellents as preventative measures against the sandfly bites (Diptera: Psychodidae) Arch Inst Pasteur Tunis 2005; 82: 68 ISOPS.
  11. Shlein Y, Raymond L, Jacobson RL, Müller G. Sandfly feeding on noxious plants: A potential method for the control of leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 2001; 65 (4): 300-303.

# CARRAÇAS

Maria Margarida Santos Silva

## Introdução

**A**s carraças são artrópodes hematófagos estritos, ectoparasitas não permanentes de vertebrados terrestres. Estes artrópodes existem em quase todas as regiões zoogeográficas, parasitando uma ampla gama de hospedeiros como mamíferos, aves, répteis, anfíbios e ocasionalmente podem parasitar o Homem. A crescente importância médica atribuída às carraças advém da aptidão que têm para se fixarem ao Homem e serem vetores de agentes de doença com importância em saúde pública [1].

## Taxonomia e ciclo de vida

Entre os diversos artrópodes da sub-classe Acari, ordem Parasitiformes, as carraças constituem a sub-ordem Ixodida. Actualmente são reconhecidas mais de 800 espécies distribuídas essencialmente por duas principais famílias, Argasidae e Ixodidae sendo a família Ixodidae a que se reveste de maior importância médica e veterinária [2,3]. As carraças são também consideradas, ácaros de grandes dimensões (2-30 mm). O ciclo de vida compreende quatro fases evolutivas, uma inactiva – ovo e três activas- larva, ninfa e adulto, requerendo pelo menos uma refeição sanguínea entre cada uma das fases activas para poderem realizar uma muda e passar à fase evolutiva seguinte (Figura 3).

A maior parte das espécies demoram vários dias a completar a refeição sanguínea, em média 2-5 dias nas larvas, 3-5 dias nas ninfas e 7-14 dias no caso dos adultos. Os machos podem realizar uma pequena ingestão de sangue para terminar a espermatogénese, mas frequentemente não necessitam de efectuar refeição de sangue, pois completam a espermatogénese com a alimentação da fase ninfal. As fêmeas necessitam de ingerir grandes quantidades de sangue para garantir a postura, que pode oscilar entre algumas centenas a milhares de ovos, consoante a espécie. O número de ovos pode atingir os 20 000 no caso do género *Amblyomma*, se bem que normalmente a maioria das espécies presentes em Portugal apresentam posturas

na ordem dos 3000 e 5000 ovos como é o caso de *Ixodes ricinus* e *Rhipicephalus sanguineus* respectivamente (Figura 4).

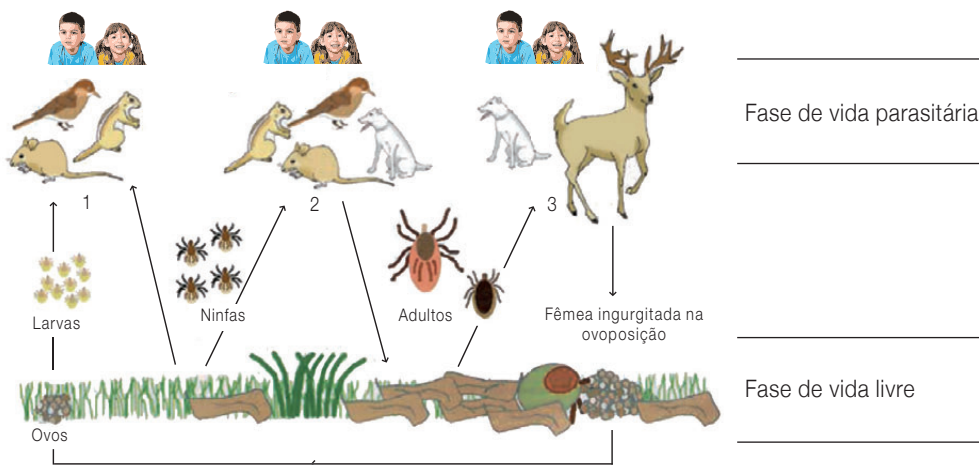


Figura 3: Ciclo de vida dos ixodídeos

Adaptado de <http://www.hvceo.org/images/lymethreehostlifecycle.jpg>



Figura 4: Fêmea de ixodídeo na fase final da postura

<http://animals.howstuffworks.com/arachnids/tick2.htm>

A postura pode ser efectuada directamente no solo ou em fendas e no interior das tocas ou dos ninhos dos animais que parasitam. Quando a postura termina a fêmea morre. De cada ovo eclode uma larva hexápoda que após efectuar uma refeição de

sangue passará à fase evolutiva seguinte, até completar o seu ciclo de vida. O ciclo de vida dos ixodídeos é muito semelhante para todas as espécies. Todos apresentam um único estado ninfal. Após a cópula que, com excepção de quase todas as espécies do género *Ixodes* ocorre sobre o hospedeiro, as fêmeas alimentam-se até à total repleção (aumentando o seu volume até 100 vezes) soltam-se do hospedeiro e iniciam a postura, no solo ou sob pedras normalmente em locais recônditos e sombrios.

## Importância em Saúde Pública e Controlo

Mais de 10% das espécies de carraças são vetores de agentes patogénicos que afectam quer o Homem quer outros animais, causando variadas doenças cujos agentes etiológicos podem ser bactérias, vírus e protozoários [1]. Entre as características que tornam as carraças bons vetores de agentes patogénicos destacam-se:

- Todas as fases evolutivas (larva, ninfa e adulto) necessitam de efectuar uma refeição de sangue, ingerindo sempre uma quantidade considerável (comparativamente com as suas dimensões) de cada hospedeiro;
- A ingurgitação demora vários dias a completar-se, permitindo um contacto prolongado com o hospedeiro;
- Em algumas associações ixodídeo/agente infeccioso é possível que ocorra a invasão do sistema reprodutor, permitindo assim a transmissão da infeção à progenitura (transmissão transovarial). A percentagem de fêmeas transmitindo um agente transovaricamente e a percentagem da geração seguinte que eclode já infectada depende do grau de infeção dos tecidos do ovário e das células germinativas e pode ser muito importante para a manutenção de microrganismos na natureza;
- A metamorfose não envolve a degeneração e regeneração total de cada órgão, pelo que os microrganismos podem sobreviver em alguns órgãos após a muda (transmissão transestadial);
- Pelo menos um dos estádios dos ixodídeos possui um tempo de vida longo, pelo que os microrganismos podem sobreviver durante largos períodos, mesmo em condições climáticas adversas;
- O sistema sensorial é extremamente bem desenvolvido, o que permite aos ixodídeos detectar o gás carbónico, emitido pelos animais, no ambiente. Assim, eles concentram-se perto dos locais habituais de passagem, aumentando as suas hipóteses de encontrar um hospedeiro adequado.

---

Embora sejam considerados zoofílicos, são várias as espécies associadas à transmissão ao Homem de importantes agentes infecciosos responsáveis pelo aparecimento de diversas doenças, como por exemplo, *Rhipicephalus sanguineus* vetor da febre escaro-nodular vulgar febre da carraça. Esta situação não é atribuída a uma tendência antropofílica, mas sim à oportunidade de contacto com o Homem, o qual se torna um hospedeiro accidental. No entanto, pelo facto de se fixarem a um hospedeiro e apenas como consequência específica da acção tóxica da sua saliva, podem causar quer no Homem quer em outros mamíferos, sintomatologia diversa, sem que para isso intervenham agentes patogénicos conhecidos, como é o caso de paralisia e toxicose por carraça.

O controlo das carraças deve ser feito de forma integrada, com a utilização de medidas de físicas, químicas e biológicas.

### Situação em Portugal

No INSA a investigação em carraças têm sido muito desenvolvida nos últimos 20 anos [4], sob a forma projectos ou estudos com financiamento externo ou interno. O conhecimento sistemático, biológico e ecológico das espécies de carraças [4,5] ajudam a completar mapas de ocorrência, à semelhança do está a ser feito na Europa [6]. Também, a aplicação de técnicas moleculares e o desenvolvimento experimental aplicado aos vetores têm permitido o avanço desta área.

A lista actualizada de espécies de carraças presentes em Portugal engloba 21 espécies: *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776), *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794), *Haemaphysalis hispanica* Gil Collado, 1938, *Haemaphysalis inermis* Birula, 1895, *Haemaphysalis punctata* Canestrini & Fanzago, 1878, *Hyalomma lusitanicum* Koch, 1844, *Hyalomma marginatum* Koch, 1844, *Ixodes acuminatus* Neumann, 1901, *I. arboricola* Schulze & Schlottke, 1930, *Ixodes bivari* Dias, 1990, *Ixodes canisuga* Johnston, 1849, *Ixodes frontalis* (Panzer, 1798), *Ixodes hexagonus* Leach, 1815, *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758), *Ixodes simplex* Neumann, 1906, *Ixodes ventalloi* Gil Collado, 1936, *Ixodes vespertilionis* Koch, 1844, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (Say, 1821), *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, *Rhipicephalus pusillus* Gil Collado, 1938 e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806).

Em Portugal as doenças com maior impacto em saúde pública são a febre escaro nodular e a borreliose de Lyme.

No Quadro 2 apresentam-se vários agentes patogénicos transmitidos por carrças, presentes ou em risco de emergir em Portugal e capazes de causar doença no Homem, assim como as espécies de carrças que lhes estão associadas.

Quadro 2: Agentes etiológicos transmitidos por ixodídeos presentes ou em risco de emergir em Portugal

Agente patogénico	Doença	Espécie de ixodídeo
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Anaplasmose humana	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>I. ventralloii</i>
<i>Babesia divergens</i>	Babesiose	<i>Ixodes spp.</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i> s.s.	Borreliose de Lyme	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>B. garinii</i>		
<i>B. afzelii</i>		
<i>B. valaisiana</i>		
<i>B. lusitaniae</i>		
<i>B. turdi</i>	-	
<i>Coxiella burnetii</i>	Febre Q	Várias espécies
<i>Francisella tularensis</i>	Tularemia	Várias entre as quais <i>Ixodes ricinus</i> , <i>Dermacentor reticulatus</i>
<i>R. aeschlimannii</i>	Sem denominação	<i>Hyalomma marginatum</i>
<i>Rickettsia conorii</i>	Febre escaro nodular	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>R. helvetica</i>	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>R. massiliae</i>	Sem denominação	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>R. monacensis</i>	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>R. sibirica mongolotimonae</i>	LAR*	<i>Hyalomma sp.</i> , <i>Rhipicephalus pusillus</i>
<i>R. slovaca</i>	TIBOLA <sup>†</sup>	<i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i>
Vírus da Febre Hemorrágica Crimeia-Congo	Febre hemorrágica	<i>Hyalomma marginatum</i> , <i>Haemaphysalis punctata</i> , <i>Ixodes ricinus</i> , <i>Dermacentor spp.</i> , <i>Rhipicephalus spp.</i>
Vírus Eyach	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes ventralloii</i>
Vírus TBE	Encefalite	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Haemaphysalis punctata</i>

\* LAR - *Lymphangitis-associated rickettsiosis*; <sup>†</sup>TIBOLA - *Tick-borne lymphadenopathy*

Nos últimos três anos, com a implementação da Rede de Vigilância de Vetores REVIVE – Carrças, articulada entre o INSA, as Administrações Regionais de Saúde (ARS) e a Direção Geral de Saúde (DGS), foram identificadas no CEVDI mais de 24000 carrças [7,8,9], pertencentes aos géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes* e *Rhipicephalus*. Estas informações estão a permitir actualizar a distribuição geográfica, a determinar a abundância relativa e períodos de actividade das carrças em Portugal Continental, para que se possam definir possíveis áreas de risco de ocorrência de vetores, e de agentes infecciosos que nestes existam.

---

## Bibliografia

1. Santos-Silva MM, Santos AS, Formosinho P, Bacellar F. 2006. Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. *Acta Méd Port*, 19, 39-48.
2. Guglielmone A, Robbins R, Apanaskevich D, Petney T, Estrada-Peña A, Horak I, Shao R, Barker S. 2010. The *Argasidae*, *Ixodidae* and *Nuttalliellidae* (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. Magnolia Press.
3. Guglielmone A, Robbins R, Apanaskevich D, Petney T, Estrada-Peña A, Horak I. 2014. The Hard Ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae). Springer Netherlands.
4. Santos-Silva MM, Beati L, Santos AS, De Sousa R, Nuncio MS, Melo P, Santos-Reis M, Fonseca C, Formosinho P, Vilela C, Bacellar F. 2011. The hard-tick fauna of mainland Portugal (Acari: Ixodidae): an update on geographical distribution and known associations with hosts and pathogens. *Exp Appl Acarol*. 2011 Sep;55(1):85-121. doi: 10.1007/s10493-011-9440-x. Epub 2011 Mar 31.
5. Norte AC, Lobato D, Braga E, Antonini Y, Lacorte G, Gonçalves M, Lopes de Carvalho I, Gern L, Nuncio MS, Ramos JÁ. 2013. Do ticks and *Borrelia burgdorferi* s.l. constitute a burden to birds? *Parasitol Res*. 2013 May;112(5):1903-12. doi: 10.1007/s00436-013-3343-1. Epub 2013 Feb 22
6. Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Peña A, George JC, Golovljova I, Jaenson TG, Jensen JK, Jensen PM, Kazimirova M, Oteo JA, Papa A, Pfister K, Plantard O, Randolph SE, Rizzoli A, Santos-Silva MM, Sprong H, Vial L, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit Vectors*. 2013 Jan 2;6:1. doi: 10.1186/1756-3305-6-1.
7. De Sousa R, Lopes de Carvalho I, Santos AS, Santos-Silva MM, Alves MJ, Nuncio MS. Relatório do REVIVE 2011-Ixodídeos, CEVDI/INSA (ed), Janeiro 2012.
8. Santos-Silva MM, Santos AS, Lopes de Carvalho I, De Sousa R, Alves MJ, Nuncio MS. Relatório do REVIVE 2012-Ixodídeos, CEVDI/INSA (ed), Janeiro 2013.
9. Santos-Silva MM, Santos AS, Lopes de Carvalho I, De Sousa R, Alves MJ, Nuncio MS. Relatório do REVIVE 2013-Ixodídeos, CEVDI/INSA (ed), Janeiro 2014.

# PIOLHOS

Maria Margarida Santos Silva

## Introdução

Os piolhos são muito específicos quanto ao seu hospedeiro. As espécies que afetam o Homem, afetam-no apenas a ele e são considerados ectoparasitas de dispersão mundial. Apesar de actualmente apresentarem um baixo nível de morbilidade, em tempos remotos foram considerados vetores de devastadores surtos de doença, destacando-se o período da Primeira Grande Guerra Mundial e durante os anos 30 e 40 do século passado [1]. Todavia, mantêm ainda a capacidade de transmitir agentes infecciosos ao Homem e causar nestas doenças como o tifo epidémico, febre recorrente e febre das trincheiras [2].

## Taxonomia e ciclo de vida

Estes artrópodes, taxonomicamente incluídos na Classe Insecta, Sub-Ordem Anoplura, são hematófagos estritos e fazem o ciclo de vida completo no Homem.

O ciclo de vida inicia-se com a postura de ovos pela fêmea em cabelos ou vestuário. Após a eclosão destes, que pode variar entre os quatro e os 14 dias em média, os imaturos passam por três estados ninfais, cada um com a duração aproximada de três dias até completarem o desenvolvimento e surgirem os adultos. Em todas as fases ninfais e de adulto, os piolhos necessitam de ingerir sangue, quer para passarem à fase seguinte, quer para que o ciclo se complete com uma nova postura. Após os adultos atingirem a maturidade sexual, em menos de um dia depois da eclosão, o acasalamento ocorre imediatamente sendo as posturas na ordem dos 300 ovos.

Consideram-se três, as espécies de piolho que afetam o Homem, *Pediculus humanus humanus*, denominado por piolho do corpo; *Pediculus humanus capitis*, designado por piolho da cabeça por se encontrar no couro cabeludo e, por fim, *Phthirus pubis* que por se alojar na zona púbica causa a pediculose pubiana [3].

---

## Propagação e Controlo

A propagação dos piolhos ocorre maioritariamente por contacto físico em ambientes urbanos. No entanto, o material orgânico fecal produzido pelo piolho é acumulado e seco nas roupas ou cabelos dos indivíduos, sendo considerado também um modo de transmissão, para além da hematofagia, de agentes etiológicos cujos vetores são estes artrópodes [1].

Uma das formas eficazes de controlar uma infestação por piolhos, para além da aplicação de químicos próprios, é o congelamento de todo o vestuário e/ou outras peças de roupa e utensílios que possam ter sido usados pelo indivíduo infestado, durante 48 horas, após a qual se segue uma lavagem a temperaturas normais.

## Situação em Portugal

Os piolhos são parasitas vetores de agentes etiológicos que afetam o Homem. A investigação em termos de conhecimento actual dos artrópodes da Ordem Anoplura, está em fase de desenvolvimento, apoiando-se acções de divulgação científica e sensibilização da comunidade, contudo o CEVDI dispõe de diagnóstico laboratorial de agentes infecciosos transmitidos por estes vetores.

## Bibliografia

1. Burgess I. 2008. Human body lice, chapter 9, pages 289-301, in *Public health significance of urban pests*, eds, Xavier Bonnefoy, Helge Kampen, Kevin Sweeney, WHO.
2. Raoult D, Roux V. 1999. The body louse as a vector of reemerging human diseases. *Clinical Inf Dis*, 29:888-911.
3. Comer J, Paddock C, Childs J. 2001. Urban zoonoses caused by Bartonella, Coxiella, Ehrlichia, and Rickettsia species. *Vector Born Zoon Dis*, 2, 91-118.

# PULGAS

Maria Margarida Santos Silva

## Introdução

**A**s pulgas são artrópodes, parasitas externos de mamíferos e aves, que ocasionalmente parasitam o Homem. Dependem dos hospedeiros para se protegerem e alimentarem permanecendo nestes toda a vida ou em locais que lhes estejam próximos.

As pulgas apresentam uma dispersão mundial, com mais de 2 200 espécies conhecidas, no entanto a maioria das espécies não constitui perigo para a saúde pública [1].

No passado, as pulgas estiveram associadas a várias pandemias das quais destaco a ocorrida no final da Idade Média entre 1347-1351, conhecida como Peste Negra, que dizimou aproximadamente 1/3 da população europeia da época.

## Taxonomia e ciclo de vida

Estes artrópodes estão incluídos na Classe Insecta, Ordem Siphonaptera. Na fase de adulto são hematófagos estritos e completam o ciclo biológico normalmente no hospedeiro que parasitam, ou na proximidade deste.

O ciclo de vida inicia-se com a postura dos ovos pela fêmea. As larvas eclodidas podem viver fora do hospedeiro, contudo, por se alimentarem dos resíduos fecais sanguíneos, eliminados pelas pulgas adultas, dependem nutricionalmente do hospedeiro que as suporta. Também, o desenvolvimento das larvas requer humidade relativa acima dos 50%, e passa por uma evolução trifásica até chegar à fase de pupa, que após metamorfose, dá origem aos adultos, os quais com o acasalamento recomeçam a nova geração. A duração total do ciclo em condições ambientais favoráveis temperatura acima de 27 graus e humidade relativa de 80% e hospedeiro disponível, será de aproximadamente três semanas [2].

---

## Importância em saúde pública e controlo

Na fase de adulto, as pulgas, por requerem frequentes ingestões de sangue, tornam-se, excelentes vetores de agentes etiológicos com importância em saúde pública.

Estes insectos extremamente específicos do hospedeiro que parasitam, estão divididos em dois grandes grupos. O primeiro, constituído por pulgas de roedores, é o grupo mais importante, em termos de saúde pública, uma vez que engloba espécies como *Xenopsylla spp.* consideradas eficazes vetores de agentes de doença como *Yersinia pestis* e *Rickettsia typhi*, responsáveis pela peste bubónica e tifo murino, respectivamente. Porém, o segundo grupo, constituído por pulgas encontradas em animais domésticos e silváticos engloba outras espécies como *Ctenocephalides spp.* e *Pulex irritans*. Estas espécies de pulgas têm impacto na saúde quer do Homem quer dos animais de companhia, não só por serem igualmente vetores de agentes de doença como *Rickettsia typhi* e *R. felis* mas também por estarem associadas ao aparecimento de processos alérgicos com forte irritação na pele e prurido [3].

O controlo de populações de pulgas deve ser feito de forma integrada com a utilização de medidas físicas, químicas e biológicas.

## Situação em Portugal

As pulgas são parasitas vetores de agentes etiológicos que afectam o Homem e animais.

A investigação, em termos de conhecimento actual dos artrópodes da Ordem Siphonaptera, têm sido desenvolvidos na última década, no INSA, quer sob a forma de estudos pontuais de sistemática, quer com estudos moleculares de agentes infecciosos transmitidos por estes vetores [4,5].

## Bibliografia

1. Hinkle N. 2008. Fleas, chapter 5, pages 155-173, in *Public health significance of urban pests*, eds, Xavier Bonnefoy, Helge Kampen, Kevin Sweeney, WHO.
2. Beaucournu J-C, Launay H. 1990. Les Puces (Siphonaptera) de France et du Bassin méditerranée occidentale. Ed. Fédération Française des Sociétés de Sciences Naturelles, France, pp. 550.
3. Comer J, Paddock C, Childs J. 2001. Urban zoonoses caused by Bartonella, Coxiella, Ehrlichia, and Rickettsia species. *Vector Born Zoon Dis*, 2, 91-118.
4. Alves AS, Milhano N, Santos-Silva MM, Santos AS, Vilhena M, de Sousa R. 2009. Evidence of *Bartonella spp.*, *Rickettsia spp.* and *Anaplasma phagocytophilum* in domestic, shelter and stray cat blood and fleas, Portugal. *Clin Microbiol Inf*, 15: 1-3.
5. Sousa R, Fournier-Edouard P, Santos-Silva MM, et al. 2006. Molecular detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi* and two genotypes closely related to *Bartonella elizabethae*. *Am J Trop Med Hyg* 75(4): 727-731.

# ROEDORES

Fátima Amaro

## Introdução

Os roedores surgiram há cerca de 60 milhões de anos e representam um grupo com grande sucesso evolutivo, para o que terão contribuído as suas pequenas dimensões, a elevada fecundidade e versatilidade da dieta [1].

Os roedores desempenham um papel importante nos ecossistemas onde estão inseridos e podem beneficiar a população humana ao contribuírem para a dispersão de sementes ou o arejamento dos solos que favorecem a agricultura. No entanto, a relevância dos roedores em termos de saúde pública prende-se essencialmente com o facto de constituírem reservatórios assintomáticos o que os torna vetores primordiais de doenças infecciosas podendo também servir como hospedeiros de artrópodes vetores como as pulgas e os ixodídeos. Com as alterações climáticas as populações de roedores poderão vir a aumentar em zonas de climas temperados o que resultará numa maior interação com os humanos e um maior risco para a transmissão de doenças, especialmente em zonas urbanas [2].

## Taxonomia e distribuição

A ordem dos roedores (Rodentia) é a ordem de mamíferos com maior número de espécies. Nesta ordem temos, entre outras, a família Muridae, composta por ratos e ratazanas, dominantes em todo o mundo, com algumas espécies comensais e antropofílicas.

Em Portugal Continental os murídeos estão representados por três espécies de ratinhos- *Apodemus sylvaticus*, *Mus musculus* e *M. spretus* e duas espécies de ratazanas- *Rattus rattus* e *R. norvegicus*.

No contexto da interação com os seres humanos e consequente capacidade de transmissão de agentes etiológicos o ratinho-caseiro (*M. musculus*) e as ratazanas preta e castanha (*R. rattus* e *R. norvegicus*, respectivamente) desempenham um papel mais importante.

---

O ratinho-caseiro pode ser encontrado numa grande variedade de habitats e possui a distribuição mundial mais ampla do que qualquer outro mamífero à exceção do Homem. A ratazana-preta pode ser encontrada em todo o mundo. Terá sido originária do Sudeste Asiático e China tendo-se expandido até ao Médio Oriente, através de rotas comerciais. A ratazana-castanha, por sua vez, é mais agressiva que a ratazana-preta e consegue expulsá-la, por competição, pelo que está gradualmente a substituí-la. Ao contrário do que o nome específico indica, esta espécie não é proveniente da Noruega mas sim da China e encontra-se disseminada por todo o mundo, próxima das populações humanas [2].

Estas três espécies encontram-se amplamente distribuídas de norte a sul de Portugal Continental e existem também nos Arquipélagos dos Açores e Madeira.

## Biologia e ecologia

*M. musculus*, *R. rattus* e *R. norvegicus* têm hábitos noturnos e são omnívoros. Desas três espécies, a ratazana-castanha é a que apresenta maior dependência da água por isso está presente em habitats costeiros com pântanos e geralmente associada a esgotos. O ratinho-caseiro é encontrado em todo o tipo de habitats urbanos incluindo casas, lojas, fábricas, armazéns e moinhos e a ratazana-preta é avistada próxima de edifícios, armazéns, supermercados, áreas agrícolas, etc. [1,3].

Estas três espécies têm grande capacidade de reprodução e podem fazê-lo durante todo o ano se houver disponibilidade alimentar. As fêmeas de ratinho caseiro atingem a maturidade sexual com cerca de seis semanas e podem ter cinco a dez ninhadas por ano, com quatro a oito crias. Os machos ficam sexualmente ativos com oito semanas de idade. Na natureza os ratinhos-caseiros raramente ultrapassam os dois invernos [1]. A ratazana-preta atinge a maturidade sexual com quatro meses e pode ter entre três a cinco gestações anuais com seis a sete crias cada. O tempo de vida destes animais na natureza não deve ultrapassar os 18 meses. A ratazana-castanha pode reproduzir-se às onze semanas de idade. As ninhadas, com o número médio de cinco por ano, são constituídas por sete a oito crias [1].

Devido à grande capacidade de proliferação as populações de roedores podem assumir facilmente o carácter de praga.

## Microrganismos transmitidos por Murídeos

Os murídeos podem transmitir agentes patogénicos diretamente, através de mordida, ou indiretamente quer através de vetores que ficam infetados após refeição de

sangue, quer por contaminação da água ou da comida com fezes e urina ou ainda por aerossóis.

Em Portugal, as viroses mais comuns transmitidas por roedores são as hantavírus e a coriomeningite linfocitária e, entre as doenças provocadas por bactérias, a febre por mordedura de rato, a salmonelose e a leptospirose.

## Prevenção e controlo

A prevenção das doenças transmitidas por roedores pode ser feita através de medidas básicas de saneamento para se evitar a disponibilidade de abrigo ou alimento para estes animais. Quando os roedores já estão instalados a situação deve ser analisada num contexto epidemiológico, económico, ecológico e de dinâmica de populações. Os passos para a sua eliminação não devem ser tomados impulsivamente nem com a utilização massiva de rodenticidas uma vez que podem afetar outros animais nas cadeias tróficas e contaminar o meio ambiente. Por isso devem ser acompanhados por mudanças que permitam uma melhoria no ambiente. Além disso, a eliminação dos roedores deve ser levada a cabo por pessoal especializado quando há o risco reconhecido de uma explosão demográfica ou o risco de transmissão de doenças para pessoas ou animais domésticos.

A prevenção a nível global passa por uma melhor educação e melhoramento nos comportamentos; melhores sistemas de vigilância e de notificação com partilha de informação, e a implementação de restrições de movimentações de pessoas e animais domésticos e de companhia.

O desenvolvimento de novos mecanismos de vigilância e de resposta utilizando novas ferramentas como os SIG, dados de deteção remota e de biologia molecular e a junção de vários sectores e disciplinas como a medicina, a veterinária, a biologia de populações, informação tecnológica, economia, ciências sociais e diagnóstico poderão ser as melhores armas no combate às doenças transmitidas por roedores.

## Bibliografia

1. Ramalhinho MG, Mathias ML, Palmeirim J, Rodrigues L, Rainho A, Ramos MJ *et al.* Guia dos mamíferos terrestres de Portugal Continental, Açores e Madeira. Instituto da Conservação da Natureza - Centro de Biologia Ambiental da Universidade de Lisboa 1995: 200pp.
2. Kovats S, Menne B, McMichael AJ, Bertollini R and Soskolne CL, eds. Climate change and stratospheric ozone depletion: Early effects on our health in Europe. World Health Organization (WHO) Regional Office for Europe, Copenhagen 2000: 116 pp.
3. MacDonald DW, Barrett P. Collins Field Guide: Mammals of Britain and Europe. London, Collins 1993: 312pp.



## **II. DOENÇAS ASSOCIADAS A MOSQUITOS**



# VIROSES TRANSMITIDAS POR MOSQUITOS

Líbia Zé-Zé

## Introdução

Os vírus transmitidos por mosquitos são vírus que podem provocar uma síndrome febril, sinais e sintomas neurológicos como encefalites e meningites, poliartalgias e, mais raramente, febres hemorrágicas.

Os vírus transmitidos por mosquitos, assim como por outros artrópodes, são denominados arbovírus (*Arthropod-borne viruses*). Na natureza são mantidos em ciclos contínuos entre um inseto vetor e um hospedeiro vertebrado. Usualmente, a replicação do vírus ocorre numa única espécie de mosquito ou em espécies próximas, que são os seus vetores principais, ou mesmo exclusivos. Uma vez que a maioria dos mosquitos possuem uma preferência alimentar específica por um grupo restrito de espécies de vertebrados, esta vai determinar e limitar as espécies envolvidas no ciclo de manutenção de cada arbovírus. Estes ciclos podem ser críticos para a perpetuação do vírus em condições adversas, nomeadamente a durante a diapausa dos mosquitos [1].

Para os vírus Chikungunya, Dengue e Febre Amarela, há inúmeros registos de epidemias com o Homem como hospedeiro principal [2], no entanto, para a grande maioria dos arbovírus, o homem é apenas infetado acidentalmente quando o vetor artrópode “o escolhe” como alternativa. Por este motivo, o Homem é usualmente designado como hospedeiro “*dead-end*” dado não produzir virémia significativa, não contribuindo assim para a transmissão [1].

Focando os arbovírus transmitidos por mosquitos, pela sua importância na Europa e como zoonoses emergentes, os vírus Chikungunya (CHIK), Dengue (DEN), ambos transmitidos por mosquitos do género *Aedes*, nomeadamente *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, e *West Nile* (WN), transmitido por mosquitos do género *Culex*, serão destacados neste capítulo.

---

## Taxonomia e Distribuição

Os arbovírus englobam um grupo taxonomicamente diverso de vírus, sendo os agentes patogénicos para o Homem transmitidos por mosquitos pertencentes a três famílias: *Togaviridae* (género *Alphavirus*), *Flaviviridae* (género *Flavivirus*) e *Bunyaviridae* (género *Bunyavirus*).

A distribuição dos arbovírus está relacionada com a distribuição geográfica das espécies vectoras e com as condições e alterações ambientais que vão influenciar essa distribuição. Os arbovírus transmitidos por mosquitos têm uma distribuição praticamente global, estando presentes em todos os continentes à exceção da Antártida. Os *Alphavirus* incluem um grupo diverso de 29 espécies e são divididos em três categorias principais: vírus aquáticos, vírus que causam artralgias e vírus que causam encefalites. A maioria dos vírus do Velho Mundo causam artralgias, destacando-se neste grupo como agente patogénico para o Homem o vírus CHIK. Os *Alphavirus* do Novo Mundo são maioritariamente agentes de encefalites, sendo os mais importantes os vírus da Encefalite Equina Oriental (EEE) e da Encefalite Equina Ocidental (WEE) e o vírus da Encefalite Equina Venezuelana (VEE) [3].

Os *Flavivirus* incluem um grupo diverso de vírus que parecem ter evoluído de forma concertada com os seus vetores, podendo ser divididos em quatro grupos: os transmitidos por carraças (*tick-borne*); transmitidos por mosquitos (*mosquito-borne*); que podem ainda ser subdivididos em transmitidos por mosquitos do género *Aedes* ou *Culex*; os sem vetor conhecido (*no known vector*) e os específicos de insetos (*Insect Specific Flavivirus*) que podem representar um grupo primordial de flavivírus, aparentemente incapazes de infectar vertebrados [4,5]. O Dengue é reconhecido como a doença tropical emergente mais importante, colocando em risco anualmente mais de 2,5 mil milhões de pessoas e infetando entre 50 a 100 milhões de pessoas com um mortalidade média de 22 mil pessoas/ano [6].

Na Europa o arbovírus agente de encefalites transmitidas por mosquitos mais importante é o vírus WN (*Flavivirus*). Nos Estados Unidos da América, os arbovírus patogénicos com maior expressão são os vírus EEE e WEE (*Togaviridae*), o vírus da Encefalite de St. Louis e WN (*Flaviviridae*) e o vírus da encefalite La Crosse (*Bunyaviridae*), todos transmitidos por mosquitos [7]. No continente Africano e na América Latina e do Sul, os flavivírus dengue e Febre Amarela são, sem dúvida, os mais importantes. Na Ásia, e especialmente no sudoeste asiático, o aumento das doenças transmitidas por mosquitos, nomeadamente pelos vírus da Encefalite Japonesa (JE) e DEN, ambos *Flavivirus*, e o vírus CHIK, causam problemas de saúde pública significativos [8]. Na Austrália, o

flavivírus agente da encefalite de Murray Valley é o arbovírus endêmico transmitido por mosquitos mais importante [9].

## Patogénese

De uma forma geral, a maioria das infeções humanas causadas por vírus transmitidos por mosquitos, nomeadamente pelos vírus CHIK, DEN e WN, são assintomáticas ou resultam numa síndrome febril inespecífica. O início dos sintomas pode ser insidioso ou súbito, com febre, cefaleias, mialgias, mal-estar e prostração. Por vezes pode observar-se uma reação cutânea no local da picada, tal como outros sintomas inespecíficos como vómitos, náuseas, fotofobia, dor retro-orbital, tosse, exantema ou anorexia. Para uma proporção reduzida das pessoas infectadas (geralmente inferior a 5%), a infeção pode evoluir para formas mais graves, com desfecho fatal ou sequelas permanentes.

Entre os vírus neurotrópicos está o vírus WN que pode levar a encefalite com risco de vida ou sequelas neurológicas permanentes.

No caso de infeção por vírus DEN, a patogénese é mais complexa, uma vez que existem quatro serotipos (DEN-1, 2, 3 e 4) que causam um vasto espectro de doença no homem. Os casos menos graves (de assintomáticos à febre de dengue clássica) estão usualmente associados a uma primeira infeção, cuja recuperação confere imunidade permanente contra o serotipo envolvido, mas apenas parcial e transitória contra os restantes três serotipos. Alguns doentes evoluem para síndromes mais severas, designadas dengue hemorrágico (DHF), caracterizado por trombocitopenia e hemorragias, e síndrome de choque por dengue (DSS), caracterizado por perda excessiva de plasma. Os casos mais graves ocorrem com mais frequência em infeções secundárias por um serotipo heterólogo [10].

O vírus CHIK é agente etiológico de poliartralgias sérias (embora geralmente não fatais) caracterizadas por febre, exantema e artralgias dolorosas que podem persistir durante meses ou mesmo anos.

De salientar que qualquer um destes arbovírus pode produzir infeções assintomáticas em grande percentagem, o que implica medidas de rastreio às doações de sangue e órgãos em zonas endémicas ou em caso de surtos esporádicos.

Não existe tratamento específico para estes agentes. O tratamento é usualmente de suporte, sendo recomendado o descanso, hidratação, tratamento com paracetamol para redução da febre (especialmente importante no caso de possibilidade de sintomas hemorrágicos, como no dengue). Em caso de sintomas neurológicos o tratamento envolve a tentativa de lidar com problemas associados ao inchaço do cérebro, diminui-

---

ção da oxigenação cerebral e outro tipo de complicações associadas a infecções bacterianas oportunistas [7].

## Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial direto de arbovírus pode ser efetuado pelo isolamento do agente e detecção molecular do RNA viral (baseado em técnicas derivadas da reação da polimerase em cadeia- [PCR, RT-PCR e PCR em tempo real]). Um resultado positivo por diagnóstico direto permite a confirmação de caso, no entanto, face à evolução clínica destas infecções, e considerando o curto período de virémia (apenas cerca de 5 a 7 dias, após o início dos sintomas) esta abordagem só é adequada durante a primeira semana após início dos sintomas.

Os métodos de diagnóstico indireto mais utilizados são a Imunofluorescência Indireta (IFA), a ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e a neutralização em placa (PRNT). Com base nos resultados do diagnóstico serológico e face a um contexto epidemiológico e clínico compatível, um caso de infecção activa é definido por: 1) demonstração de seroconversão; ou 2) aumento do título de anticorpos, de pelo menos quatro vezes, relativamente a duas amostras consecutivas com duas a quatro semanas de intervalo. Um título único, IFA IgM positivo, pode também ser sugestivo de doença. Pela facilidade de execução e rapidez, a IFA surge como um método de eleição para o diagnóstico serológico, não sendo, todavia, isenta de dificuldades nomeadamente a nível da interpretação de resultados, devido à existência de reações cruzadas por infecções passadas com vírus semelhantes (destacando-se os flavivírus) e/ou imunidade por vacinação com flavivírus como Febre Amarela, Encefalite Japonesa e Encefalite Transmitida por Carraças. No caso particular da epidemiologia do vírus de dengue, é também necessário considerar que numa segunda infecção por um serotipo heterólogo geralmente ocorre uma resposta imunitária distinta com uma subida exponencial de anticorpos IgG, e basal ou mesmo indetetável, de anticorpos IgM.

As amostras biológicas mais frequentemente analisadas são sangue, soro e/ou LCR (no casos dos agentes de encefalites), sendo para diagnóstico molecular preferencial amostras de sangue total ou LCR manipuladas e transportadas em ambiente refrigerado, uma vez que sendo estes vírus de RNA, a garantia da qualidade da amostra e cuidados para prevenção da degradação evitam a obtenção de resultados falsos negativos.

Face à especificidade do diagnóstico destes agentes a informação epidemiológica fornecida e o contacto com o clínico são muitas vezes fatores essenciais para o diagnóstico laboratorial.

## Situação em Portugal

O diagnóstico laboratorial de arbovírus é realizado no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas (CEVDI/INSA) desde 1991.

Anualmente são diagnosticados, sobretudo, casos de importação de Dengue com origem no Brasil, Timor, Índia, Angola, Bolívia, Cabo Verde, Equador, Paquistão, Perú, Venezuela, Vietname e México.

Em 2010 foi diagnosticado um caso de infeção por WN [11]. Este caso humano veio comprovar o risco desta infeção no nosso país, embora com uma incidência bastante menor do que noutros países europeus (Grécia, Itália, Roménia e Rússia), foi consubstanciado por dois casos positivos em equinos na mesma região, dois meses mais tarde [12].

Em 2012 foram diagnosticados no CEVDI/INSA os primeiros casos autóctones de Dengue na ilha da Madeira [13].

Em 2013 foi identificado, também pelo laboratório, um aumento muito significativo no número de casos de importação a partir de Angola, o que veio a ser revelado posteriormente por um grande surto de Dengue na região de Luanda [14].

Como laboratório de referência o CEVDI/INSA tem participado na identificação de arboviroses, e na confirmação e identificação dos serotipos em circulação. No recente surto de Dengue na ilha da Madeira foi identificado o agente etiológico responsável pelo surto como DEN-1 proveniente da América latina, por maior semelhança do genoma viral com vírus DEN-1 que circulam na Venezuela, Colômbia e região de Roraima, no Norte do Brasil [13]. Nas amostras de casos de importação de Angola foi identificado pelo laboratório o serotipo DEN-1 com origem africana/asiática.

Nos pedidos de diagnóstico para o vírus CHIK ao CEVDI/INSA, em casos de importação, ainda não foram confirmados laboratorialmente casos de infeção ativa.

O CEVDI/INSA, como laboratório de referência, representa um papel essencial na vigilância epidemiológica e manutenção de meios de diagnóstico atualizados que permitam a identificação precisa dos agentes etiológicos e da sua origem.

---

## Estudo de Caso

Entre Outubro de 2012 e Fevereiro de 2013 foram reportadas 2164 infeções autóctones de Dengue na ilha da Madeira, assim como 78 infeções, com origem na Madeira, no resto da Europa (Reino Unido (23), Alemanha (19), Portugal continental (11), França (3), Suécia (5), Finlândia (7), Dinamarca (2) e Noruega (2), Croácia (1), Eslovénia (1), Espanha (1) e Suíça (1)). Não foram diagnosticados casos de dengue severo e o número de novos casos diminuiu desde as últimas semanas de 2012.

A introdução do mosquito invasor *Aedes aegypti*, detectado na Madeira em 2005, foi o fator chave para ocorrência de um surto de dengue nesta região em 2012.

Outro mosquito invasor, *Aedes albopictus*, com origem asiática, tem ocupado a Europa desde os anos 80, tendo já sido introduzido em Espanha em 2004. Em França (2010, 2013) e na Croácia (2013) foram diagnosticados quatro casos de Dengue autóctone transmitido por *Aedes albopictus*.

A proximidade geográfica destas duas espécies vectoras do vírus Dengue a Portugal continental implica maior atenção na sua vigilância. A sua introdução deve ser detetada atempadamente em projetos multi-institucionais, como a Rede de Vigilância de Vetores (REVIVE) em funcionamento desde 2008, para que seja possível tomar medidas que contribuam para o controlo das populações de vetores de forma a mitigar o seu impacto em saúde pública.

## Bibliografia

1. Nathanson N. Epidemiology. In Knipe DM & Howley, editors. Fields Virology. 4<sup>th</sup> Edition. Lippincott, Williams and Wilkins, NY, USA. 2001. pp. 371-392..
2. Weaver SC. (2013). Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. Trends Microbiol. 21 (8): 360-3.
3. Powers AM, Huang HV, Roehrig JT, Strauss EG, Weaver, SC. Togaviridae. In King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ. Editors. Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, UK. 2011. pp. 1103-1110.
4. Calzolari M, Zé-Zé L, Růžek D, Vázquez A, Jeffries C, Defilippo F, Osório HC, Kilian P, Ruíz S, Fooks AR, Maioli G, Amaro F, Tlustý M, Figuerola J, Medlock JM, Bonilauri P, Alves MJ, Besta O, Tenorio A, Vaux AG, Bellini R, Gelbič I, Sánchez-Seco MP, Johnson N, Dottori M. (2012). Detection of mosquito-only flaviviruses in Europe. J Gen Virol 93: 1215-1225.
5. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. (1998). Phylogeny of the genus *Flavivirus*. J Virol 72 (1): 73-83.

6. OMS 2010. <http://www.who.int/biologicals/areas/vaccines/dengue/en/>
7. Centers for Disease Control and Prevention. Arboviral Encephalitis. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/arbor/arbdet.htm>
8. Dash AP, Bhatia R, Sunyoto T, Mourya DT. (2013). Emerging and re-emerging arboviral diseases in Southeast Asia. *J Vector Borne Dis.* 50 (2): 77-84.
9. Selvey LA, Dailey L, Lindsay M, Armstrong P, Tobin S, Koehler AP, Markey PG, Smith DW. (2014). The changing epidemiology of murray valley encephalitis in australia: the 2011 outbreak and a review of the literature. *PLoS Negl Trop Dis.* Jan 23; 8 (1): e2656.
10. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, Hunsperger E, Kroeger A, Margolis HS, Martínez E, Nathan MB, Pelegrino JL, Simmons C, Yoksan S, Peeling RW. (2010). Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol.* 8 (12 Suppl): S7-16.
11. Alves MJ, Poças JMD, Osório HC, Amaro F, Zé-Zé L (2012). Infecção por vírus West Nile (Flavivírus) em Portugal. Considerações acerca de um caso clínico de síndrome febril com exantema. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 8 (1): 46-51.
12. Barros, S.C., et al., Serological evidence of West Nile virus circulation in Portugal. *Vet. Microbiol.* (2011), doi:10.1016/j.vetmic.2011.05.013
13. Alves MJ, Fernandes PL, Amaro F, Osório H, Luz T, Parreira P, Andrade G, Zé-Zé L, Zeller H. (2013) Clinical presentation and laboratory findings for the first autochthonous cases of dengue fever in Madeira island, Portugal, October 2012. *Euro Surveill.*;18(6):pii=20398. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20398>
14. Centers for Disease Control and Prevention. Ongoing Dengue Epidemic — Angola, June 2013. *MMWR* 2013; Weekly/Vol. 62/No. 24.

---

# MALÁRIA

Maria João Gargaté

## Introdução

A malária é uma doença milenar conhecida desde 2700 AC, mas só em 1880 Charles Laveran, um cirurgião francês, identificou um “parasita” no sangue de pacientes com malária na Argélia e, em 1902, Ronald Ross foi premiado com o Prémio Nobel, por ter sido o primeiro investigador a reconhecer o papel do mosquito na transmissão da malária ao identificar o ciclo esporogónico no mosquito.

Em 1955, peritos da Organização Mundial da Saúde (OMS) concretizaram a missão da erradicação da malária através da utilização bem sucedida do DDT e da eficácia dos antimaláricos sintéticos. Contrariamente ao sucesso verificado na Europa e em alguns países da América, Ásia e Pacífico, esta parasitose persiste em África devido muito provavelmente, às condições sócio económicas e fatores ambientais que desempenham um papel preponderante na transmissão da malária neste continente [1].

Como resultado dos trabalhos de erradicação conduzidos pelos serviços de saúde pública, os últimos casos de malária adquiridos em Portugal foram diagnosticados em 1959, desde então, todos os casos identificados no nosso país foram importados e ocorreram em viajantes regressados de países tropicais onde adquiriram a doença.

A malária, ou paludismo, é uma infeção parasitária causada por um protozoário intracelular obrigatório do género *Plasmodium*; cuja transmissão é assegurada quando uma fêmea de um mosquito do género *Anopheles* infectada efectua a sua refeição de sangue num indivíduo. Em situações excepcionais, a doença pode ser transmitida por transfusão sanguínea ou via congénita contudo estas duas formas de transmissão não têm qualquer impacto epidemiológico [2]. Estão descritas mais de 150 espécies de *Plasmodium* mas, até há pouco tempo, pensava-se que só quatro infetavam o Homem: o *P. falciparum*, o *P. vivax*, o *P. malariae* e o *P. ovale*. No entanto uma nova espécie foi identificada no sudeste asiático (Malásia) como sendo também patogénica para o Homem, *P. knowlesi*. Desde os tempos historicamente antigos, sobretudo na Europa, esta doença é identificada como episódios febris caracterizados por paroxismos e recorrências de febre terçã benigna (*P. vivax*) e febre quartã (*P. malariae*), assim designados porque se considerava não estarem associados a formas severas

---

e fatais da doença. A febre “terçã maligna” ou “subterçã maligna” era atribuída ao *P. falciparum* e geralmente associada a formas severas e fatais da doença [3].

A malária é uma das doenças infecciosas humanas mais prevalentes no mundo. Conjuntamente com o VIH e a tuberculose são consideradas as doenças mais mortais nas regiões tropicais e subtropicais [4]. É a doença parasitária mais importante para o Homem estando aproximadamente 5% da população mundial infetada. *P. falciparum* é o agente mais disseminado com uma patogenia mais agressiva e um elevado índice de resistência à terapêutica, sendo responsável por mais de 80% dos casos mundiais. A OMS estima que ocorram cerca de 300 a 500 milhões de novos casos de malária por ano, resultando em mais de 1 milhão de mortes em que 90% destas mortes ocorrem na África sub-Sariana sendo a maioria em crianças com menos de 5 anos de idade.

### **Agente / taxonomia**

*Plasmodium sp.* pertence ao Filo Apicomplexa, constituído por seres eucariotas unicelulares, que possuem um complexo apical que desempenha um papel fundamental na penetração das células hospedeiras e à Família Plasmodiidae caracterizada por apresentar dois tipos de multiplicação no seu ciclo de vida: uma assexuada (Homem) e outra sexuada (mosquito) [2]. O ciclo de vida do *Plasmodium* pode ser dividido em três estádios, a fase sexuada que ocorre no hospedeiro invertebrado - mosquito - (*ciclo esporogónico*) e duas fases assexuadas que ocorrem no Homem: o ciclo exoeritrocítico (fígado) e o ciclo eritrocítico (glóbulos vermelhos). Este ciclo inicia-se quando a fêmea do mosquito *Anopheles*, durante a sua refeição sanguínea, inocula por picada no hospedeiro as formas infetantes do parasita, denominadas esporozoítos. O esporozoíto percorre os vasos sanguíneos até às células hepáticas, nas quais se reproduz assexualmente produzindo milhares de merozoítos. Esta fase é transitória e assintomática. Os merozoítos são libertados para a circulação sanguínea onde irão infetar os glóbulos vermelhos. O ciclo eritrocítico desenvolve-se em duas fases distintas: (i) multiplicação assexuada por esquizogonia e (ii) diferenciação em estágios sexuais, denominados gametócitos, que irão desenvolver-se no mosquito dando origem aos esporozoítos. Durante a esquizogonia sanguínea são libertados os merozoítos que invadem os eritrócitos, transformando-se em trofozoítos, os quais, depois de completar o estágio de crescimento vegetativo, desenvolvem-se em esquizontes [2].

## Sintomatologia

A sintomatologia manifesta-se geralmente entre oito a 25 dias após a infecção, podendo, os sintomas surgir mais tarde em indivíduos que tenham tomado medicação antimalárica profilática. As manifestações iniciais da doença são comuns para todas as espécies de malária e assemelham-se aos sintomas de uma síndrome gripal. Entre os sinais clínicos incluem-se dores de cabeça, febre, calafrios, dores nas articulações, vômitos, anemia hemolítica, icterícia, hemoglobina na urina, lesões na retina e convulsões. Como manifestações graves da doença, no caso do *P. falciparum* destacam-se os quadros de malária cerebral, anemia severa da malária, disfunção multiorgânica (hepático-renal), acidose metabólica e síndrome de stresse respiratório do adulto (SDRA) [2].

## Epidemiologia

A malária ocorre na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo estando as espécies de *Plasmodium* distribuídas de modo diferente entre as regiões onde a doença é endêmica (Quadro 1). *P. falciparum* predomina em África, Nova Guiné e Haiti, enquanto o *P. vivax* é mais comum na América Central. A prevalência destas duas espécies é aproximadamente igual na América do Sul, no Subcontinente Indiano, na Ásia oriental e Oceânia. Apesar de *P. malariae* coexistir na maioria das áreas endêmicas, especialmente ao longo da África sub Sariana, a sua prevalência é muito menos comum. Com respeito ao *P. ovale* é pouco comum fora da África, estimando-se prevalências globais menores que 1% [5].

Na Europa, segundo o relatório anual de vigilância epidemiológica do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) 2013 nos estados membros da União Europeia a transmissão da malária é inexistente desde 1975, embora o vetor permaneça presente, tendo sido reportados em 2010 mais de 6700 casos importados pelos 26 estados membros da União Europeia. A taxa de casos reportados confirmados de malária nos países da Europa permanece estável mantendo se aproximadamente em um por 100 000 habitantes. Todos os casos são importados, à exceção dos da Grécia que desde 2009 reporta casos de transmissão local de malária, em 2012 foram reportados 76 casos de malária neste país, sendo 16 autóctones referindo se a pacientes que nunca viajaram para países endêmicos, estes casos foram confirmados laboratorialmente como sendo *P. vivax* pelo Laboratório Nacional de Referência. Recentemente foi publicada informação da existência de um caso de malária autóctone

---

em Itália na região da Calábria. À semelhança de anos anteriores na Europa a taxa de ocorrência desta infeção é mais do dobro nos homens do que nas mulheres sendo a faixa etária mais afetada a 25-44 anos. Em todos os países existe uma tendência sazonal evidente na ocorrência desta infeção com o número de casos a aumentarem durante os meses de verão (julho a outubro). Esta realidade parece estar associada ao período de Verão caracterizado por uma maior movimentação da população, mais do que qualquer outro fator de risco, representando assim os viajantes que visitam familiares e amigos em países endémicos um grupo significativo de importação da malária nos países desenvolvidos. Com o exemplo da Grécia a transmissão local continua a ser uma possibilidade na Europa sendo por isso imperativo a necessidade de prevenção, vigilância epidemiológica e melhoria ao acesso dos cuidados de saúde aos migrantes.

Portugal, segundo o relatório de 2013 do *European Centre for Disease and Control* (ECDC) *Annual epidemiological report*, reportou 246 casos importados entre 2007 e 2011.

De acordo com o último Relatório das Doenças de Declaração Obrigatória da Direção-Geral da Saúde que se refere aos anos 2004-2008, Portugal reportou 45 casos em 2008, 43 casos em 2007 e 42 casos em 2006, 52 casos em 2005 e 49 casos em 2004 sendo a maioria dos casos em adultos provenientes da região de Lisboa e Vale do Tejo. Estes casos referem se unicamente a casos importados. Entre 2011 e 2013 chegaram ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) 264 requisições para o diagnóstico laboratorial de *Plasmodium sp* tendo havido sete casos positivos todos eles importados. Cinco referem-se a *P. falciparum* em adultos e foram provenientes da região da grande Lisboa (n=3) e do Porto (n=2), um caso refere se a *P. malariae* num adulto residente em Lisboa e por último uma co- infeção de *P. falciparum* e *P. malariae* num adulto proveniente do Funchal, Madeira. O INSA participa na vigilância epidemiológica da malária através do projeto REVIVE tanto na vigilância do vetor como na posterior identificação da presença do parasita nos insetos.

## Diagnóstico

A sintomatologia inespecífica da malária, que se apresenta como uma síndrome febril, não é clinicamente distinguível de um vasto leque de outras doenças, pelo que é absolutamente necessário a realização do diagnóstico laboratorial.

Nos últimos 100 anos a malária foi diagnosticada, por microscopia óptica, pela observação direta do esfregaço sanguíneo e gota espessa em lâminas coradas por

Giemsa, metodologia que continua a ser o “*gold standard*” para o diagnóstico desta parasitose, pois permite a identificação da infecção, a diferenciação da espécie e a determinação da parasitemia. Existem outras metodologias para o diagnóstico da malária nomeadamente os testes rápidos (imunodeteção da proteína plasmodial), muito utilizados em saídas de campo nas zonas endémicas, mas que apresentam uma baixa sensibilidade, a deteção de anticorpos, que não diagnostica uma infecção ativa, e, desde a década de 80, as técnicas de biologia molecular, como a PCR, que têm sido desenvolvidas com sucesso [6].

## Prevenção e controlo

A malária é uma doença evitável através da utilização de drogas profiláticas.

Recomenda-se a utilização da terapia combinada com derivados da artemisinina (*artemisinin combination therapies* - ACT) para a doença aguda, principalmente em crianças, devido ao seu efeito gametocida impedindo a infecção do mosquito reduzindo desse modo a transmissão da doença; o tratamento intermitente preventivo (TIP) em mulheres grávidas; a utilização de redes mosquiteiras impregnadas em inseticidas de ação prolongada (*insecticide treated nets* - ITNs); a pulverização intradomiciliária com inseticidas de efeito residual que tem efeito no controlo do vetor tem assumido uma importância significativa na redução das taxas de morbilidade, ao promover a diminuição do contacto vetor-hospedeiro vertebrado e a drenagem de águas paradas onde os mosquitos depositam os seus ovos constituem os fatores que têm contribuído de modo mais significativo para o controlo da malária [7].

O controlo da malária é um dos objetivos do *Millennium Development Goal* (MDG) que pretende reverter a incidência desta infecção tentando reduzir para dois terços a sua taxa de mortalidade até 2015 [7].

## Tratamento

A OMS preconiza a utilização das combinações baseadas na artemisina como a terapia de primeira linha tanto em situações de malária não complicada/não grave como em situações de doença grave.

A malária pode ser severa ou fatal, especialmente se a espécie em causa for *P. falciparum*, pelo que o tratamento deve ser iniciado o mais cedo possível. Em pacientes que apresentem um quadro severo o tratamento deve ser administrado por

---

via intravenosa. A maior parte das drogas utilizadas no tratamento são ativas contra as formas sanguíneas do parasita e incluem a artemisina, cloroquina, atovaquona, e mefloquina. A utilização destas drogas individualmente ou combinadas com outras depende da espécie do parasita em causa, da área onde a infeção foi adquirida e da situação da resistência às drogas nessa área, o estado clínico do paciente e a existência de gravidez. Existem diretrizes para o tratamento que combinam estas situações [8].

## Caso de estudo

Doente de 60 anos, do sexo masculino, residente na ilha da Madeira, regressado havia duas semanas de Moçambique onde esteve a trabalhar durante dois meses não tendo efetuado a profilaxia para a malária. Recorreu ao Serviço de Saúde do Hospital Central do Funchal, com quadro possível de paludismo. O diagnóstico laboratorial, por pesquisa direta no serviço de patologia clínica do mesmo hospital, indicou suspeita de co-infeção *P. malariae* - *P. falciparum*. A amostra foi enviada para o INSA para confirmação deste diagnóstico por métodos moleculares (PCR em tempo real), que se confirmou. A evolução da doença foi desfavorável e o doente acabou por morrer.

## Bibliografia

1. PNCM-Programa Nacional de Controle da Malária, UNICEF- Fundo das Nações Unidas para a Infância, Consaúde, Lda. 2006. Malária em Angola (1998-2005), Progressos e Lições. Relatório:1-26.
2. Tropical diseases Mansons 21 edition Section 10 Protozoan Infections Chapter 71 N.J. White
3. Schofield & Grau
4. WHO Malária Report 2013
5. WHO Malária Report 2009
6. Moody A. 2002. Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. *Clinical. Microbiology. Rev.* 15 (1): 66-78.
7. RBM/WHO-Roll Back Malaria. 2010b. Partnership: Economic costs of malaria. Roll Back Malaria. *World Health Organization*. <http://www.rbm.who.int/cmc>
8. Dessein AJ, Chevillard C, Marquet S, Henri S, Hillaire D, Dessein H. 2001. Genetics of parasitic infections. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics* 29 (4): 484-488.

# FILARÍASE

Maria João Gargaté

## Introdução

**A** filaríase é uma infeção causada por várias espécies de nematodes (Quadro 3) que parasitam o sistema linfático ou subcutâneo dos humanos [1]. A sua transmissão ocorre pela picada da fêmea, de mosquito durante a sua refeição sanguínea. A filaríase linfática afeta mais de 120 milhões de pessoas em 73 países situados nos trópicos e sub-trópicos da Ásia, África, Pacífico Ocidental, Caraíbas e América. Nos EUA a infeção foi erradicada nos inícios do século XX. Esta infeção é considerada uma doença tropical negligenciada e a única maneira de a prevenir é evitar a picada do mosquito.

## Situação em Portugal

Apesar de não existir a doença autóctone em Portugal, a possibilidade de ocorrerem casos de importação em indivíduos provenientes, ou que viajaram recentemente para zonas endémicas, deve ser ponderada. Entre 2011 e 2013 chegaram ao INSA oito requisições para o diagnóstico laboratorial de filaríase tendo sido os oito casos negativos. Todos estes pedidos referiam-se a adultos febris provenientes de vários pontos do País que viajaram para zonas endémicas tendo já sido descartadas outras infeções.

Quadro 3: Características biológicas, distribuição geográfica e sintomatologia dos vários agentes etiológicos de filariase

Espécie	Localização do parasita adulto	Localização da microfilária	Vetor	Distribuição geográfica	Sintomatologia
<i>Wucheria bancrofti</i>	Sistema linfático	Linfa/sangue	Culex, Aedes	África, Ásia, América	Linfangite, Elefantíase, Hidrocefalia
<i>Brugia malayi</i>	Sistema linfático	Linfa/sangue	Mansonia, Anopheles	Sul, Este e Sudeste da Ásia	Linfangite, Elefantíase
<i>Brugia timori</i>	Sistema linfático	Linfa/sangue	Mosquito	Indonésia	Linfangite, Elefantíase
<i>Loa loa</i>	Tecido subcutâneo	Sangue	<i>Chrysops</i> spp.	África Central e Oeste	Inchaços de Calabar
<i>Oncocerca volvulus</i>	Tecido subcutâneo	Subcutânea	<i>Simulium</i> spp.	África, América do Sul e Central	Dermatite, Nódulos Subcutâneos (Pele de Leopardo), Lesões Oculares (Cegueira dos Rios)
<i>Mansonella perstans</i>	Cavidade peritoneal, membranas serosas	Sangue	<i>Culicoides</i> spp.	África, América do Sul e Central	Normalmente assintomática
<i>Mansonella streptocerca</i>	Pele	Subcutânea, Pele	<i>Culicoides</i> spp.	África Oeste e Central	Normalmente assintomática
<i>Mansonella ozzardi</i>	Cavidade peritoneal, Membranas serosas	Sangue e pele	<i>Culicoides</i> spp <i>Simulium</i> spp	América Central e do Sul	Normalmente assintomática
<i>Dracunculus medinensis</i>	Tecido subcutâneo	-	Ingestão/ <i>Cyclops</i>	África	Úlceras

## Bibliografia

1. Center for Disease Control and Prevention. "Lymphatic Filariasis". <http://www.cdc.gov/parasites/>
2. Simonsen P.E. Tropical diseases. Manson's 21 edition section 11. Helminthic Infections Chapter 82 Filariases

# III. DOENÇAS ASSOCIADAS A FLEBÓTOMOS



# LEISHMANÍASE

Maria João Gargaté

## Introdução

A primeira descrição de leishmaníase foi feita por El-Razy no Iraque, por volta do ano 1500. Em 1898, Browosky descobriu o agente causador desta infeção, mas a sua publicação escrita em russo, passou praticamente despercebida aos olhos dos cientistas ocidentais. Só em 1901, William Leishman, durante um exame a amostras do baço de um paciente que morreu de leishmaníase (Kala-azar) observou “corpos ovais” e publicou a sua observação. Mais tarde, Charles Donovan encontrou esses mesmos “corpos ovais” noutros pacientes com (Kala-azar) e designou-os como corpos Leishman – Donovan. Mas foi Ronald Ross, em 1902, quem classificou o agente etiológico do Kala-azar diferenciando-o no género *Leishmania* [1].

A leishmaníase é uma doença infecciosa causada por um variado número de espécies de um protozoário parasita pertencente ao género *Leishmania*, família Trypanosomatidae, cuja transmissão é assegurada quando uma fêmea de diferentes espécies de *Phlebotomus* (Velho mundo) ou *Lutzomyia* (Novo mundo) efetua a sua refeição de sangue num indivíduo. Sendo *Phlebotomus perniciosus* e *Phlebotomus ariasi* as espécies mais importantes na Europa ocidental, nomeadamente em Portugal, onde foram identificadas como as espécies vetoras de *Leishmania infantum* [2]. O cão é o principal reservatório e também o principal hospedeiro deste parasita. O género *Leishmania* inclui aproximadamente 30 espécies, a maioria das quais infecta o Homem, originando quatro apresentações clínicas diferentes: leishmaníase visceral ou síndrome de kala-azar (a forma mais severa da doença), leishmaníase cutânea (a forma mais comum da doença), leishmaníase cutânea difusa e leishmaníase mucocutânea. Esta parasitose afeta principalmente a população mais pobre do planeta e está na maioria dos casos associada a malnutrição, a imunossupressão, movimentações populacionais e défice de recursos socio-económicos. Estima-se que ocorram a nível mundial 1,3 milhões de novos casos e 20000 a 30000 mortes por ano provocados por esta parasitose.

## Agente / taxonomia

*Leishmania* é um parasita dimórfico que apresenta dois principais estados morfológicos: a forma amastigota intracelular que parasita o sistema fagocitário mononuclear dos mamíferos (hospedeiro) e a forma promastigota flagelada que parasita o trato intestinal do inseto (vetor). Ao efetuar a sua refeição sanguínea no reservatório mamífero infetado, o inseto ingere as formas amastigotas de *Leishmania*, diferenciando-se estas em formas promastigotas flageladas e alongadas, dando-se então início a uma fase de multiplicação logarítmica em que os parasitas não são infecciosos. Após alguns dias, estas formas transformam-se em promastigotas metacíclicas com grande mobilidade. Cerca de nove dias depois migram para a zona proximal do tubo digestivo (esófago, faringe), prontas a serem inoculadas no hospedeiro vertebrado durante a próxima refeição. É nesta altura que o flebótomo fêmea, ao efetuar a sua refeição sanguínea de que necessita para a maturação dos ovos, inocula as formas promastigotas metacíclicas na derme do hospedeiro vertebrado. Estas formas são rapidamente fagocitadas pelos macrófagos, passam à forma amastigota, multiplicam-se por divisão binária nos fagolisossomas das células fagocíticas, provocando a sua destruição ao romper a membrana celular, sendo as formas amastigotas fagocitadas por novos macrófagos.

Desde a identificação do género por Ross, o número de espécies descritas tem aumentado ao longo do tempo.

Como as diferentes espécies são indistinguíveis morfologicamente, vários critérios têm sido usados para a sua identificação sendo a eletroforese de isoenzimas a metodologia de referência para esta distinção (Quadro 4) [1].

Quadro 4: Classificação do género *Leishmania*. Análise filogenética.

Subgénero <i>Leishmania</i> Ross, 1903				
<i>L. donovani</i>		<i>L. infantum</i>	<i>L. chagasi</i>	
<i>L. mexicana</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. tropica</i>	<i>L. major</i>	<i>L. aethiopica</i>
Subgénero <i>Vaniia</i> Laison & Shaw, 1987				
<i>L. braziliensis</i>		<i>L. guyanensis</i>	<i>L. panamensis</i>	<i>L. peruviana</i>

## Apresentação clínica e sintomatologia

A leishmaníase cutânea caracteriza-se pelo aparecimento de lesões cutâneas, principalmente na face e membros. A cura ocorre espontaneamente mas no entanto pode deixar cicatrizes permanentes. Após recuperação ou tratamento, esta apresentação clínica da leishmaníase induz imunidade à re-infecção por espécies de *Leishmania* causadoras da doença. Na leishmaníase cutânea difusa os doentes apresentam lesões disseminadas semelhantes a lepra, não ocorre cura espontânea e o tratamento é difícil. Esta forma está habitualmente relacionada com um sistema imunitário deficiente e apresenta frequentemente recaídas após tratamento. A leishmaníase mucocutânea provoca lesões desfigurantes na face, destruindo a mucosa do nariz, boca e garganta. A terapia inclui a reconstrução cirúrgica das deformidades. Por último a leishmaníase visceral também denominada síndrome de 'kala-azar' ou "febre negra" na Ásia, caracteriza-se por febre irregular, perda de peso, anemia, hepatoesplenomegalia, sendo a forma mais severa de leishmaníase, pode ser fatal na ausência de tratamento. Os órgãos internos são afetados e o período de incubação pode ir de meses a anos. Após tratamento e recuperação, os pacientes podem desenvolver leishmaníase cutânea crônica que requer tratamento longo e dispendioso [1].

## Epidemiologia

Esta parasitose constitui um dos principais problemas de saúde pública mundial, afetando 12 milhões de indivíduos em mais de 98 países, causando morbidade e mortalidade principalmente na África, Ásia e América Latina. No Brasil, onde esta parasitose tem elevada expressão, são registados cerca de 26,000 novos casos de leishmaníase por ano.

Relativamente às diferentes apresentações clínicas da doença, estima-se que aproximadamente 0,2 a 0,4 milhões de novos casos de leishmaníase visceral (LV) e 0,7 a 1,2 de novos casos de leishmaníase cutânea (LC) ocorram por ano em todo o mundo. Mais de 90% dos casos de leishmaníase cutânea, ocorrem em três áreas epidemiológicas distintas, América, bacia do Mediterrâneo e Ásia Ocidental, sendo os países com o maior número de casos estimados o Afeganistão, Argélia, Brasil, Irão, Peru, Arábia Saudita, Colômbia, Etiópia, Costa Rica e Síria. A leishmaníase visceral ocorre mais frequentemente no Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Sudão (Quadro 5).

Esta infeção assume grande importância clínica quando associada à infeção VIH, pois tem vindo a aumentar nos últimos anos em indivíduos toxicodependentes pela

partilha de seringas infetadas, não necessitando assim da intervenção do vetor (ciclo antroponótico). A co-infecção leishmaníase - VIH atinge mais de 35% do total de pacientes infetados com leishmaníase visceral no mundo.

Quadro 5: Localização geográfica das diferentes espécies de *Leishmania* sp.

Apresentação clínica	Espécies	Localização geográfica
Leishmaníase cutânea	<i>Leishmania tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. mexicana</i>	<u>Velho Mundo</u> : Bacia do Mediterrâneo, Ex-Repúblicas Soviéticas, Ásia, Médio Oriente, Afeganistão, Norte de África, Kenia  <u>Novo Mundo</u> : América central e Bacia do Amazonas
Leishmaníase mucocutânea	<i>L. braziliensis</i>	<u>Novo Mundo</u> : Brasil e outros países da América latina
Leishmaníase visceral	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i> <i>L. chagasi</i>	<u>Velho Mundo</u> : Asia (China, Índia e Irão) e África (Sudão, Kénia e Etiópia) <i>adultos</i>  Bacia do mediterrâneo (Portugal) e Norte de África <i>crianças e imunocomprometidos</i>  <u>Novo Mundo</u> : Norte e Nordeste do Brasil, alguns focos noutros países da América latina

Na Europa, o risco da emergência e/ou reemergência desta parasitose está associado a 3 fatores principais: introdução de espécies exóticas de *Leishmania* devido ao aumento das viagens intercontinentais dos humanos e de cães domésticos; propagação natural da LV e LC causada por *L. infantum* e *L. tropica* da região mediterrânica, onde estas espécies são endémicas, para áreas vizinhas temperadas onde existe o vetor mas não a doença; reemergência da doença na região do mediterrâneo causada pelo aumento do número de imunodeprimidos/HIV [2]. A resistência dos parasitas e dos vetores aos fármacos e inseticidas em uso, as modificações ambientais e as condições sócio-económicas asseguram a continuidade desta parasitose nas áreas endémicas.

Atualmente, a alta prevalência de portadores humanos assintomáticos de *L. infantum* no sul da Europa sugere que este parasita é uma ameaça latente para a saúde pú-

blica, demonstrado pelo aumento das coinfeções com HIV que têm vindo a ser observadas desde os anos 80. Desta forma a leishmaníase é considerada a terceira doença parasitária oportunista mais frequente a seguir à toxoplasmose a criptosporidiose [3].

O *European Centre for Disease Control (ECDC) Annual epidemiological report 2013* não refere quaisquer dados acerca da ocorrência de leishmaníase nos países europeus.

## Situação em Portugal

Em Portugal, a leishmaníase é endémica, causada por *L. infantum* sendo a apresentação clínica predominantemente, a leishmaníase visceral. No nosso país, o primeiro caso de leishmaníase foi descrito por Dionísio Alvares em 1910, numa criança de nove anos de idade, residente em Lisboa. Esta doença tem sido considerada predominantemente infantil, mas verifica-se uma tendência para a diminuição do número de casos em crianças e o aumento da infeção em adultos, principalmente associada a casos de VIH [4].

Os valores de seroprevalência da leishmaniose na população canina em Portugal, Espanha, Itália e França demonstram que cerca de 2,5 milhões dos animais se encontram infetados. Nestes países, o número total de casos humanos de coinfeção *Leishmania*/VIH, no final de 2006, era de 2152, sendo 223 em Portugal. Por outro lado, estima-se que sejam diagnosticados por ano, no nosso país, 15 a 20 casos de leishmaníase visceral (LV) em indivíduos imunocompetentes. Apesar de não ser evidente que exista uma relação direta entre a prevalência da leishmaníase canina e a da leishmaníase humana, a presença de cães infetados desempenha um papel fundamental na manutenção da endemia da LV humana, sendo a incidência/prevalência no cão muito superior à verificada no Homem.

A Região do Alto Douro, foi nos anos 90 o foco mais ativo da infeção humana com uma incidência de 8,3 casos/100000 habitantes/ano. A Região de Lisboa e vale do Tejo é, onde atualmente existe o maior número de casos humanos de leishmaníase, sobretudo em indivíduos com coinfeções com o VIH, apresentando uma incidência de 0,2 casos/100000 habitantes/ nos anos 80 (CENSOS 1991). Na Região do Algarve, a incidência da leishmaníase humana era nos anos 80 de 1,2 casos/100000 habitantes/ano [6]. A leishmaníase humana cutânea é uma doença rara em Portugal, mas têm sido descritos casos, desde os anos 40, nas bacias hidrográficas dos rios Douro, Tejo e Sado [7]. No entanto, em apenas dois casos autóctones foi possível identificar a espécie causadora

---

das lesões, *L. infantum*, enquanto que a mesma espécie foi isolada em cerca de noventa casos de LV [8]. Segundo aqueles autores, embora a LC não seja tão frequente em Portugal como em Itália ou Espanha, onde se verificam focos de elevada endemicidade, esta doença deverá deixar de ser encarada como muito rara, estimando-se que sejam diagnosticados anualmente cerca de dez novos casos.

Segundo os últimos dados da OMS não foram reportados casos referentes ao nosso país em 2011 e 2012 tendo sido reportados entre 2005 e 2010, 88 casos. O documento mais recente da Direção Geral da Saúde (DGS), disponível *online*, é o relatório das doenças de declaração obrigatória 2004-2008, que refere terem sido reportados 79 casos de leishmaniose nestes 5 anos, sendo a maioria dos casos na região de Lisboa e Vale do Tejo e abrangendo a totalidade dos grupos etários.

Entre 2011 e 2013 chegaram ao INSA 65 requisições para o diagnóstico laboratorial de *Leishmania*, tendo sido detetados 9 casos positivos, 3 crianças e 6 adultos. Em 5 dos adultos, residentes no distrito de Setúbal, foi detetada a co-infecção leishmaníase –VIH. Duas das crianças pertencem também ao distrito de Setúbal, sendo a outra residente no distrito de Vila Real.

## Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial pode ser efetuado pela identificação direta das formas amastigotas em esfregaços de sangue ou tecidos, normalmente aspirados esplénicos, biópsias hepáticas ou punções medulares, após coloração de Giemsa ou hematoxilina-eosina, o que requer experiência na observação; pelo isolamento e identificação das formas promastigotas em culturas a 27 °C em meio NNN ou *Schneider's drosophila* a partir de punções medulares e sangues periféricos, o que implica uma resposta demorada (7 – 12 dias); por testes imunológicos (IFI, ELISA, Immunoblot) que não deverão ser utilizados no caso de imunodeprimidos e crianças pois apresentam baixos títulos de anticorpos e não permitem distinguir uma infeção ativa de antiga. Por último, as técnicas de biologia molecular a partir de sangue periférico ou tecidos que possuem uma elevada especificidade e sensibilidade e permitem identificar rapidamente uma infeção ativa.

## Prevenção e controlo

Não existem vacinas nem drogas profiláticas disponíveis para esta parasitose sendo o único modo de prevenir a doença a proteção do vetor através do uso de inseticidas, repelentes e a utilização de redes mosquiteiras e roupas tratadas com piretróides.

Devido à inexistência de vacinas eficazes para a leishmaníase humana e só muito recentemente estar disponível a vacina canina, a terapêutica, apesar de limitada, dispendiosa e dos efeitos secundários adversos, continua a representar o único mecanismo de controlo quando as medidas profiláticas falham [9].

## Tratamento

Historicamente a terapia química da leishmaníase era baseada no uso de antimoniais pentavalentes. Outras terapêuticas como a miltefosina, pentamidina e a anfotericina B têm sido usadas como drogas alternativas, sendo presentemente esta última a droga de referência. A introdução da terapêutica *Highly Active Anti-Retroviral Therapy* (HAART) reduziu significativamente a incidência das co-infeções VIH-leishmaniose prevenindo que uma infeção assintomática por *L. infantum* se torne sintomática mas não evitando as recidivas de *L. visceralis* [10].

## Bibliografia

1. Dedet JP, Pratlong F. Tropical diseases Mansons 21 edition Section 10 Protozoan Infections Chapter 75 Leishmaniasis.
2. Leishmaniasis emergence in Europe P D Ready (P.Ready@nhm.ac.uk) Department of Entomology, Natural History Museum, London, United Kingdom 11 March 2010.
3. Desjeux P, Alvar J. Leishmania/HIV co-infections: epidemiology in Europe. *Ann Trop Med Parasitol*. 2003;97 Suppl 1:3-15.
4. Campino I: Leishmaníases em Portugal. Características emergentes da epidemiologia e do diagnóstico. Tese. Universidade Nova de Lisboa. Instituto de Higiene e Medicina Tropical. 1998;192 pp.
5. Organização Mundial de Saúde: Report of the Fifth Consultative Meeting on Leishmania/HIV Coinfection. Addis Ababa, Ethiopia, 20-22 March 2007. Ref: WHO/CDS/NTD/IDM/2007.5
6. Campino L et al, Epidemiologia das leishmanioses em Portugal, *Acta Med Port*. 2010; 23(5):859-864.
7. Ramos A, Farinhote A. Contribuição para o conhecimento do kala-azar em Portugal. *An Inst Med Trop (Lisboa)* 1952;2:1485-1500.
8. Campino L, abbranches P. Leishmaniose cutânea. Uma doença rara em Portugal? *Acta Med Port* 2002;15:387-390.
9. Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-Solar B, Jiménez M, Laguna F, López Vélez R, et al. Leishmania and human immunodeficiencyvirus co-infection: the first 10 years. *Clin Microbiol Rev*.
10. López-Vélez R. The impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on visceral leishmaniasis in Spanish patients who are co-infected with HIV. *Ann Trop Med Parasitol*. 2003;97.
11. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>
12. ESTATÍSTICAS- Doenças de Declaração Obrigatória 2004/2008. Direcção de Serviços de Epidemiologia e Estatísticas da Saúde / Divisão de Epidemiologia.

---

# FLEBOVIROSES

Fátima Amaro

## Introdução

Os flebovírus são arbovírus transmitidos por ixodídeos, mosquitos ou flebótomos. Os flebovírus transmitidos por ixodídeos até há relativamente pouco tempo não estavam associados a doença humana, no entanto, o surgimento dos vírus SFTS (*Severe Fever with Thrombocytopenia Virus*) na China e do vírus Heartland nos Estados Unidos da América, que provocam febre, fadiga, diarreia, trombocitopenia, leucopenia veio provar o contrário [1, 2].

O flebovírus transmitido por mosquitos mais importante em saúde pública é o vírus de Rift Valley fever que circula em África, principalmente em países subsarianos, mas que também já foi detectado no Líbano e na Arábia Saudita [3]. Este vírus é responsável por epizootias em ruminantes domésticos e, no ser humano, provoca doença que pode ir desde síndrome febril ligeira a meningite ou maculo-retinite que podem deixar sequelas permanentes [4].

Entre os flebovírus conhecidos que circulam na Bacia do Mediterrâneo, três deles, o Nápoles, o Sicília e o Toscana, transmitidos por flebótomos, causam doença humana, a chamada febre dos três dias, com sintomas parecidos com os da gripe, tais como febre, dores retro-orbitais e mialgias. Os doentes recuperam, geralmente, passada uma semana apesar de a doença ser considerada incapacitante enquanto os sintomas permanecem. No entanto, estes vírus não são considerados atualmente como uma grande ameaça para a saúde pública [5]. Assim, neste capítulo será abordado o vírus Toscana uma vez que este é, atualmente, o flebovírus mais prevalente na Europa. O vírus Toscana está associado a doença neurológica, particularmente nos meses mais quentes, quando a atividade do vetor se encontra no seu expoente máximo.

## Taxonomia e distribuição

Os flebovírus (género *Phlebovirus*, família *Bunyaviridae*) estão presentes em todo o mundo à exceção da Austrália. Encontram-se divididos em dois grandes grupos: o grupo Uukuniemi transmitido por ixodídeos e cujo protótipo é o vírus com o mesmo nome, e o

---

grupo dos vírus da febre por flebótomos que pode ser transmitida por mosquitos (caso do já referido vírus de Rift Valley fever) ou por flebótomos [6, 7, 8]. Relativamente aos vírus SFTS e Heartland acima mencionados e que são transmitidos também por ixodídeos, apesar de estarem geneticamente mais próximos do grupo Uukuniemi, acredita-se que possam vir a fazer parte de um terceiro grupo dentro dos flebovírus.

A maioria dos flebovírus é transmitida por flebótomos. No Velho Mundo reconhecem-se dois serocomplexos: 1) o serocomplexo do vírus Sandfly fever Naples que inclui os vírus Sandfly fever Naples, Tehran, Karimabad e Toscana, e 2) o serocomplexo do vírus Salehabad que inclui os vírus Salehabad e Arbia. Estão também listados na *International Committee on Taxonomy of Viruses* os vírus Sandfly fever Sicilian e o Corfou, que poderão vir a constituir o serocomplexo do vírus Sandfly fever Sicilian, [9]. Esta classificação está em constante mudança uma vez que o número de flebovírus que existem está claramente subestimado e a descrição de novos membros pertencentes a este género tem vindo a aumentar [10]

O vírus Toscana foi pela primeira vez isolado no seu vetor, *Phlebotomus perniciosus*, em Itália, na região da Toscânia em 1971 [11] e, em 1983, a partir do líquido cefaloraquidiano (LCR) de uma doente internada com meningite num hospital daquela região [12]. No mesmo ano um turista sueco ficou doente, após ser infetado no Algarve [13]. Desde então tem vindo a constatar-se que o vírus Toscana tem uma distribuição alargada aos países que rodeiam o Mediterrâneo ou contíguos a estes. Existem relatos de infeções por vírus Toscana, além de Itália e Portugal, em Espanha, França, Alemanha, Grécia, Croácia, Bósnia-Herzegovina, Kosovo, Malta, Chipre, Turquia, Marrocos e Tunísia [10].

## Patogénese

O vírus Toscana apresenta neurotropismo, podendo estar associado a doença neurológica aguda. A doença tem um período de incubação de cerca de 15 dias e um período de virémia de cerca de dois a três dias. No início surgem anticorpos (imunoglobulinas, Ig) do tipo M, logo seguidos pelo aparecimento de anticorpos do tipo G. Uma vez que o período de incubação é relativamente longo, quando a doença se manifesta geralmente podem ser encontrados anticorpos de ambos os tipos [14]. Na bibliografia não existem informações concretas sobre o tempo de persistência dos anticorpos IgG e IgM anti-vírus Toscana no organismo.

Os primeiros sintomas, nomeadamente febre e cefaleias, podem ocorrer durante dois a quatro dias. Posteriormente manifestam-se vômitos, dores oculares e rigidez na nuca, associada a meningite asséptica, confusão mental e letargia, seguidos de um período médio a longo de convalescença [14].

A doença evolui sem sequelas neurológicas, com envolvimento encefálico pouco frequente, mas pode resultar em casos de meningoencefalites ou encefalites, algumas vezes sem a ocorrência de meningite [15]. Estão descritos também vários casos de infeções com sintomatologia atípica, entre eles casos de hidrocefalia, surdez temporária e alterações de personalidade [16, 17, 18]. Mais recentemente, em 2012, foi referida a primeira morte por encefalite causada por vírus Toscana num doente idoso com 73 anos que viajou na região da Toscana [19].

Apesar da existência de casos atípicos com consequências graves, o facto de, por vezes, a infeção por vírus Toscana ser assintomática e não necessitar de hospitalização pode conduzir a uma subestimativa das taxas de infeção nos residentes dos países endémicos.

## Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial de flebovírus é assegurado pelo Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas/Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (CEVDI/INSA) desde 2007. Este diagnóstico é feito indiretamente, em amostras de soros através da pesquisa de anticorpos e, diretamente com pesquisa dos vírus em amostras de LCR.

Os soros são testados por imunofluorescência indireta *in house* (IFA) com recurso a lâminas preparadas com células Vero E6 infetadas com vírus Toscana da estirpe italiana ISS. PhI.3. As amostras a testar deverão ser duas, com um intervalo de duas semanas entre as colheitas, para se poder verificar a seroconversão. São consideradas positivas as amostras com títulos de IgG iguais ou superiores a 32 e de IgM com títulos iguais ou superiores a 16. As amostras positivas por IFA, são depois confirmadas com uma técnica de *Enzyme Linked Immunosorbent assay* (ELISA) comercial (Enzywell Toscana virus IgG/IgM, Diesse, Itália).

Dado o curto período de virémia do vírus Toscana, as amostras de LCR para diagnóstico direto deverão ser colhidas nos primeiros 2 e 3 dias após o início dos sintomas. As tentativas de isolamento são realizadas através da inoculação do LCR em células Vero E6 e a deteção de RNA viral é feita pela técnica de *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) com primers genéricos.

---

## Situação em Portugal

Alguns anos após a primeira referência à presença do vírus Toscana em Portugal [13], foi relatado o caso de outro turista que regressou sintomático ao seu país de origem, a Alemanha, após ter sido infetado na região de Coimbra [20]. Em 2007 foi descrita a deteção molecular do vírus em seis indivíduos internados com meningite na região do Porto [21].

No CEVDI foi realizado um estudo retrospectivo, com amostras colhidas entre 2004 e 2008, inclusive, cujos resultados já foram publicados [22] e no qual se pretendeu estudar a prevalência de anticorpos anti-vírus Toscana na população humana no nosso país. As populações estudadas consistiam numa população controlo (dadores de sangue, n=150), uma população considerada de risco (n=236) e uma população de indivíduos com sintomatologia e solicitação de diagnóstico laboratorial de vírus transmitidos por vetores. Esta última população foi dividida em indivíduos com sintomas neurológicos (n=165) e indivíduos sem sintomas neurológicos (n=373). Foram testados, no total, soros de 924 indivíduos. A seroprevalência de anticorpos IgG foi 2% na população controlo. Na população considerada de risco, a prevalência foi de 3,4%. Na população com doença do sistema nervoso central, detetou-se uma seroprevalência de 4,2% para o mesmo tipo de anticorpos e, nos indivíduos sem doença do sistema nervoso central, a seroprevalência foi de 1,3%. Na população com sintomas neurológicos foram detetados cinco casos (3%) de infeção recente (IgM + IgG), tendo sido esta infeção adquirida nos distritos de Faro, Coimbra, Lisboa e Aveiro. Os diagnósticos clínicos associados foram de meningite, meningoencefalite e exantema.

Os resultados obtidos nos estudos retrospectivos demonstram que a infeção por vírus Toscana ainda é negligenciada em Portugal tornando necessário sensibilizar a classe médica para este vírus neurotrópico transmitidos por vetores.

## Bibliografia

1. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, Liu Y, Li JD, Sun YL et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N Engl J Med* 2011; 364(16): 1523- 1532.
2. McMullan LK, Folk SM, Kelly AJ, MacNeil A, Goldsmith CS, Metcalfe MG et al. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N Engl J Med* 2012; 367 (9): 834-41.
3. WHO. Fact sheet n.º 207. Rift Valley fever 2007a. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs207/en/print.html>
4. Chevalier V, Pépin M, Plée L, Lancelot R. Rift Valley fever - a threat for Europe? *Euro Surveill* 2010; 15(10):pii=19506. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19506>

5. Depaquit J, Grandadam M, Fouque F, Andry PE, Peyrefitte C. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. *Euro Surveill* 2010; 15 (10): pii=19507. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19507>.
6. Nichol ST. Bunyaviruses. In *Virology* (4th Edition). Fields B, Peter M, Howley MD, Diane E, Griffin Ph.D., Robert A et al (Eds). Lippincott Williams & Wilkins Publishers 2001; 1603-1633.
7. Liu Dong-Ying, Tesh RB, Travassos da Rosa APA, Peters CJ, Yang Zahqiu, Guzman H et al. Phylogenetic relationships among members of the genus Phlebovirus (Bunyaviridae) based on partial M segment sequence analyses. *J Gen Virol* 2003; 84: 465- 473.
8. Swanepoel R. Bunyaviridae. In *Principles and practice of clinical virology* (5th edn). Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR, Griffiths PD & Sclobou BD (Eds). John Wiley & Sons Ltd 2004; 554-588.
9. Plyusnin A, Beaty BJ, Elliott RM, Goldbach R, Kormelink R, et al., 2011. Bunyaviridae. In *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, Elsevier; 693-709.
10. Alkan C, Bichaud L, de Lamballerie X, Alten B, Gould EA, Charrel RN. Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia and Africa: epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures. *Antiviral Res* 2013; 100 (1): 54-74.
11. Verani P, Ciufolini MG, Cacioli S, Renzi A, Nicoletti L, Sabatinelli G et al. Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterization of a new Phlebovirus (Arbia virus). *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38 (2): 433-439.
12. Leoncini F, Bartolozzi D, Banchi S. Il virus Toscana: un nuovo Phlebovirus causa di malattie infiammatorie acute del SNC nell'uomo. *Giorn Mal Inf Parass* 1986; 38: 649-652.
13. Ehrnst A, Peters CJ, Niklasson B, Svedmir A, Holmgren B. Neurovirulent Toscana virus (a sand fly fever virus) in swedish man after visit to Portugal. *Lancet* 1985; 1212-1213.
14. Magurano F, Nicoletti L. Humoral response in Toscana virus acute neurologic disease investigated by viral-protein-specific immunoassays. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999; 6 (1): 55-60.
15. Braito A, Ciufolini MG, Pippi L, Corbisiero R, Fiorentini C, Gistri A et al. Phlebotomus-transmitted toscana virus infections of the central nervous system: a seven-year experience in Tuscany. *Scand J Infect Dis* 1998; 30 (5): 505-508.
16. Baldelli F, Ciufolini MG, Francisci D, Marchi A, Venturi G, Fiorentini C et al. Unusual presentation of life-threatening Toscana virus meningoencephalitis. *Clin Infect Dis* 2004; 38 (4): 515-520.
17. Martínez-García FA, Moreno-Docón A, Segovia-Hernández M, Fernández-Barreiro A. Deafness as a sequela of Toscana virus meningitis. *Med Clin (Barc)* 2008 May; 130 (16): 639.
18. Serata D, Rapinesi C, Del Casale A, Simonetti A, Mazzarini L, Ambrosi E et al. Personality changes after Toscana virus (TOSV) encephalitis in a 49-year-old man: A case report. *Int J Neurosci* 2011; 121 (3): 165- 169.
19. Bartels S, de Boni L, Kretzschmar HA, Heckmann JG. Lethal encephalitis caused by the Toscana virus in an elderly patient. *J Neurol* 2012; 259 (1): 175-177.
20. Schwarz TF, Jäger G, Gilch S, Pauli C. Serosurvey and laboratory diagnosis of imported sandfly fever virus, serotype Toscana, infection in Germany. *Epidemiol Infect* 1995; 114 (3): 501-510.
21. Santos L, Simões J, Costa R, Martins S et al. Toscana virus meningitis in Portugal, 2002-2005. *Euro Surveill* 2007; 12(6): E3-4.
22. Amaro F, Luz T, Parreira P, Marchi A et al. Serological evidence of Toscana virus infection in Portuguese patients. *Epidemiol Infect.* 2012; 140(6):1147-1150. doi: 10.1017/S0950268811001403.



# IV. DOENÇAS ASSOCIADAS A CARRAÇAS



# VIROSES TRANSMITIDAS POR CARRAÇAS

Maria João Alves

## Introdução

**A**s carraças podem ser vetores de muitos agentes virais na Europa, como o vírus da Encefalite Transmitida por Carraças (TBE), vírus Dhori, Thogoto e vírus da Febre Hemorrágica Crimeia-Congo (CCHF), entre outros.

Alguns destes vírus provocam sinais e sintomas neurológicos mais ou menos severos, outros são agentes etiológicos de febres hemorrágicas.

## Taxonomia e distribuição

O vírus TBE (Família Flaviviridae, género *Flavivirus*) é mantido na natureza em ciclos que envolvem hospedeiros vertebrados silváticos e carraças da espécie *Ixodes ricinus*, na Europa e *Ixodes persulcatus* e *Haemaphysalis concinna*, na Rússia.

Este vírus tem sido identificado em 25 países, da Europa central e ocidental ao norte da Ásia [1]. No sul da Europa, nomeadamente sul de França, Espanha e Portugal, apesar da presença de *Ixodes ricinus*, nunca foram identificados casos humanos autóctones ou vetores infetados com o vírus TBE.

Os vírus Dhori e Thogoto pertencem à Família *Orthomyxoviridae*, género *Thogotovirus*, tendo cerca de 15-20% de homologia com o vírus da gripe. O vírus Dhori foi isolado em Portugal, em 1971, a partir de carraças *Hyalomma marginatum*, colhidas em bovinos, na Vidigueira [2] e o vírus Thogoto foi isolado, em 1978, de carraças *Rhipicephalus sanguineus*, colhidas em cabras, em Vila Viçosa [3]. Tanto o vírus Dhori, como o Thogoto, têm uma ampla distribuição geográfica na Índia e Ásia (Dhori) e em África (Thogoto), mas muito restrita na Europa, tendo sido identificados em Portugal, Itália e sul da Rússia [4, 5].

O vírus da CCHF (Família Bunyaviridae, género *Nairovirus*) foi identificado em mais do que 30 espécies diferentes de carraças, no entanto, provou-se que os vetores principais são as carraças do género *Hyalomma* [6], existente em abundância em Portugal.

---

O vírus da CCHF, cuja distribuição geográfica coincide com a distribuição geográfica do género *Hyalomma*, foi identificado em África, Médio Oriente, Centro e Sudoeste da Ásia e Europa, nomeadamente algumas regiões do sul da Rússia, Turquia, Bulgária, Grécia, Kosovo e Albânia. Existe evidência serológica da presença deste vírus na Hungria, França e Portugal [1,5].

## Patogénese

Nas infeções por vírus TBE, depois de um período de incubação de sete a 14 dias, os doentes desenvolvem, numa primeira fase, uma síndrome gripal, com febre, cefaleias, artralgias, lombalgias com probabilidade de náuseas e vómitos, que pode durar, em média quatro dias [7,8], depois de cerca de oito dias sem sintomas, numa segunda fase, ocorrem em 80% dos doentes, encefalites e meningoencefalites. A taxa de mortalidade na Europa é inferior a 1% [1]. A vacina para o vírus TBE é largamente utilizada em toda a Europa central nas populações em risco.

Os vírus Dhori e Thogoto são vírus com semelhanças morfológicas e genéticas ao vírus Influenza. Em humanos a infeção por vírus Dhori pode provocar síndrome febril, cefaleias, fraqueza, dor retro orbital e encefalite. O vírus Dhori, além de ser transmitido por carraças também pode ser transmitido pessoa a pessoa [4]. O vírus Thogoto pode provocar doença grave com meningoencefalite e, provavelmente, pode também ser transmitido pessoa a pessoa.

A patogénese das infeções por vírus CCHF não está esclarecida devido ao facto de este vírus exigir condições de biossegurança nível quatro (BSL 4) e à ausência do modelo animal.

Depois de um período de incubação, que depende da via de exposição, de um a três dias por picada de carraça, de cinco a seis dias por exposição a sangue infetado, o doente passa por uma fase I - pré-hemorrágica (febre alta súbita, arrepios, cefaleias severas, tonturas, fotofobia, dores dorsais e abdominais, náuseas, vómitos, diarreia, perda de apetite, pode também ter alterações de comportamento, confusão, agressividade ou mesmo violência, alterações cardiovasculares, nomeadamente bradicardia e tensão baixa) três a seis dias depois, seguida de II - fase hemorrágica (manifestações hemorrágicas, de petéquias a equimoses extensas, sobretudo tronco e extremidades, melena, hematemeses, epistaxis, fezes tipo borras de café, hemorragias na vagina, gengivas e, nos casos mais severos, no cérebro). Quinze a 20 dias após início dos sintomas o doente inicia a fase III - fase convalescente (fraqueza prolongada e acentuada, pulso

fraco, às vezes perda de cabelo, polineurite, cefaleias, tonturas, náuseas, falta de apetite, de visão e de audição e perda de memória).

A mortalidade na Febre Hemorrágica Crimeia-Congo é de 30-50%. A mortalidade na infecção nosocomial é mais elevada devido, provavelmente, à dose viral da inoculação.

Não existem estudos clínicos completos para o tratamento da CCHF, no entanto já foi testada imunoterapia e ribavirina.

### **Diagnóstico laboratorial**

Para o diagnóstico laboratorial do vírus TBE são especialmente importantes as técnicas de diagnóstico indireto, para a detecção de anticorpos IgM, normalmente no decorso da segunda fase da doença, por imunofluorescência indireta (IFA) ou ensaios imunoenzimáticos (ELISA) no soro e LCR. Os anticorpos IgM podem-se manter por períodos superiores a 10 meses, tanto nos indivíduos naturalmente infetados como nos vacinados [1]. O diagnóstico direto, por isolamento ou RT-PCR no caso do vírus TBE, ao contrário dos outros Flavivírus, não é útil, uma vez que o doente só recorre ao clínico no período pós-virémia, segunda fase da doença, e porque as técnicas existentes não são sensíveis [9].

Os anticorpos IgM e IgG contra os vírus Dhori e Thogoto podem ser identificados por IFA ou ELISA desenvolvida nos laboratórios, não existindo Kits comerciais.

O vírus da CCHF pode ser identificado por biologia molecular até 16 dias depois do início dos sintomas. As técnicas para isolamento do vírus, só podem ser realizadas em laboratório de nível de segurança 4. Os anticorpos IgM e IgG são detetáveis, por IFA ou ELISA, sete dias depois do início da doença. Os anticorpos IgM permanecem por quatro meses e os IgG até cinco anos. Os casos fatais de CCHF raramente têm serologia positiva.

O diagnóstico laboratorial, epidemiologia e investigação de vírus transmitidos por carraças (Dhori, Thogoto, TBE) em humanos e carraças são realizados, desde 1991, no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. O diagnóstico indireto e o direto de infeções pelo vírus da CCHF estão também disponíveis neste laboratório.

---

## Situação em Portugal

No CEVDI/INSA nunca foram identificados laboratorialmente casos autóctones de TBE, apesar de serem, com frequência, detetados anticorpos IgG vacinais ou de infeção natural.

Num trabalho realizado por Filipe e colaboradores em 1985 [5] refere-se a presença de anticorpos contra Dhori, Thogoto, Bhanja e vírus da CCHF na população portuguesa.

Mais recentemente, nos anos 90, foram identificados, menos do que cinco casos de infeções recentes por vírus Dhori e Thogoto.

No caso das infeções por CCHF, com pedidos de diagnóstico laboratorial bastante raros, todos os resultados têm sido negativos. No entanto o facto de anteriormente terem sido identificados três casos de serologia positiva, uma com história clínica compatível [5] em Cuba, Alentejo, e o facto da carraça vetor ter uma ampla distribuição geográfica colocou Portugal nos mapas de distribuição de CCHF como zona em risco o que deve levar a uma vigilância ativa por parte da comunidade médica e pelo laboratório.

## Bibliografia

1. Charrel RN, Attoui H, Butenko AM, Clegg JC, Deubel V, et al. *Clinical Microbiology and Infection* 2004; 10: 1040-1055.
2. Filipe AR and Casals J. Isolation of Dhori virus from *Hyalomma marginatum* ticks in Portugal. *Intervirology* 1979; 11: 124-127.
3. Filipe A R and Calisher CH. Isolation of Thogoto virus from ticks in Portugal. *Acta virologica* 1984; 28: 152-155.
4. Hubálek Z, Rudolph I. Tick-borne viruses in Europe. *Parasitology research* 2012; 111: 9-36.
5. Filipe AR, Calisher CH, Lazuick J. Antibodies to Congo-Crimean haemorrhagic fever, Dhori, Thogoto and Bhanja viruses in southern Portugal. *Acta Virol.* 1985; 29(4): 324-328.
6. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol* 1979; 15: 307-417.
7. Gunther G, Haglund M, Lindquist L, Forsgren M, Sko Idenberg B. Tick-borne encephalitis in Sweden in relation to aseptic meningoencephalitis of other etiology: a prospective study of clinical course and outcome. *J Neurol* 1997; 244: 230-238.
8. Kaiser R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994-98: a prospective study of 656 patients. *Brain* 1999; 122: 2067- 2078.
9. Puchhammer-Stock E, Kunz C, Mandl CW, Heinz FX. Identification of tick-borne encephalitis virus ribonucleic acid in tick suspensions and in clinical specimens by a reverse transcription-nested polymerase chain reaction assay. *Clin Diagn Virol* 1995; 4: 321-326.

# FEBRE RECORRENTE ENDÉMICA OU ASSOCIADA A CARRAÇAS

Isabel Lopes de Carvalho; Maria Sofia Núncio

## Introdução

**A**s borrelíias patogénicas para o homem são classificadas em dois grandes complexos: febres recorrentes e borreliose de Lyme, ambos distintos pelos respetivos vetores, reservatórios e quadros clínicos.

A febre recorrente transmitida por carraça é uma infeção causada por espécies de *Borrelia* do grupo das febres recorrentes e transmitida pelo género *Ornithodoros*. Esta doença é caracterizada por episódios recorrentes de febre e por sintomas inespecíficos como: dores de cabeça, mialgia, artralgia, arrepios e dores abdominais e é endémica em alguns países africanos [1,2].

Em Portugal, a doença foi confirmada pela primeira vez em 1942, provavelmente introduzida a partir do sul de Espanha, onde era relativamente frequente [1].

Na Península Ibérica *B. hispanica* é o agente etiológico da febre recorrente e o vetor é a espécie *O. erraticus*. Em Portugal, desde 1961 não há notificação de casos humanos, no entanto a doença continua a não ser diagnosticada ou a ser confundida com outras infeções.

## Taxonomia e distribuição

As bactérias do género *Borrelia* distinguem-se das restantes bactérias da família Spirochaeteceae por serem maiores, possuírem menor número de flagelos e menor número de espirais. Estas espiroquetas, de formato helicoidal e móveis, são Gram negativas e microaerófilas [3].

A febre recorrente transmitida por carraça é endémica em várias partes do Mundo. A infeção persiste dentro de ciclos enzoóticos que juntamente com a longevidade das carraças a vão perpetuando. A introdução do Homem nestes ambientes pode resultar na transmissão de febre recorrente.

---

Tipicamente a carraça do género *Ornithodoros* está associada a suínos e roedores e podem alimentar-se numa variedade de vertebrados de sangue quente, incluindo o Homem [4]. A sua atividade decresce durante o inverno e aumenta com o aumento das temperaturas, durante a primavera-verão [5].

*B. hispanica* está presente em Espanha, Portugal, Chipre, Grécia e Norte de África, sempre associada a *O. erraticus* [6]. Os pequenos roedores e os porcos são os principais reservatórios da bactéria [1,3,6,7].

## Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da febre recorrente é dificultado pela enorme diversidade de estirpes de borrelíias e a constante emergência de variantes antigénicas.

De acordo com os critérios laboratoriais de diagnóstico, o diagnóstico direto deve ser feito pela observação de espiroquetas, seja numa gota de sangue periférico colhido durante o período febril por microscopia de campo escuro, ou em esfregaços de sangue corados com Giemsa ou por isolamento de espiroquetas após inoculação em meio axénico ou em animais de laboratório [1].

Durante o início do surto febril é quando se encontram o maior número de borrelíias no sangue, pois com a ocorrência dos subseqüentes episódios febris, o número de espiroquetas diminui, tornando mais difícil a sua deteção. Entre os acessos febris, as borrelíias que resistiram à resposta imunitária do hospedeiro vão escassear ou desaparecer da corrente sanguínea pelo que é mais difícil a sua observação.

Contudo, ao contrário do que acontece para a borreliose de Lyme, estas borrelíias encontram-se com uma elevada frequência na corrente sanguínea, sendo os métodos diretos os que apresentam maior sensibilidade e conseguem discriminar entre as várias espécies de *Borrelia* sendo por isso importantes no diagnóstico laboratorial.

Atualmente encontram-se descritos vários protocolos de PCR, os mais utilizados tem como alvo a região intergénica entre o fragmento 16S e 23S e o gene 16S rDNA [8].

Os métodos serológicos não estão padronizados para o diagnóstico de febre recorrente pois apresentam problemas de sensibilidade e de especificidade [1].

## Situação em Portugal

Em Portugal o primeiro caso humano foi descrito em 1942 e *B. hispanica* foi isolada pela primeira vez numa carraça [9]. Possivelmente a febre recorrente transmitida pela

carraça existiu durante décadas no entanto nunca foi diagnosticada e foi possivelmente confundida com malária [10]. Contudo, muitos casos foram diagnosticados e estudos realizados permitem confirmar que se trata de uma doença sazonal, com um pico entre Julho e Agosto [10]. Durante décadas a febre recorrente foi uma doença endémica na Península Ibérica, com uma incidência elevada nas regiões Sul [1]. Devido a um surto do vírus da Febre Suína Africana em 1960, que causou uma taxa de mortalidade elevada nas populações de hospedeiros, *Sus scrofa*, as populações de vetores diminuíram drasticamente e conseqüentemente o número de casos humanos, sendo o último caso humano reportado em 1961 [1].

Recentemente, *B. hispanica* foi detetada em *O. erraticus* (2,2%) numa pocilga na região do Alentejo, provando que o agente etiológico continua em circulação em Portugal e pode ser responsável por alguns casos de febre indeterminada ou de causa desconhecida [8]. Recentemente foi demonstrado que os hospedeiros mais comuns são os porcos, o Homem e por último os bovinos e ovelhas [7]. No entanto, continua a ser consensual que *S. scrofa* tem um papel proeminente como hospedeiro vertebrado, o que é consistente com as observações feitas no campo e evidencia o papel destes animais na manutenção da densidade elevada da população de *O. erraticus* e conseqüentemente das zoonoses transmitidas por estes. Pode-se assim concluir que a infeção continua ativa em Portugal contudo com baixa prevalência [7].

O diagnóstico laboratorial desta patologia está disponível no CEVDI/INSA. O número de pedidos anualmente é muito reduzido, uma vez que se trata de uma doença subdiagnosticada e muitas vezes autoremissiva.

## Bibliografia

1. David de Morais J, Lopes de Carvalho I, Nuncio MS. Febre recorrente hispano-africana em Portugal: Escorço histórico e epidémico-clínico. *Medicina Interna*. 2007; 14: 170-178.
2. Sarih M, Garnier M, Boudebouch N, Bouattour A, Rihani A, Hassar M, Gern L, Postic D, Cornet M. *Borrelia hispanica* Relapsing Fever, Morocco. *Emerg Infect Dis*. 2009;15: 1626-1629.
3. Soares CO, Ishikawa MM, Fonseca AH e Yoshinari NH. Borrelioses, agentes e vetores. *Pesq Vet Bras*. 2000; 20: 1-19.
4. Encinas Grandes A, Oleaga Pérez A, Pérez Sanchez e Astigarraga A. Datos sobre el reservatorio y vector de la peste porcina Africana, *Ornithodoros erraticus*. *Anaporc*. 1993; 121: 38-47.
5. Leitão JA. Prática de combate às parasitoses dos animais em Portugal (Vol I: aracno-entomozozoses). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1978.
6. Rebautet S e Parola P. Epidemiology of relapsing fever borreliosis in Europe. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2006;48: 11-15.

- 
7. Palma M, Lopes de Carvalho I, Osório H, Zé-Zé L, Cutler SJ, Nuncio MS. Portuguese Hosts for *Ornithodoros erraticus* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13:775-777.
  8. Palma M, Lopes de Carvalho I, Figueiredo M, Amaro F, Boínas F, Cutler SJ, Nuncio MS. *Borrelia hispanica* in *Ornithodoros erraticus*, Portugal. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 18(7):696-701.
  9. Fonseca F, Pinto MR, Lacerda (Filho) A. Febre recorrente em Portugal. *Medicina Contemporânea* 1943; 61: 78-80.
  10. Cambournac FJC, Soares AC, Roque RA, Rés JF, Queiroz SA. Contribuição para o estudo da febre recorrente no continente português. *Anais Inst Med Trop.* 1953; 10 (3, fasc. 1): 645-654.

# BORRELIOSE DE LYME

Maria Sofia Núncio; Isabel Lopes de Carvalho

## Introdução

A borreliose de Lyme é uma doença com importância epidemiológica, clínica e social, especialmente na Europa e nos Estados Unidos da América (EUA). É causada pela infeção com espiroquetas do complexo *Borrelia burgdorferi* sensu lato (sl), que atualmente engloba 20 espécies diferentes (Quadro 1), e que foi detetada pela primeira vez no início dos anos oitenta do século passado, no artrópode vetor, o ixodídeo *Ixodes scapularis* [1,2].

No Homem, apresenta-se como uma doença multisistémica e multifásica, podendo afetar vários órgãos e sistemas tais como a pele, sistema nervoso, articulações e o coração [3,4]. Devido à diversidade dos sintomas clínicos, muitas vezes é considerada no diagnóstico diferencial de outras patologias como esclerose múltipla, sífilis, etc. O diagnóstico laboratorial engloba métodos diretos e indiretos para deteção do contacto com o agente. O tratamento é realizado pela aplicação de antibióticos e na maioria dos casos resulta na cura do doente. Alguns doentes desenvolvem sintomas crónicos, tais como artrite, que não respondem aos antibióticos. Atualmente, está documentado que a borreliose de Lyme representa um encargo considerável para a saúde pública na Europa, afetando todos os anos milhares de pessoas [5]. Em Portugal, *B. lusitaniae* é a espécie mais prevalente nas carraças [6,7,8,9]. No entanto, outras espécies como *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* ss e *B. turdi* também já foram detetadas [6,10,11].

## Epidemiologia

A borreliose de Lyme é uma zoonose de distribuição mundial com a maior parte dos casos humanos descritos no Hemisfério Norte.

*B. burgdorferi* s.l é mantida na Natureza num ciclo que envolve ixodídeos do género *Ixodes*, como vetores. Estes artrópodes apresentam um ciclo trifásico, em que as larvas e ninfas se alimentam durante dois a quatro dias, tempo suficiente para completar a refeição sanguínea e assegurar a transmissão da bactéria principalmente em roedores e aves, enquanto os adultos se alimentam numa grande variedade de animais de maiores

dimensões como veados, javalis e raposas, necessitando nesta fase de cinco a sete dias para completar a hematofagia. A duração do período de alimentação contribui para a sua dispersão geográfica, em simultâneo com a movimentação do hospedeiro vertebrado. As aves, sobretudo as migratórias, podem transportar os ixodídeos e as borrélias para longas distâncias e assim disseminá-las por todo o mundo. A transmissão da bactéria é essencialmente transtadial, sendo a transmissão transovárica rara e pouco eficiente, pelo que os ixodídeos não são considerados reservatórios de *B. burgdorferi* s.l. Parece existir alguma associação entre algumas espécies de borrélias e os seus hospedeiros vertebrados: *B. afzelii* e os micromamíferos, *B. garinii* e aves e *B. lusitaniae* e lagartixas, possivelmente devido à existência de diferentes sensibilidades ao complemento do soro. O vetor varia consoante a localização geográfica e as genoespécies presentes (Quadro 6).

Quadro 6: Distribuição geográfica das espécies do complexo *Borrelia burgdorferi* s.l. e seus principais vetores

Genoespécie	Distribuição geográfica	Vetor
<i>B. afzelii</i>	Europa	<i>I. ricinus</i>
	China	<i>I. persulcatus</i>
<i>B. americana</i>	EUA	<i>I. minor</i>
<i>B. andersonii</i>	EUA	<i>I. dentatus</i> ; <i>I. scapularis</i> ; <i>I. pacificus</i> ; <i>I. neotomae</i> ; <i>I. spinipalpis</i> ;
<i>B. bavariensis</i>	Europa	<i>I. ricinus</i>
<i>B. bissettii</i>	Europa	<i>I. ricinus</i>
<i>B. burgdorferi</i> s.s.	Europa	<i>I. ricinus</i>
	EUA	<i>I. scapularis</i> ; <i>I. pacificus</i> ; <i>I. dentatus</i> ;
<i>B. californiensis</i>	EUA	<i>I. pacificus</i> ; <i>I. spinipalpis</i>
<i>B. carolinensis</i>	EUA	<i>I. minor</i>
<i>B. chilensis</i>	Chile, América do Sul	<i>I. stilesi</i>
<i>B. finlandensis</i>	Europa	<i>I. ricinus</i>
<i>B. garinii</i>	Europa	<i>I. ricinus</i> ; <i>I. uriae</i> ; <i>I. hexagonus</i> ; <i>I. trianguliceps</i>
	China, Ásia	<i>I. persulcatus</i>
<i>B. kurtenbachii</i>	EUA	<i>I. scapularis</i> ;
<i>B. lusitaniae</i>	Europa	<i>I. ricinus</i>
	Norte de África	
<i>B. japonica</i>	Japão	<i>I. ovatus</i>
<i>B. sinica</i>	China	<i>I. granulatus</i>
<i>B. spielmanii</i>	Europa	<i>I. ricinus</i>
<i>B. tanukii</i>	Japão	<i>I. tanuki</i>
<i>B. turdi</i>	Japão	<i>I. turdus</i>
<i>B. valaisiana</i>	Europa	<i>I. ricinus</i> ; <i>I. columnae</i>
	Ásia	<i>I. persulcatus</i> ; <i>I. columnae</i>
<i>B. yangtze</i>	Ásia	<i>I. granulatus</i> ; <i>Hae. longicornis</i>

Atualmente a borreliose de Lyme é considerada a doença de transmissão vetorial com maior incidência na América do Norte e na Eurásia. Nos EUA a taxa de incidência pode variar entre 20 a 100 casos por 100 000 habitantes [5]. Ao contrário do que acontece nos EUA, na Europa, excetuando em alguns países como Portugal, não é uma doença de declaração obrigatória. A sua incidência pode variar entre os 0,04 -155 por 100 000 habitantes consoante o país em questão, sendo que na Alemanha, Áustria, Eslovénia e Suécia são os países onde se estima que a incidência seja mais elevada. Também já foram descritos casos na Rússia, China, Japão e Coreia, países endémicos para esta patologia. Na Austrália, África e América do Sul, apesar de já existirem estirpes isoladas a partir do artrópode vetor, não existem casos humanos descritos pelo que a doença não é considerada endémica. Em Portugal, o primeiro caso clínico foi descrito em 1989 e a espécie de borrélia detetada com maior prevalência nos ixodídeos vetores é *B. lusitaniae*. A incidência da doença varia entre 0,04 e 0,4 casos por 100 000 habitantes [2, 11].

Os dados relativos aos pedidos de diagnóstico que foram requisitados ao CEVDI/ INSA encontram-se resumidos no quadro 8. Atualmente existem vários laboratórios que realizam o diagnóstico desta patologia pelo que o número de solicitações aos laboratórios do INSA tem diminuído consideravelmente em relação a anos anteriores, o que impede a noção exata da incidência da borreliose de Lyme no nosso País. Uma vez que a notificação é unicamente realizada pelo clínico e que o fenómeno de subnotificação está amplamente documentado, no futuro, seria útil a notificação laboratorial de todos os casos de borreliose de Lyme.

### **Fisiologia e estrutura/replicação/morfologia**

O agente etiológico da borreliose de Lyme foi descrito no princípio dos anos oitenta, no que se pensava ser um surto de artrite reumatóide na localidade de Lyme (EUA). Na atualidade conhecem-se 20 genospecies de *B. burgdorferi* s.l. (Quadro 6), O genoma completo da estirpe de referência B31 de *B. burgdorferi* s.s. é de aproximadamente 1,5 Mb e engloba um cromossoma linear de 950 kb, 9 plasmídeos circulares e 12 lineares. As características mais marcantes do seu genoma residem no elevado número de sequências que codificam as proteínas externas (*Outer surface protein- Osp*), que vão desde OspA até OspF, assim como a elevada quantidade de pseudogenes ou genes incompletos. As borrélias deste grupo crescem em meio líquido axénico Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) a 30-34°C em ambiente microaerófilo e replicam-se por divisão transversal a cada 8-12h durante a fase logarítmica do seu crescimento.

---

## Patogénese e Imunidade

Durante muitos anos pensou-se que somente três espécies de borrelíias: *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii* tinham ação patogénica para o Homem. Estudos recentes demonstraram que pelo menos oito genospecies (*B. afzeli*, *B. bavariensis*, *B. burgdorferi* ss, *B. garinii*, *B. lusitaniae*, *B. bissettii*, *B. spielmanii* e *B. valaisiana*) estão associadas à borreliose de Lyme, de onde se destaca a espécie mais prevalente em Portugal, *B. lusitaniae* [1, 10], que em 1992 foi isolada pela primeira vez nos laboratórios do CEVDI/INSA, a partir de exemplares de *Ixodes ricinus* colhidos na região [12].

A disseminação de *B. burgdorferi* s.l. a vários órgãos depende da sua capacidade de aderir e penetrar no endotélio e na barreira hematoencefálica. Para se adaptar aos diferentes ambientes, utiliza a sua capacidade de realizar o *switch* de proteínas externas (Osp). O desenrolar típico da doença processa-se em fases distintas. Após a picada por ixodídeo, entre 50-80% dos doentes desenvolvem um eritema migratório (EM). Desde esta lesão primária ou foco de entrada, produz-se uma disseminação hematogénea precoce, responsável pelas outras manifestações observadas durante esta fase, como sejam lesões cutâneas múltiplas, febre, conjuntivite, cefaleia, meningismo e artromialgias. Associadas a esta disseminação podem ocorrer outras manifestações sistémicas de forma aguda ou subaguda, como meningite, miocardite, hepatite, miosite e mais raramente artrite. Nesta fase, a imunidade celular aumenta a sua atividade em resposta à presença de antígenos da borrelíia. Observa-se ainda um aumento inicial das imunoglobulinas IgM contra flagelina, que ocorre geralmente entre a terceira e sexta semanas de infeção. A esta resposta associa-se frequentemente uma ativação dos linfócitos B, pelo que se deteta um aumento das IgM totais e presença de crioglobulinas, junto com os imunocomplexos circulantes e a presença ocasional de anticorpos anti-cardiolipina e fator reumatóide. Embora este esquema de evolução multifásica seja válido para a maioria dos doentes, observam-se exceções, originadas pela rápida disseminação da bactéria, o que provoca uma doença concomitante de vários órgãos e sistemas. Até ao momento, desconhece-se uma explicação plausível para a relação entre o diminuto número de borrelíias encontradas no tecido infetado e a gravidade da doença, sobretudo na fase tardia. Sabe-se contudo que as borrelíias podem permanecer na pele durante grandes períodos de tempo, sem causar doença sistémica até que se produza uma quebra das defesas do hospedeiro [3,13].

## Manifestações clínicas

A infecção causada por *B. burgdorferi* s.l. pode ser subclínica (assintomática) ou apresentar um largo número de manifestações clínicas, dependendo dos tecidos afetados, duração da infecção, fatores relacionados com o hospedeiro tais como vulnerabilidade do sistema imunitário e fatores imunogenéticos, que podem predispor o desenvolvimento de complicações. Durante o curso da doença, à semelhança do que ocorre em outras infecções causadas por espiroquetídeos, podem ocorrer exacerbações e remisões, ocorrendo também formas crónico-recorrentes [3, 4, 13].

Dado o seu carácter evolutivo, muitos autores dividiram a doença em fases distintas, fase precoce e fase tardia, dividindo-se a primeira em fase precoce localizada e fase precoce disseminada (Quadro 7). Contudo, a progressão de uma fase recente para uma fase tardia nem sempre é inevitável, mesmo sem a aplicação de tratamento.

A fase precoce localizada inicia-se entre três e 60 dias após a picada de ixodídeo. A primeira manifestação clínica da doença ocorre ao nível da pele, no local onde ocorreu a picada do ixodídeo, com o aparecimento do Eritema migratório (EM). Esta lesão cutânea, que consiste numa lesão anelar, extensiva, centrífuga, de diâmetro superior a 5 cm, habitualmente com um centro claro e limitado por um círculo eritematoso brilhante pode atingir cerca de 75 cm de diâmetro. O EM pode ser fugaz e pouco visível; pode estar acompanhado de outros sintomas menos característicos, vulgarmente denominados “gripais”, como por exemplo febre, astenia, mialgias, artralgias, etc. Com menos frequência pode aparecer tosse não produtiva. Esta fase também pode ser assintomática, o que dificulta o diagnóstico correto e rápido da doença [3, 4, 13].

Na fase precoce disseminada as borrelíias entram na corrente sanguínea e no sistema linfático, o que permite a infecção de outros órgãos e sistemas, nomeadamente o sistema nervoso, muscular, articular e o coração. Nesta fase, a astenia e as dores músculo-esqueléticas são ainda mais frequentes, mantendo estas últimas o seu carácter migratório. Também é referida a observação de eritemas múltiplos, geralmente com diâmetro inferior ao EM. A sintomatologia neurológica acentua-se, podendo aparecer meningite, nevrites periféricas ou dos nervos cranianos, uni ou bilaterais, mielite transversa aguda, neuromiosite, entre outros. Esta sintomatologia pode ocorrer isolada ou conjuntamente, sendo relativamente frequente na Europa a “Síndrome de Garin-Bujadoux-Bannwarth” (meningopoliradiculalgias). Podem também ocorrer manifestações oftalmológicas, especialmente conjuntivite e irite. O envolvimento cardíaco ocorre com certa frequência, com graus variáveis de bloqueio aurículo-ventricular. Pode ainda ocorrer compromisso hepático, com quadro clínico semelhante ao de hepatite vírica moderada. Ao nível dermatológico, alguns autores assinalam o aparecimento de lesões

múltiplas não características, sem centro claro e que podem atingir qualquer parte do corpo, exceto as palmas das mãos e plantas dos pés.

A fase tardia ocorre após vários meses e até anos após o início da infeção. A artrite de Lyme representa a principal manifestação crónica encontrada nos EUA. A oligoartrite atinge, preferencialmente, as grandes articulações, em especial os joelhos. Na Europa, as doenças do foro neurológico são muito mais frequentes. Já foram descritas manifestações como encefalites, meningites crónicas, pseudotumores cerebrais, quadros psicóticos e síndromas semelhantes a esclerose múltipla. A acrodermatite crónica atrofiante (ACA) é a forma dermatológica crónica da borreliose de Lyme. Esta lesão só é encontrada em alguns países da Europa e na Ásia. É discutível se a observação prolongada dos sintomas corresponde à existência de borreliose de Lyme crónica (infeção ativa que persiste por longos períodos, mesmo após um tratamento por antibióticos, através de episódios recorrentes) ou a uma síndrome pós-Lyme [3, 4, 13].

Quadro 7: Fases evolutivas da borreliose de Lyme

Fase	Sinais clínicos
Fase Precoce Localizada	Presença de EM ou linfocitoma borreliano, com ou sem linfadenopatia ou outros sintomas
Fase Precoce Disseminada	Presença de EM múltiplos ou manifestações neurológicas (meningite com neuropatia), cardíacas (bloqueio auriculoventricular ou articulares (artrite recorrente)
Fase Tardia	Presença de ACA, artrite crónica das grandes articulações com pelo menos 6 meses de duração e neuroborreliose

## Diagnóstico laboratorial

A heterogeneidade dos agentes etiológicos de borreliose de Lyme constitui um desafio para a realização do diagnóstico microbiológico. Para além do facto das suas manifestações se poderem confundir com as de várias outras doenças como esclerose múltipla, lúpus, fibromialgias, síndrome de fadiga crónica, doença de Alzheimer e neurosífilis, este diagnóstico é difícil pois a resposta individual à infeção varia muito de pessoa para pessoa. As principais manifestações clínicas parecem diferir, quer na frequência, quer no tipo, consoante a espécie de *B. burgdorferi* s.l. prevalente na região geográfica e também devido às provas serológicas existentes até ao momento não apresentarem 100% de sensibilidade e especificidade. A deteção de anticorpos específicos é a aproximação mais utilizada, enquanto os métodos diretos como a cultura do agente ou a deteção dos ácidos nucleicos só recentemente foi introduzida no diagnóstico de rotina [3, 5, 13].

A borreliose de Lyme não se caracteriza por nenhuma alteração característica no sangue periférico. A maioria dos doentes tem uma taxa de sedimentação normal ou pouco elevada, observando-se o mesmo em relação à contagem dos glóbulos brancos. Por vezes, durante a fase de infeção ativa, são detetados níveis elevados de crioglobulinas. No que respeita ao líquido cefaloraquidiano, na fase precoce observa-se uma pleocitose moderada, quase sempre de linfócitos. Nos casos de infeção crónica, é condição essencial a ocorrência de pleocitose. Os critérios laboratoriais de diagnóstico incluem o isolamento do agente a partir de amostras clínicas ou a demonstração de títulos significativos de anticorpos IgG e IgM contra *B. burgdorferi* s.l. no soro ou no líquido cefaloraquidiano (LCR) ou a alteração significativa dos títulos de anticorpos IgM e IgG contra amostras de soro ou LCR colhidas na fase aguda e convalescente.

O diagnóstico biológico pode ser direto, quando se deteta a bactéria ou DNA do agente em estudo, ou indireto, quando se detetam anticorpos específicos contra esse agente [11]. No Quadro 8 encontram-se sumarizados os métodos laboratoriais recomendados para cada manifestação da borreliose de Lyme. No INSA, o diagnóstico indireto de borreliose de Lyme é realizado no CEVDI e no laboratório de imunologia do INSA-Porto. As técnicas de diagnóstico direto (isolamento e deteção molecular) são executadas no CEVDI.

## Tratamento, Prevenção e Controlo

O tratamento da borreliose de Lyme passa pela aplicação de antibióticos, sabendo-se contudo que a eficácia destes decresce com o tempo de evolução da doença, independentemente do antibiótico que se use. Em trabalhos recentes sobre a terapêutica a aplicar na borreliose de Lyme, usualmente recomenda-se que as infeções precoces sejam tratadas com uma penicilina oral ou por tetraciclinas, durante 10 a 20 dias, dependendo da rapidez da resposta do doente. Nas infeções disseminadas, o mesmo tratamento é aplicado, exceto se existirem complicações graves, onde será recomendado um tratamento intravenoso de tetraciclinas, durante 10 a 14 dias [5, 13].

Por vezes observam-se fracassos da terapia e pode ser necessária uma repetição do tratamento. A antibioterapia não é eficaz nos casos de fibromialgia ou fadiga crónica associada ou desencadeada pela borreliose de Lyme.

A profilaxia da doença baseia-se sobretudo na educação das populações de modo a evitarem as picadas de carraças.

Ao nível pessoal, existem algumas regras básicas de fácil aplicação, cuja adoção constitui a medida mais eficaz em termos de prevenção da borreliose de Lyme. Essas

regras são: evitar áreas infestadas por ixodídeos, utilizar roupa clara para facilitar a visualização dos ixodídeos, inspecionar cuidadosamente as roupas e o corpo após passagem por áreas endémicas, evitar o uso de sapatos abertos, retirar imediatamente os ixodídeos, com o auxílio de uma pinça, agarrando a extremidade anterior do ixodídeo, o mais próximo possível da pele e fazendo um pequeno movimento de torsão, utilizar um repelente, inspecionar frequentemente os animais domésticos e retirar os ixodídeos, recorrer ao médico se for detetada alguma lesão dermatológica nos dias seguintes à picada por ixodídeo.

A vacina para a borreliose de Lyme, útil em algumas zonas em que a doença é endémica, foi retirada do mercado em 2002 por apresentar uma rentabilidade económica escassa [5].

Quadro 8: Evidência laboratorial aconselhada para validar o diagnóstico de borreliose de Lyme de acordo com a manifestação clínica

Termo	Evidência laboratorial essencial	Evidência clínica/laboratorial de suporte
Eritema migratório	Nenhuma	Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de biópsia de pele.
Linfocitoma borreliano (rare)	Seroconversão ou serologia positiva; histologia nos casos suspeitos	Histologia. Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de biópsia de pele. EM recente ou concomitante.
Acrodermatite crónica atroficante	Anticorpos IgG específicos no soro, com concentrações elevadas	Histologia. Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de biópsia de pele
Neuroborreliose de Lyme	Pleocitose e demonstração de síntese intratecal de anticorpos específicos	Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de líquido cefalorraquidiano. Síntese intratecal de anticorpos específicos IgM, e/ou IgG e/ou IgA. Anticorpos específicos no soro. EM recente ou concomitante.
Artrite de Lyme	Anticorpos IgG específicos no soro, com concentrações elevadas	Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de líquido sinovial e/ou tecido.
Cardite de Lyme	Anticorpos específicos no soro	Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de biópsia de tecido do endomiocardio. EM recente ou concomitante e/ou manifestações neurológicas.
Manifestações oculares	Anticorpos específicos no soro	Manifestações de borreliose de Lyme recentes ou concomitantes. Deteção de <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. por isolamento e/ou PCR a partir de líquido ocular.

Adaptado de Stanek et al., 2010 Clinical Microbiology and Infection.

## Situação em Portugal

Em Portugal, só em 1989, após a descrição do primeiro caso clínico foi iniciado o estudo desta doença no CEVDI/INSA. Hoje em dia, o estudo da borreliose de Lyme em Portugal continua a ser efetuado não só no CEVDI mas também em outros centros de investigação. Em 1993 foram isoladas as primeiras estirpes portuguesas de borrélias a partir do vetor *Ixodes ricinus* [12] que foram identificadas como pertencendo a uma espécie nova para a ciência, que recebeu o nome de *B. lusitaniae*. Entre 1990 e 2000, de acordo com os dados do INSA, o diagnóstico laboratorial permitiu detetar em média cerca de 50 novos casos/ano. Estudos efetuados utilizando técnicas de biologia molecular permitiram detetar DNA de *B. afzelli*, *B. valaisiana*, *B. garinii* e *B. burgdorferi* s.s. em exemplares de *I. ricinus* capturados na Ilha da Madeira. Em 1999, em reconhecimento da importância desta zoonose em saúde pública em Portugal, a Direção Geral de Saúde (DGS) incluiu-a na lista das Doenças de Declaração Obrigatória (DDO). Em 2004 foi isolada pela primeira vez uma estirpe de borrélia a partir de uma biópsia de pele humana. A identificação efetuada permitiu confirmar que se tratava da genoespécie *B. lusitaniae*, confirmando os resultados do modelo animal que apontavam a ação patogénica desta genoespécie [10].

No INSA, o diagnóstico indireto da borreliose de Lyme é realizado no CEVDI e no laboratório de imunologia do INSA-Porto. As técnicas de diagnóstico direto (isolamento e deteção molecular) são executadas apenas no CEVDI. No quadro 9 encontram-se sumarizados os resultados obtidos entre 2011 e 2013. Como se pode observar, o número de pedidos é maioritariamente para deteção de anticorpos específicos, sem dúvida por se tratar de uma amostra biológica de fácil obtenção e cujo diagnóstico é já bem conhecido pelos clínicos que a requisitam. No CEVDI a técnica de ELISA é utilizada como teste de triagem e o immunoblot como teste de confirmação. O número de pedidos para diagnóstico direto, sobretudo para deteção utilizando métodos moleculares aumentou por comparação com anos anteriores (dados não publicados). Contudo muitas vezes a amostra não é a mais indicada uma vez que em 90% dos casos o laboratório recebe amostras de sangue total, algumas vezes já após alguns dias de colheita, o que não é recomendado para este diagnóstico. O tipo de amostras recomendadas quando se solicita a deteção por PCR de *B. burgdorferi* si varia consoante a manifestação clínica, tal como se encontra descrito no quadro 8. Para o tipo de amostra adequada para a utilização da deteção molecular e a cultura de borrélias, é importante referir que as condições de colheita, a quantidade mínima de amostra necessária e as condições do transporte até ao laboratório, nomeadamente temperatura e tempo decorrido entre a

colheita e o processamento, condicionam muito o resultado da do teste. Assim, e uma vez que habitualmente são amostras que requerem a utilização de métodos invasivos para a sua obtenção, é aconselhável que antes de realizar a colheita se entre em contacto com o laboratório para prevenir a inviabilização da sua utilização.

Quadro 9: Amostras rececionadas no CEVDI e no laboratório de imunologia do INSA-Porto para diagnóstico laboratorial de borreliose de Lyme

Ano	Diagnóstico indireto		Diagnóstico direto	
	ELISA e IFA (n/pos/%)	Immunoblot (n/pos/%)	PCR (n/pos/%)	Isolamento (n/pos/%)
2011	416/113/27,2%	142/75/52,8%	148/0	5/0
2012	195/48/24,6%	92/38/41,3%	23/1/4,3%	0
2013	247/31/12,5%	99/46/46,5%	143/0	0
<b>Total</b>	<b>758/192/25,3%</b>	<b>333/159/47,7%</b>	<b>314/1/0,3%</b>	<b>5/0</b>

## Caso de estudo/ Caso clínico

Doente do género feminino, com lesões dermatológicas eritematosas múltiplas com mais de sete cm de diâmetro. Na altura do exame apresentava temperatura de 38°C, artralguas e cefaleias. A doente referiu ter uma atividade agrícola, estando frequentemente em contacto com animais e ter sido picada por carraça dois meses antes. Na altura, no sítio da picada observou uma lesão cujo aspeto era compatível com eritema migratório, que desapareceu espontaneamente após uma semana. Foi realizada uma colheita de sangue e a análise serológica permitiu detetar títulos elevados de anticorpos Ig G específicos contra *B. burgdorferi* sl. A realização de uma biopsia do reborde de uma lesão permitiu a deteção dos ácidos nucleicos de *Borrelia burgdorferi* ss.

## Bibliografia

1. Lopes de Carvalho I, et al. Vasculitis-like syndrome associated with *Borrelia lusitaniae* infection. *Clinical Rheumatology* 2008; 27: 1587-91.
2. Rudenko N, et al. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. *Ticks and Tick Borne Diseases*. 2011; 2:123-8.

3. Stanek G, *et al.* Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 2011; 17:69-79.
4. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. *Currents Problems in Dermatology* 2009; 37:51-110.
5. <http://www.eucalb.com/>, consultada em 27 de fevereiro de 2014.
6. Baptista S, *et al.* Lyme borreliosis spirochetes in questing ticks from mainland Portugal. *International Journal of Medical Microbiology* 2004; 37: 109-116.
7. Lopes de Carvalho I, *et al.* Detection of *Borrelia lusitaniae*, *Rickettsia* spp. IRS3 and *R. monacensis* and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* collected in Madeira Island, Portugal. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 2008; 8:575-579.
8. Milhano N, *et al.* Co-infections of *Rickettsia slovaca* and *R. helvetica* with *B. lusitaniae* in ticks collected in a Safari Park, Portugal. *Ticks and Tick Borne Diseases* 2010; 1: 172– 177.
9. Norte AC, *et al.* Birds as reservoirs for *Borrelia burgdorferi* s.l. in Western Europe: circulation of *B. turdi* and other genospecies in bird-tick cycles in Portugal. *Environ Microbiol.* 2013;15:386-97.
10. Collares-Pereira M, *et al.* First Isolation of *Borrelia lusitaniae* from a Human Patient. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42: 1316-1318
11. Lopes de Carvalho, I, Nuncio, MS. (2006). Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis at the Portuguese National Institute of Health (1990-2004). *Euro Surveill.* 11(10);pii=650.
12. Nuncio, MS; Péter, O; Alves, MJ; Bacellar, F e Filipe, AR. Isolamento e caracterização de borrelíias de *Ixodes ricinus* L. em Portugal. *Rev. Port. Doenç. Infec.* 1992; 16(3): 175-179.
13. Hytonen, J, Hartiala, P *et al.* (2008). Borreliosis: recent research, diagnosis, and management. *Scand. J. Rheumatol.* 37: 161-172.



# TULARÉMIA

Isabel Lopes de Carvalho, Carina Carvalho, Maria Sofia Núncio

## Introdução

A tularémia é uma zoonose causada pela bactéria *Francisella tularensis*. O agente etiológico é transmitido ao Homem por contacto direto com animais infetados, ar, água, alimentos contaminados ou por vetores hematófagos [1,2,3].

A primeira descrição desta bactéria ocorreu em 1912 no condado de Tulare, Califórnia, por George McCoy e Charles Chapin. Inicialmente, esta bactéria foi denominada *Bacterium tularense* sendo posteriormente designada *F. tularensis* em honra a Edward Francis, investigador que isolou o organismo pela primeira vez. Desde então tem sido descrita em várias localizações no Hemisfério Norte [1,2,3,4].

Com a emergência de *F. tularensis* em novos locais e populações e com o seu potencial uso em bioterrorismo, uma vez que se encontra classificado na lista de agentes de classe A do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), no último século o interesse da comunidade científica nesta bactéria cresceu e por isso o seu estudo tem-se intensificado [4,5].

Em Portugal, só em 1998, na sequência de um surto epidémico em Espanha, a Direcção Geral de Saúde emitiu um comunicado alertando os clínicos para a possibilidade da ocorrência desta zoonose no nosso país. Desde então o diagnóstico laboratorial desta patologia foi implementado e atualizado no CEVDI/INSA [1].

## Taxonomia e distribuição

*F. tularensis* é um pequeno cocobacilo Gram-negativo, pleomórfico, aeróbico, catalase-positivo, não móvel [2].

*Francisella* spp. pertence ao grupo gamma ( $\gamma$ )-proteobacteria e é classificada com base em características de crescimento, reações bioquímicas e propriedades de virulência [2,3]. A família *Francisellaceae* inclui três espécies do género *Francisella*, *F. hispaniensis*, *F. philomiragia* e *F. tularensis*. A espécie *F. tularensis* engloba três subespécies com diferentes níveis de patogenicidade e distribuição geográfica: *F. tularensis* subsp. *holarctica*, *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* e *F. tularensis* subsp.

---

*tularensis* [2,6]. Atualmente, a espécie *F. novicida* é considerada a quarta subespécie de *F. tularensis* [3,6,7,8,9,10]. No entanto, algumas objeções têm surgido a esta classificação com base em resultados de sequenciação do genoma que mostram uma evolução divergente das duas populações [11].

A tularémia é uma doença amplamente distribuída no Hemisfério Norte, com focos em algumas partes da América do Norte, Europa e Norte da Ásia. *F. tularensis* subsp. *tularensis* é encontrada predominantemente na América do Norte, apesar de já ter sido isolada na Europa [1,4]. *F. tularensis* subsp. *holarctica* está distribuída por todo o Hemisfério Norte e, recentemente, foi também detectada na Tâsmania (Austrália) [1,3,12]. *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* apresenta uma distribuição restrita à Ásia Central e *F. novicida* foi isolada na América do Norte, na Austrália e na Tailândia [3,7,13].

Na natureza, a infeção por *F. tularensis* é encontrada numa variedade de espécies animais incluindo lagomorfos, roedores, insectívoros, carnívoros, ungulados, marsupiais, aves, anfíbios, peixes e invertebrados. Os artrópodes, incluindo ixodídeos (*Dermacentor* spp., *Ixodes* spp. e *Amblyomma americanum*) e mosquitos (*Aedes*, *Culex* e *Anopheles*) são potenciais vetores. Os roedores e lagomorfos são apontados como os principais reservatórios desta bactéria [8,14,15,16].

As principais vias de transmissão incluem o contacto direto com tecidos ou fluidos de animais infetados, a picada de artrópodes e a ingestão de água ou comida contaminada. A transmissão pessoa a pessoa nunca foi descrita [2,17].

A verdadeira incidência de tularémia é desconhecida porque muitas vezes os casos não são notificados. Na Europa, em 2003 foi emitido um comunicado para que esta doença passasse a ser uma doença com vigilância epidemiológica (Decisão nº 2000/96/EC). Em Portugal, até à data não há nenhum caso notificado, no entanto desde 1997 que o CEVDI/INSA tem o diagnóstico laboratorial estabelecido, recebendo em média por ano cerca de 20 novos pedidos.

## Patogénese

*F. tularensis* é uma bactéria intracelular facultativa que pode invadir e multiplicar-se em diferentes tipos de células [3,18,19]. As células apresentadoras de antigénio, como os macrófagos e as células dendríticas são os alvos principais de *F. tularensis* no início da infeção [20]. A virulência da bactéria está diretamente relacionada com a sua capacidade para se replicar no citosol das células infetadas [21].

*F. tularensis* possui diferentes mecanismos através dos quais subverte a detecção pelo sistema imunitário do hospedeiro, na porta de entrada [21]: a membrana externa apresenta estruturas modificadas que lhe permitem evitar a interação com os recetores do hospedeiro associado à indução de inflamação; utiliza células alvo que não dispõem dos co-recetores que facilitam a ligação aos recetores que alertam as células do hospedeiro para a infeção; utiliza recetores que falham na iniciação da produção de citocinas pro-inflamatórias.

## Diagnóstico clínico

*F. tularensis* pode infectar o homem através da pele, inalação, mucosas e via gastrointestinal. O estabelecimento desta infeção depende da porta de entrada e do número de organismos [2,3,17]. O resultado pode variar desde casos assintomáticos a uma septicémia aguda seguida de morte rápida. As principais apresentações de doença incluem as formas ulceroglandular, glandular, oculoglandular, orofaríngea, pneumónica e tífica [2].

O período de incubação é habitualmente de 3 a 5 dias, mas pode variar entre um e 21 dias. O início de doença é usualmente brusco, com febre (38-40°C), cefaleias, arrepios de frio, rigidez da nuca, mialgias (predominantemente lombares), síndrome tipo gripal e odinofagia. Tosse seca e dor ou aperto retrosternais podem ocorrer associados a sinais objetivos de pneumonia, tais como expectoração, dispneia, taquipneia, dor na pleura ou hemoptise. Algumas vezes ocorrem ainda náuseas, vómitos e diarreia. A fase subsequente é caracterizada por suores, febre e arrepios de frio, astenia, anorexia e perda de peso [2].

Na forma ulceroglandular, a manifestação típica que surge depois do manuseamento de carcaças contaminadas ou após a picada de um artrópode infetado consiste numa pápula cutânea no local de inoculação, em simultâneo com outros sintomas generalizados, e que se torna purulenta e ulcerada poucos dias após o seu aparecimento. A úlcera é mole, geralmente tem um carácter indolor e pode vir a cobrir-se por uma escara. Tipicamente, um ou mais nódulos linfáticos aferentes podem tornar-se maiores e moles poucos dias após o aparecimento da pápula [1,2].

Na forma oculoglandular, após a contaminação direta do olho ocorre ulceração da conjuntiva, acompanhada de equimoses, vasculite e linfadenite localizadas [1,2].

A forma glandular de tularémia é caracterizada por detecção de linfadenopatia sem úlcera [1,2].

---

A forma orofaríngea é adquirida pela ingestão de água ou alimentos contaminados e, algumas vezes, pela inalação de aerossóis. Algumas das pessoas infetadas podem desenvolver estomatites, mas geralmente desenvolvem faringite exsudativa ou amigdalite, algumas vezes com ulceração. Pode ainda ocorrer linfadenopatia cervical ou retrofaríngea pronunciada [1,2].

A tularémia pneumónica pode ser o resultado direto da inalação de aerossóis contaminados ou seguir-se à disseminação hematogénica a partir de um outro local do organismo. A libertação destes aerossóis pode resultar em doença aguda, com sinais e sintomas de faringite, bronquite, pleuropneumonia e linfadenite, acompanhada por manifestações de doença sistémica. No entanto, as exposições por inalação resultam usualmente num quadro clínico inicial de doença sistémica sem sinais claros de doença respiratória [1,2].

A designação de forma tífica aplica-se para descrever uma doença sistémica, cujo diagnóstico se pode confundir com a febre tifóide, com ausência de sinais no local de infeção. Algumas vezes, estes doentes apresentam manifestações gastrointestinais intensas, tais como diarreia e cólicas [1,2].

## Diagnóstico laboratorial

O tipo de amostra a utilizar no diagnóstico laboratorial depende das manifestações clínicas que o doente apresenta e pode incluir esfregaços da lesão ou zaragatoas, sangue total, urina, biópsia, aspirado ou raspagem (úlceras, nódulo linfático, córnea ou tecido afetado) e amostras respiratórias (expectoração, lavado bronquial ou pleural) [1,17]. Num contexto de surto epidémico ou em estudos epidemiológicos, devem ser estudados artrópodes potenciais vetores, carcaças dos animais, fezes dos hospedeiros vertebrados e amostras de água [17].

De acordo com o CDC, a cultura continua a ser o *gold standard* para a confirmação laboratorial de infeção por *F. tularensis* [1,2,17]. Contudo, tanto *F. tularensis* subsp. *tularensis* e *F. tularensis* subsp. *holarctica* têm um crescimento lento e são organismos exigentes que requerem 24-72h e temperatura de 37°C para crescer em meio artificial [22].

*F. tularensis* pode ser cultivada in vitro em meio de cultura líquido ou sólido adequado [22]. Habitualmente, as estirpes de *F. tularensis* isoladas a partir de amostras clínicas desenvolvem-se bem em diversos meios incluindo agar de chocolate (CA), agar de cisteína enriquecido com sangue achocolatado (9%) (CHAB) e agar de extrato

de fermento de carvão tamponado (BYCE) [24]. O meio CHAB é o mais recomendado por permitir a identificação presuntiva de *F. tularensis*: este microrganismo apresenta um crescimento característico neste meio (verde opalescente com colónias brilhantes) às 24-48 horas [17,22,23]. Uma vez em presença do isolado puro, a fermentação por glicerol pode ser usada para diferenciar tipo A (*F. tularensis* subsp. *tularensis*) - faz a fermentação de glicerol - de tipo B (*F. tularensis* subsp. *holarctica*) - não faz fermentação de glicerol [23].

Esta bactéria é conhecida por causar infeções laboratoriais, pelo que o manuseamento de culturas e tentativa de isolamento só podem ser realizados em condições de biossegurança de nível 3 (BSL-3). Apesar desta limitação, o isolamento do agente continua a ser o método mais recomendado, pois permite o diagnóstico definitivo e constitui um valioso recurso para a epidemiologia molecular [17].

Os estudos serológicos são a forma mais comum de confirmar o diagnóstico de tularémia. Esta confirmação requer a observação de seroconversão, ou seja, a deteção de um aumento de quatro vezes, ou mais, dos títulos de anticorpos específicos presentes em duas amostras de soro consecutivas colhidas, respetivamente, na fase aguda e convalescente da doença [2,23,24].

Ao nível do diagnóstico indireto, estão disponíveis as técnicas de aglutinação em tubo, microaglutinação e *Enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA) para deteção de anticorpos contra *F. tularensis* [25,26].

A técnica de microaglutinação é 100 vezes mais sensível do que o método de aglutinação em tubo. Os anticorpos IgM e IgG são detetados em simultâneo e é habitual persistirem com títulos elevados por mais de uma década após a infeção, limitando o valor de um só resultado positivo. A técnica de ELISA é referida como sendo mais sensível do que os métodos de aglutinação e tem a vantagem de detetar separadamente diferentes classes de anticorpos [2,23].

O uso da técnica de *Polymerase chain reaction* (PCR) é muito útil quando as culturas são negativas ou o isolamento microbiológico é impraticável por não estarem reunidas as condições de biossegurança exigidas para a execução desta técnica [2,17].

Os genes que codificam a lipoproteína da membrana externa (*tul4*) de *F. tularensis* foram o primeiro alvo no desenvolvimento da técnica de PCR aplicada à deteção do agente em amostras de sangue, aerossóis e tecidos de animais. Este protocolo, seguido pela confirmação por sequenciação, RLB (*reverse line blotting*) ou por RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), mostrou ser mais sensível que a cultura, embora seja menos sensível que a técnica de PCR em tempo real (RT-PCR) [23].

---

Neste momento o protocolo de RT-PCR Taq-Man™ usado no diagnóstico laboratorial e em investigação tem como alvo três genes (*ISFtu2*, *tul4*, *fopA*) que para além de aumentar a sensibilidade para um limite de deteção de ~1 CFU, tem a vantagem de diminuir a probabilidade de aparecimento de falsos negativos [23, 27].

Uma vez que a diferenciação entre *F. tularensis* subsp. *tularensis* e *F. tularensis* subsp. *holarctica* apresenta um grande interesse clínico foi desenvolvido um protocolo de PCR em tempo real que possibilita esta discriminação; este protocolo usa sondas TaqMan™ e é direcionado a uma região divergente de uma “ilha de patogenia” denominada *Francisella pathogenicity island* (FIP) [27,28]. A genotipagem feita pela análise de MVLA (*multiple-locus variable-number tandem repeat analysis*) permite ter mais detalhe nos aspetos ecológicos e é a base para os estudos de diferenciação molecular das subespécies de *F. tularensis* [29].

## Situação em Portugal

Em Portugal, a ocorrência de casos humanos de tularémia nunca foi oficialmente notificada, pelo que a doença apresenta, muito provavelmente, uma prevalência subestimada. Isto deve-se, em parte, ao facto desta doença ser ainda pouco divulgada em Portugal e ao facto de existir pouca informação disponível para a população de risco e para os técnicos de saúde [1]. Contudo, já foram realizados estudos seroepidemiológicos onde foi possível detetar a presença de anticorpos anti-*F. tularensis* na população portuguesa [30, 31].

Anualmente é solicitado ao INSA o diagnóstico laboratorial desta doença em cerca de duas dezenas de casos. Em 1998, na sequência de um surto epidémico em Espanha, a Direção Geral de Saúde emitiu um comunicado alertando os clínicos para a possibilidade da tularémia se alastrar ao território nacional, quer por extensão do surto quer por ocorrência de casos isolados, dado o fluxo de caçadores, populações de vetores e animais vertebrados, que não reconhecem as fronteiras desenhadas pelo Homem (Decisão nº 2003/534/CE). A inclusão de *F. tularensis* na lista dos agentes potencialmente utilizáveis em bioterrorismo, juntamente com o carácter endémico que a doença tem em Espanha, relançou o interesse por esta patologia no nosso país [5].

Em 2007, foi detetada pela primeira vez por métodos moleculares, *F. tularensis* subsp. *holarctica* numa amostra humana e num *D. reticulatus* colhido em Bragança, região que faz fronteira com uma das zonas onde já ocorreram surtos em Espanha [5].

Em Portugal, o papel das carraças e dos roedores e leporídeos silvestres, diretamente implicados na transmissão da doença, necessita ainda de ser clarificado. No entanto, os últimos resultados obtidos da investigação em curso indicam que para além de *D. reticulatus*, outras espécies de ixodídeos estão implicados na transmissão de *F. tularensis* e que as carraças são o vetor mais importante da tularémia em Portugal, à semelhança do que acontece noutros países em que a tularémia é endémica. No que se refere aos pequenos mamíferos, *F. tularensis* subsp. *holarctica* foi recentemente detetada em amostras de leporídeos silvestres pela primeira vez em Portugal [32].

## Bibliografia

1. Lopes de Carvalho I, Nuncio MS, David de Moraes J. Tularémia. Acta Med Port. 2009 (3): 281-90.
2. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Mandel, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier, Churchill Livingstone. 2005; (2):2674-2683.
3. Oyston PC. *Francisella tularensis*: unraveling the secrets of an intracellular pathogen. J Med Microbiol. 2008; 57(Pt8):921-39.
4. Petersen JM, Schriefer ME. Tularemia: emergence/re-emergence. Vet Res. 2005; 36(3):455-67.
5. Lopes de Carvalho I, Escudero R, Garcia-Amil C, Falcão H, Anda P, Nuncio MS. *Francisella tularensis*, Portugal. Emerg Infect Dis. 2007; 13(4):666-7.
6. Hansen CM, Vogler AJ, Keim P, Wagner DM, Hueffer K. Tularemia in Alaska, 1938-2010. Acta Vet Scand. 2011; 18(53):61.
7. Vogler AJ, Birdsell D, Price LB, Bowers JR, Beckstrom-Sternberg SM, Auerbach RK, Beckstrom-Sternberg JS, Johansson, Clare A, Buchhagen JL, Petersen JM, Pearson, Vaissaire J, Dempsey MP, Foxall P, Engelthaler DM, Wagner DM, Keim P. Phylogeography of *Francisella tularensis*: Global Expansion of a Highly Fit Clone. J Bacteriol. 2009; 191(8):2474-84
8. Ellis J, Oyston PCF, Green M, Titball RW. Tularemia. Clin Microbiol Rev. 2002; (15):629-46.
9. Huber B, Escudero R, Busse HJ, Seibold E, Scholz HC, Anda P, Kämpfer P, Spletstoesser WD. Description of *Francisella hispaniensis* sp.nov., isolated from human blood, reclassification of *Francisella novicida* (Larson et al. 1955) Olsufiev et al 1959 as *Francisella tularensis* subspecies *novicida* comb. nov. and emended description of the genus *Francisella*. Int J Syst Evol Microbiol. 2010; 60(Pt8):1887-96.
10. Siddaramappa S, Challacombe JF, Petersen JM, Pillai S, Hogg G, Kuske CR. Common ancestry and novel genetic traits of *Francisella novicida*-like isolates from North America and Australia as revealed by comparative genomic analysis. Appl Environ Microbiol. 2011; 77(15):5110-22.
11. Johansson A, Celli J, Conland W, Elkins KL, Forsman M, Keim PS, Larsson P, Manoil C, Nano FE, Petersen JM, Sjösted A. Objections to the transfer of *Francisella novicida* to the subspecies rank of *Francisella tularensis*. Int J Syst Evol Microbiol. 2010; 60(Pt8):1717-8.
12. Jackson J, McGregor A, Cooley L, Ng J, Brown M, Ong CW, Darci C, Sintchenko V. *Francisella tularensis* subspecies *holarctica*, Tasmania, Australia, 2011. Emerg Infect Dis. 2012; 18(9):1484-6.
13. Whipp MJ, Davis JM, Lum G, de Boer J, Zhou Y, Bearden SW, Petersen JM, Chu MC, Hogg G. Characterization of a *novicida*-like subspecies of *Francisella tularensis* isolated in Australia. J Med Microbiol. 2003; 52(Pt9):893-42.

- 
14. Petersen JM, Mead PS, Schriefer ME. *Francisella tularensis*: an arthropod-borne pathogen. *Vet Res*. 2009; 40(2):7.
  15. Gyuranecz M, Szeredj L, Makrai L, Fodor L, Mészáros AR, Szépe B, Füleki M, Erdévi K. Tularemia of Brown European Brown Hare (*Lepus europaeus*): a pathological, histopathological and immunohistochemical study. *Vet Pathol*. 2010; 47(5):958-63.
  16. Kuehn A, Schulze C, Kutzer P, Probst C, Hlinak A, Ochs A, Grunow R. Tularaemia seroprevalence of captured and wild animals in Germany: the fox (*Vulpes vulpes*) as a biological indicator. *Epidemiol Infect*. 2013; 141(4):833-40.
  17. World Health Organization working group on Tularaemia. WHO Guidelines on Tularaemia. 2007. pp: 115
  18. Foley JE, Nieto NC. Tularemia. *Vet Microbiol*. 2010; 140(3-4):332-8.
  19. Cowley SC, Elkins KL. Immunity to *Francisella*. *Front Microbiol*. 2011; 2:26.
  20. Bosio CM. The subversion of the immune system by *Francisella tularensis*. *Front Microbiol*. 2011; 2:9.
  21. Henry T, Brotcke A, Weiss DS, Thompson LJ, Monack DM. Type I interferon signaling is required for activation of the inflammasome during *Francisella* infection. *J Exp Med*. 2007; 204(5): 987-94.
  22. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. Washington DC: ASM press. 1999.
  23. Splettstoesser WD, Tomaso H, Al Dahouk S, Neubauer H, Schuff-Werner P. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2005; 52(6):249-61.
  24. Tärnvik A, Berglund L. Tularemia. *Eur Resp J*. 2003;21(2):361-73.
  25. Feldman KA. Tularemia. *JAMA*. 2003;222(6):725-730.
  26. Bevanger L, Maeland JA, Kvan AI. Comparative analyses of antibodies to *Francisella tularensis* antigens during the acute phase of tularemia and eight years later. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1994. 1:238-240.
  27. Versage JL, Severin DD, Chu MC, Petersen JM. Development of a multitarget real-time TaqMan PCR assay for enhanced detection of *Francisella tularensis* in complex specimens. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(12):5492-9.
  28. Nano FE, Zhang Na, Cowley SC, Klose KE, Cheung KK, Roberts MJ, Ludu JS, Letendre GW, Meierovics AI, Stephens G, Elkins KL. A *Francisella tularensis* pathogenicity island required for intramacrophage growth. *J Bacteriol*. 2004; 186 (19):6430-6.
  29. Vogler AJ, Birdsell D, Wagner DM, Keim P. An optimized, multiplexed multi-locus variable-number tandem repeat analysis system for genotyping *Francisella tularensis*. *Lett Appl Microbiol*. 2009; 48(1):140-4.
  30. Seabra J, Santos MA, Pereira H, Vicente P, Vasconcelos O, Santos A. Prevalence of *Francisella tularensis* antibodies in the population of North Portugal. In: Abstracts of the Prevention and Control of Zoonoses: Cardiff, Wales, UK; 2002. Cardiff (wales); Health Protection Agency; 2002.
  31. Lopes de Carvalho I. Aplicação de técnicas imunológicas e moleculares ao estudo de *Francisella tularensis* em Portugal. Tese de mestrado em Microbiologia Clínica. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, 2008.
  32. Lopes de Carvalho I, Carvalho CL, Respicio-Kingry LB, Zé-Zé, Petersen JM, Nuncio MS. Assessment of *Francisella tularensis* in Portugal. In: abstracts of the International Symposium on *Francisella tularensis* and tularemia. Urgup, Turkey; 2013.

# FEBRE ESCARO-NODULAR E OUTRAS RICKETTSIOSES EM PORTUGAL

Rita de Sousa; Natacha Milhano; Ana Sofia Santos

## Introdução

As doenças causadas por rickettsias afetam o homem há alguns séculos. As primeiras descrições fazem referência ao tifo epidémico causado pela *Rickettsia prowazekii*, transmitida pelo piolho do corpo, e que foi durante o século XV até ao século XX uma causa importante de epidemias mortíferas na Europa não só dizimando populações civis mas também inúmeros exércitos. Em 1909, foi fator determinante no conhecimento da epidemiologia desta doença a descoberta de Charles Nicole, que implicou o piolho do corpo como o “vehicle” da infeção. Na mesma época, Howard Taylor Ricketts um investigador da Universidade de Chicago e seus colaboradores realizaram e conduziram uma investigação brilhante na identificação do agente etiológico de outra rickettsiose, a febre das Montanhas Rochosas.

O termo *Rickettsia* (*Rickettsia prowazekii*) foi mencionado pela primeira vez em 1916 numa publicação do microbiologista Rocha Lima em homenagem aos investigadores o americano Ricketts e o austríaco Von Prowazek, que morreram de tifo epidémico, adquirido quando realizavam as suas pesquisas.

## Taxonomia

As rickettsias são bactérias Gram-negativas, intracelulares obrigatórias, apresentam uma forma cocobacilar e multiplicam-se por divisão binária.

Taxonomicamente as rickettsias são  $\alpha$  – proteobactérias, da ordem *Rickettsiales*, família *Rickettsiaceae*. O género *Rickettsia* divide-se em dois grupos distintos: o grupo do tifo, com duas espécies de rickettsias patogénicas para o homem, *Rickettsia prowazeki* e *R. typhi*, e o grupo das febres exantemáticas. O grupo das febres exantemáticas, engloba todas as espécies de rickettsias transmitidas por ixodídeos (carrasças), uma espécie transmitida por ácaro e outra por pulga.

## Epidemiologia

As rickettsias são transmitidas ao homem por diferentes artrópodes hematófagos como piolhos, pulgas, ácaros e ixodídeos. Contudo, a maior parte das espécies de *Rickettsia* está associada à transmissão por ixodídeos, considerado vetores e reservatórios do agente. As rickettsias são transmitidas ao homem pela picada da carraça infetada, enquanto esta efetua a sua refeição sanguínea, ou através da contaminação das mucosas com macerados de ixodídeos infetados. Para haver transmissão efetiva da rickettsia ao homem, são precisas entre 6-20 horas de parasitação pelo artrópode.

As carraças podem adquirir a infeção quando se alimentam em hospedeiros vertebrados rickettsiémicos, particularmente pequenos roedores; por transmissão transovária (femea adulta infetada para os ovos), e transmissão transtadial (larva para ninfa e adulto). O Homem é um hospedeiro acidental.

A distribuição geográfica das espécies de carraças e a sua atividade influenciam a epidemiologia das diferentes rickettsioses.

Para além da *R. conorii* o agente da febre escaro-nodular, estão descritas, a nível mundial cerca de 17 espécies de rickettsias do grupo das febres exantemáticas capazes de causar doença no homem. Na impossibilidade de abordar todas as rickettsioses causadas pelas rickettsias patogénicas serão apenas descritas as infeções por *Rickettsia* presentes na Europa e em Portugal. No quadro 10 estão descritas as rickettsioses associadas a carraças identificadas na Europa.

Quadro 10: Rickettsias patogénicas do grupo das febres exantemáticas identificadas na Europa

Agente etiológico	Doença	Principal artrópode vetor
<i>R. conorii</i> Malish	Febre botonosa	<i>R. sanguineus</i> .
<i>Astrakhan fever rickettsia</i>	Febre de Astrakan	<i>R. pumilio</i>
<i>Israeli tick typhus</i>	Febre botonosa de Israel	<i>R. sanguineus</i>
<i>R. monacensis</i>	Não denominada	<i>I. ricinus</i>
<i>R. raoulti</i> , <i>R. rioja</i>	Não denominada	<i>Dermacentor spp.</i>
<i>R. sibirica mongolitimonaе</i>	Linfagitis associated rickettsiosis (LAR)	<i>Hyalomma asiaticum</i>
<i>R. slovacа</i>	"TIBOLA", DEBONEL	<i>D. marginatus</i>
<i>R. helvetica</i>	Perimiocardite crónica	<i>I. ricinus</i>
<i>R. massiliae</i>	Não denominada	<i>Rhipicephalus spp</i>
<i>R. aeschlimannii</i>	Não denominada	<i>Hyalomma spp</i>

### *Febre escaro-nodular*

A febre escaro-nodular (FEN) é a rickettsiose com maior impacto em saúde pública em Portugal. *R. conorii* é o agente etiológico da FEN e até à data estão identificadas quatro estirpes a causar doença no homem: *R. conorii* Malish, *R. conorii* Israeli spotted fever *Rickettsia*, *R. conorii* Astrakan fever *Rickettsia* e *R. conorii* Indian tick typhus *Rickettsia*. Em Portugal, existem duas destas estirpes: a estirpe Malish e a estirpe Israeli isoladas a partir de amostras humanas e do vetor, a carraça do cão *Rhipicephalus sanguineus* [1,2,3]. Os cães podem apresentar rickettsiemia transitória e mostrar sinais de infeção e doença mas não são reservatório de *R. conorii* [4].

A FEN foi descrita pela primeira vez por Conor e Bruschi na Tunísia, em 1910, e foi considerada uma entidade nosológica em Portugal em 1930 por Ricardo Jorge [5]. É uma doença endémica em Portugal, na bacia do Mediterrâneo África, Médio Oriente, Índia e Paquistão. É difícil comparar a incidência da doença em diferentes países, mesmo a nível dos países da bacia do Mediterrâneo, uma vez que a notificação de casos de FEN não é obrigatória em todos os países. Em Portugal, a taxa de incidência média anual da doença entre 1989-2005 foi de 8,9/105 habitantes mas actualmente é difícil de estimar uma vez que a taxa de subnotificação é extremamente elevada. No período de entre 1989 - 2005, os distritos com maior taxa de incidência foram Bragança e Beja com taxas de 56,8/105 habitantes 47,4/105 habitantes, respectivamente (6). É nas crianças, no grupo etário de 1- 4 anos de idade, que ocorre o maior número de casos de FEN. Contudo, é nos grupos etários acima dos 55 anos que se verificam os casos mais graves.

FEN é caracterizada por uma sazonalidade estival, e na maioria dos países da bacia do Mediterrâneo, os casos são encontrados no final da primavera e no verão (81% -88 %) com pico em Julho e Agosto, quando as fases imaturas de *R. sanguineus* predominam. Contudo as condições climáticas em algumas regiões do nosso País permitem que o vetor se mantenha ativo todo o ano e possa transmitir o agente mesmo fora desta época.

### *Infeção e manifestações clínicas*

As rickettsias invadem particularmente as células endoteliais dos vasos sanguíneos causando uma vasculite. O período de incubação varia de 3 a 7 dias após a picada da carraça, mas pode ser mais longo.

---

O aparecimento de FEN é geralmente abrupto e a doença é caracterizada por febre (>39), cefaleias, mialgias e artralguas, mal estar, erupção maculopapular, que envolve todo o corpo, incluindo as palmas e plantas dos pés, e a presença de uma escara no local da picada da carraça. Estudos comparativos entre grupos de doentes infetados com a estirpe Malish versus a estirpe Israeli mostraram que nesta última a escara só está presente em cerca de 38% dos doentes podendo dificultar o diagnóstico clínico [7]. Nas formas graves da doença o aparecimento de exantema purpúrico ou petequial é indicativo de mau prognóstico. Apesar da *R. conorii* ser considerada menos patogénica do que a *R. rickettsii* o agente da febre das Montanhas Rochosas, formas graves de FEN estão descritas em cerca de 6% dos doentes hospitalizados em Portugal, França, Israel e Espanha, apresentando taxas de letalidade que variam entre 1,4 - 13 % [6,7,8]. Este facto tornou-se mais evidente em 1997, no Hospital Distrital de Beja e no Hospital Garcia de Orta, onde a taxa de letalidade atingiu os 32% e 18%, respectivamente [6,8].

A diabetes mellitus foi identificada como fator de risco associado à morte desses doentes. Outros estudos em doentes portugueses mostraram ainda que o alcoolismo é também um fator de risco para o mau prognóstico da doença assim como insuficiência cardíaca, idade avançada, e deficiência de G6PD [7].

Um estudo prospetivo realizado em Portugal de 1994 a 2006 comparou dois grupos de doentes; um grupo infetado pela estirpe Malish e outro pela estirpe Israeli, confirmados por isolamento ou deteção de DNA por PCR. Embora exista uma sobreposição das manifestações clínicas entre os dois grupos de doentes, os doentes infetados com a estirpe Israeli identificaram menos vezes o facto de terem sido picados, assim como a presença de escara (38%) foi significativamente menos observada quando comparados com doentes infetados pela estirpe Malish (60%). Doentes infetados com a estirpe Israeli revelaram também mais frequentemente a presença de náuseas, vômitos e aumento dos níveis de bilirrubina total. Neste estudo foi ainda observado que no grupo de doentes infetados pela estirpe Israeli estava estatisticamente associado um maior risco de morte [7]. O tratamento de eleição para adultos é a doxiciclina ou em alternativa a tetraciclina ou ciprofloxacina. Para crianças pode ser usada também doxiciclina em doses de acordo com o peso ou, em alternativa, a azitromicina.

### *Linfangite - Associated Rickettsioses (LAR)*

O agente etiológico desta patologia é *R. sibirica mongolitimonae*.

*R. sibirica mongolitimonae* foi inicialmente isolada a partir de um ixodídeo, *Hyalomma asiaticum*, colhido na região da Mongólia em 1991. Na Europa e na bacia do Mediterrâneo *R. sibirica mongolitimonae* foi detectada em *H. anatolicum* na Grécia, *Hyalomma* sp. em Israel e *Rhipicephalus pusillus* em Portugal, Espanha e França [9]. Em 1996, o primeiro caso humano de infeção causada por este *Rickettsia* foi descrito no sul de França. Subsequentemente outros casos humanos foram descritos em França, Grécia, Portugal, Espanha, e em viajantes que visitam a Argélia e o Egito. A maioria dos casos causadas por *R. sibirica mongolitimonae* descritos em Portugal, ocorrem simultaneamente no mesmo período que os casos de FEN.

A apresentação clínica da infeção por *R. sibirica mongolitimonae* inclui febre, exantema máculopapular, escara de inoculação, e em 50 % dos doentes apresenta uma linfangite desde a escara de inoculação até ao nódulo linfático característica desta infeção e que deu origem ao nome da doença. Em Portugal estão descritos mais de 10 casos de infeção por esta *Rickettsia* [9,10].

### *Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) ou Dermacentor - borne - necrose - eritema linfadenopatia (DEBONEL)*

O agente etiológico desta patologia é *R. slovaca*.

*R. slovaca* foi isolada pela primeira vez em 1968 a partir de *Dermacentor marginatus* na antiga Checoslováquia. Os primeiros casos suspeitos de infeção por *R. slovaca* foram descritos em doentes Húngaros, mas o primeiro caso comprovado de infeção só foi descrito mais tarde em 1997 num doente francês. *R. slovaca* foi identificada em *Dermacentor* spp. na maioria dos países europeus e as taxas de prevalência de infeção por *R. slovaca* variam entre os 21 % na Hungria e os 41,5% em Portugal [11, 12]. Casos de infeção por *R. slovaca* estão descritos em França, Hungria, Espanha, Eslováquia, Itália e mais recentemente em Portugal [13]. As manifestações clínicas e epidemiológicas das infeções por *R. slovaca* em séries de doentes mostraram que a infeção ocorre principalmente durante os meses mais frios do ano, principalmente de outubro a abril, de acordo com a densidade e actividade do vetor. As manifestações clínicas mostram que os doentes são mais frequentemente picados no couro cabeludo (68% - 100%). A febre está ausente em metade dos doentes; o rash é raro em comparação com outras rickettsioses. A linfadenopatia regional apresentada em 74-100% dos doentes infetados com *R. slovaca* levou a denominação desta doença

---

*Tick-borne lymphadenopathy* (TIBOLA), conhecida também por *Dermacentor - borne - necrose - eritema* (DEBONEL).

Associada ao mesmo vetor, *Dermacentor* spp, estão descritas duas espécies de rickettsias que foram também implicadas nesta patologia, *R. raoultii* e *R. rioja*. Esta última, filogeneticamente muito próxima de *R. raoultii*, foi identificada pela primeira vez em Espanha e mais recentemente em Portugal. No entanto, *R. slovacica* continua a ser o principal agente etiológico responsável pela maioria dos casos TIBOLA / DEBONEL.

#### *Infeção por Rickettsia massiliae*

*R. massiliae* foi isolada pela primeira vez em 1992 a partir de ixodídeos em França e posteriormente detectada e isolada em vários países da Europa incluindo Portugal [2]. *R. massiliae* está identificada em ixodídeos do género *Rhipicephalus*. Existem apenas 3 casos de infeção causados por esta rickettsia, sendo o primeiro caso de um doente italiano e os outros dois casos num doente francês e outro num doente argentino. Os três doentes apresentavam manifestações clínicas típicas de rickettsiose.

#### *Infeção por R. aeschlimannii*

*R. aeschlimannii* foi caracterizada pela primeira vez em 1997 a partir do vetor *Hyalomma marginatum* colhido em Marrocos. Posteriormente foi também descrita em ixodídeos analisados em Portugal, França, Espanha, Croácia, Argélia, Itália e Egito [2]. Já foram descritos seis casos humanos causados por *R. aeschlimannii* em quatro doentes infetados em África e mais recentemente num doente infetado na Grécia, sendo este o primeiro caso europeu. As manifestações clínicas são semelhantes às de outras rickettsioses.

#### *Infeção por Rickettsia helvetica*

*R. helvetica* foi detetada em *Ixodes ricinus* pela primeira vez na Suíça, em 1979, e posteriormente detectada e isolada de *I. ricinus* em muitos países europeus, incluindo Portugal. Em Portugal e Espanha, foi também detetada em *I. ventraloi* parasitando aves [2]. A prevalência de *R. helvetica* em ixodídeos de diferentes países variam entre 2,8% na Polónia e 91,4% no Sul da Alemanha. Em Portugal a prevalência de infeção nos ixodídeos em determinadas regiões geográficas alcançou os 48% tendo sido também detetadas coinfeções entre *R. helvetica* e *B. burgdorferi* sl, no mesmo vetor, *I. ricinus* [12].

Associações com base apenas em provas serológicas relacionadas com infeções por *R. helvetica* foram descritas em doentes na Europa mas de avaliação e isolamento da bactéria a partir de amostras clínicas são necessários para confirmar a patogenia de *R. helvetica*.

### *Infeção por R. monacensis*

*R. monacensis* foi isolada e caracterizada a partir de *I. ricinus*, pela primeira vez na Alemanha. Desde então, a maioria dos países europeus têm relatado a presença desse agente identificado, sobretudo, com base em técnicas de biologia molecular. Em Portugal, *Rickettsia monacensis* foi isolada de *I. ricinus* recentemente [12]. *R. monacensis* foi associada à doença febril num caso humano presumivelmente infetado no norte da Espanha.

### **Diagnóstico laboratorial**

O diagnóstico clínico das rickettsioses é na generalidade confirmado por testes serológicos, uma vez que a cultura do agente, e a deteção molecular requerem laboratórios especializados. A imunofluorescência indireta (IFA) é a técnica recomendada, apesar de existirem no mercado outras técnicas disponibilizadas para testes serológicos como a ELISA. Uma das desvantagens do diagnóstico serológico é o facto de não poder identificar a espécie de *Rickettsia* dentro do mesmo grupo taxonómico (grupo das febres exantemáticas, grupo do tifo) e não ser uma técnica útil na fase aguda da doença, uma vez que não existem anticorpos. Alguns testes serológicos mais específicos como o *Western blot* e a adsorção cruzada podem ajudar à diferenciação entre espécies dentro do mesmo grupo no entanto, a interpretação deve ser realizada com cautela, pois algumas estirpes são muito próximas e não podem ser distinguidas. O advento de métodos moleculares baseados em PCR permitiu o desenvolvimento de ferramentas específicas e rápidas para a deteção e identificação de espécies de *Rickettsia*. O sucesso desta técnica depende em particular do tempo decorrido entre o início dos sintomas e a colheita da amostra; que deve ser realizada antes do início da antibioterapia. A sensibilidade da técnica é ainda influenciada pelo tipo de amostra sendo que a deteção em biópsia/zaragatoa do exsudato ou crosta da escara é em geral superior à deteção no sangue. A cultura do agente é uma técnica sensível e permite identificar a espécie de rickettsia. Esta técnica pode alcançar um bom nível de sucesso se a amostra for coletada e conservada em boas condições (enviada ao laboratório 24-48H).

O INSA disponibiliza para confirmação do diagnóstico de rickettsioses as técnicas de serologia, deteção molecular de ADN por PCR e isolamento do agente.

Entre 2011- 2013 foram recebidos uma média anual de cerca de 573 pedidos para pesquisa de anti-corpos anti- *Rickettsia* tendo sido positivas cerca de 15% das amostras enviadas. Neste período foram ainda detetados por PCR e confirmados por sequenciação 30 casos de infeção por *R. conorii*, três por *R. sibirica* e *R. slovacica*, respetivamente. Nos ixodídeos recebidos no âmbito da rede nacional de vigilância de vetores REVIVE foram ainda identificadas oito rickettsias do grupo das febres exantemáticas (Quadro 11).

Quadro 11: Espécies de rickettsias do grupo das febres exantemáticas identificadas em ixodídeos no programa REVIVE, 2011-2013.

Rickettsias identificadas	Espécies de ixodídeos	Distritos onde se assinalaram
<i>R. aeschlimanni</i>	<i>H. marginatum</i>	Beja, Braga, Portalegre, Setúbal, Viseu
<i>R. conorii</i>	<i>R. sanguineus</i>	Beja, Bragança, Évora
<i>R. helvetica</i>	<i>I. ricinus</i>	Beja, Setúbal
<i>R. massiliae</i>	<i>R. sanguineus</i>	Aveiro, Beja, Braga, Bragança, Faro, Portalegre, Porto, Setúbal, Viana do Castelo, Vila Real
<i>R. monacensis</i>	<i>I. ricinus</i>	Aveiro, Beja, Faro, Setúbal, Viana do Castelo
<i>R. raoulti</i>	<i>R. sanguineus</i> ; <i>D. marginatus</i>	Bragança, Setúbal, Viana do Castelo, Vila Real, Viseu
<i>R. rioja</i>	<i>D. marginatus</i>	Viseu
<i>R. slovacica</i>	<i>D. marginatus</i> ; <i>D. reticulatus</i>	Beja, Bragança, Vila Real, Viseu

## Bibliografia

1. Bacellar FC, Beati L, França A, Poças J, Regnery R, Filipe AR. Israeli spotted fever *Rickettsia* (*Rickettsia conorii* complex) associated with human diseases in Portugal. *Emerg. Infect. Dis* 1999; 5: 835-836.
2. Bacellar F, Regnery RL, Nuncio MS, Filipe AR. Genotypic evaluation of rickettsial isolates recovered from various species of ticks in Portugal. *Epidemiol Infect.* 1995 Feb;114(1):169-78.

3. De Sousa R, Santos-Silva M, Santos AS, Barros SC, Torgal J, Walker DH, Bacellar F. *Rickettsia conorii* Israeli tick typhus strain isolated from *Rhipicephalus sanguineus* ticks in Portugal. Vector Borne Zoonotic Dis. 2007 Fall; 7 (3):444-7.
4. Alexandre N, Santos AS, Bacellar F, Boinas FJ, Nuncio MS, de Sousa R. Detection of *Rickettsia conorii* strains in Portuguese dogs (*Canis familiaris*). Ticks Tick Borne Dis. 2011 Jun;2(2):119-22.
5. Jorge R. La fièvre exanthématique (fièvre escharo-nodulaire) et son apparition au Portugal. Lisboa Médica 1930; 74:33-454.
6. De Sousa R, Nobrega SD, Bacellar F, Torgal J. Mediterranean spotted fever in Portugal: risk factors for fatal outcome in 105 hospitalized patients. Ann NY Acad Sci. 2003; 990:285-94.
7. De Sousa R, França A, Dória Nóbrega S, Belo A, Amaro M, Abreu T, Poças J, Proença P, Vaz J, Torgal J, Bacellar F, Ismail N, Walker DH. Host- and microbe-related risk factors for and pathophysiology of fatal *Rickettsia conorii* infection in Portuguese patients. J Infect Dis. 2008 Aug 15;198(4):576-85.
8. Amaro M, Bacellar F, Franca A. Report of eight cases of fatal and severe Mediterranean spotted fever in Portugal. Ann N Y Acad Sci. 2003; 990:331-43.
9. De Sousa R, Barata C, Vitorino L, Santos-Silva M, Carrapato C, Torgal J, Walker D, Bacellar F. *Rickettsia sibirica* isolation from a patient and detection in ticks, Portugal. Emerging. Infect. Dis. 2006
10. De Sousa R, Duque L, Anes M, Poças J, Torgal J, Bacellar F, Olano JP, Walker DH. Lymphangitis in a Portuguese patient infected with *Rickettsia sibirica*. Emerg Infect Dis. 2008;14 (3):529-30.
11. Bacellar F, Nuncio MS, Alves MJ, Filipe AR. *Rickettsia slovaca*: an agent of the group of exanthematous fevers, in Portugal Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 13:218-23.
12. Milhano N, de Carvalho IL, Alves AS, Arroubé S, Soares J, Rodriguez P, Carolino M, Nuncio MS, Piesman J, de Sousa R Coinfections of *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia helvetica* with *Borrelia lusitaniae* in ticks collected in a Safari Park, Portugal. Ticks Tick Borne Dis. 2010 Dec;1(4):172-7.
13. De Sousa R, Pereira BI, Nazareth C, Cabral S, Ventura C, Crespo P, Marques N, da Cunha S. *Rickettsia slovaca* infection in humans, Portugal. Emerg Infect Dis. 2013 Oct;19 (10):1627-9.



# EHRlichiose E ANAPLAsMOSE

Ana Sofia Santos

## Introdução

**E**hrlichiose e anaplasiose são infecções bacterianas causadas por ehrlichias e anaplasmas. Estes são agentes que tradicionalmente têm sido associados a doença nos animais domésticos e de companhia. O seu potencial patogénico para o Homem foi reconhecido a partir da década 80, tendo adquirindo o estatuto de agentes emergentes. Atualmente são quatro as espécies associadas a doença no Homem embora se destaque pela importância, número de casos e abrangência geográfica *Anaplasma phagocytophilum* e *Ehrlichia chaffeensis*.

## Taxonomia e distribuição

*A. phagocytophilum* e *E. chaffeensis* são  $\alpha$ - proteobactérias classificadas na Ordem Rickettsiales, Família Anaplasmatacea. *A. phagocytophilum* é responsável pela anaplasiose granulocítica humana – HGA (*Human Granulocytic Anaplasmosis*), doença que ocorre sobretudo nas regiões Centro-Oeste e Médio-Atlântica dos Estados Unidos e na Europa Central e do Norte [1,2]. Nos países onde está descrita, a HGA acompanha a distribuição geográfica da borreliose de Lyme dado que os agentes etiológicos partilham o mesmo ixodídeo vetor. As espécies do género *Ixodes* são referidas como os principais vetores de *A. phagocytophilum*, destacando-se na Europa o papel de *Ixodes ricinus*. O ciclo natural do agente envolve ainda roedores, outros mamíferos de pequeno e médio-porte, bem como cervídeos, nos quais as carraças vetor se alimentam, embora se defenda que as variantes de *A. phagocytophilum* que infetam o Homem estejam particularmente associadas aos primeiros [3].

*E. chaffeensis* é o agente etiológico da ehrlichiose monocítica humana – HME, (*Human Monocytic Ehrlichiosis*), doença que ocorre essencialmente na região Centro-Sul e Sudoeste dos Estados Unidos. Há também evidência de casos em regiões da Ásia Oriental [4]. Na natureza *E. chaffeensis* circula entre os cervídeos e ixodídeos dos géneros *Amblyomma*, *Dermacentor* e *Ixodes*, destacando-se o papel da espécie *A. americanum*.

---

## Patogénese

Em ambos os casos a infeção do Homem ocorre durante a alimentação do ixodídeo vetor através da inoculação de secreções salivares contendo o agente.

As células alvo de *A. phagocytophilum* são os neutrófilos e de *E. chaffeensis* os monócitos e macrófagos, através das quais os agentes são transportados do local de inoculação podendo atingir vários órgãos, determinando o aparecimento do quadro multisistémico que caracteriza a doença. Nestas infeções o período de incubação pode variar entre 1-2 semanas e as manifestações clínicas são geralmente inespecíficas, dominadas por febre, cefaleias, mialgias e mal-estar geral. Numa minoria de casos pode ainda ocorrer envolvimento pulmonar, do trato gastrointestinal e do sistema nervoso central.

Entre os achados laboratoriais mais importantes incluem-se trombocitopénia, leucopénia e elevação sérica das transaminases hepáticas. As infeções podem ainda cursar de forma subclínica mas também há registo de casos graves, que têm sido associadas a estados de imunodepressão e à idade avançada. Em termos gerais, a HGA é a mais moderada, particularmente nas infeções ocorridas na Europa [2]. Metade dos casos de HGA identificados nos EUA requer hospitalização embora a taxa de letalidade seja muito baixa (<1%) [1]. Já os casos de HME apresentam uma taxa de hospitalização de 41-63% e uma mortalidade associada de 3% [1].

Em ambas as doenças o tratamento de eleição consiste na administração de doxiciclina. À semelhança de outras doenças associadas a ixodídeos, a prevenção consiste em evitar a parasitação por estes artrópodes, limitando a atividade em zonas de risco e reduzindo as áreas de pele exposta. É ainda importante inspecionar o corpo após qualquer atividade de risco e ao identificar-se algum ixodídeo fixo à pele proceder de imediato à sua remoção.

## Diagnóstico laboratorial

De uma maneira geral o diagnóstico laboratorial apoia-se essencialmente na serologia, com a avaliação dos títulos de IgG e IgM. Um caso é confirmado sempre que se verifique seroconversão ou aumento de 4x nos títulos em duas amostras consecutivas colhidas com um intervalo de 2-3 semanas. Há contudo que referir, que numa fase inicial da infeção, i.e. nos primeiros dias após o aparecimento dos sintomas, o diagnóstico laboratorial pode ser efetuado com base no isolamento ou na deteção molecular (PCR) do agente numa amostra de sangue periférico. Ainda assim, é importante

complementar os testes anteriores com a pesquisa de anticorpos circulantes. Embora seja expectável que nesta fase inicial o sistema imunitário ainda não tenha tido tempo de reagir à infeção, um resultado serológico negativo pode ser útil para ajudar posteriormente a substanciar uma seroconversão.

## Situação em Portugal

Até ao momento apenas a presença de *A. phagocytophilum* foi assinalada em ixodídeos no nosso país, ocorrendo nas espécies *I. ricinus* e *I. ventralloi* [5,6]. Quanto à doença, há registos serológicos que apontam para a exposição do homem a *A. phagocytophilum* e *E. chaffeensis* ou a agentes antigenicamente semelhantes [7,8]. A possibilidade da ocorrência de casos importados deve também ser tida em consideração em indivíduos sintomáticos que viajaram para zona endémica. Nas áreas endémicas, ambas as espécies estão associadas a casos que ocorrem tanto em contexto profissional como recreativo mesmo em zonas suburbanas. A pesquisa de anticorpos por IFA e de ADN por PCR contam-se na lista de análises disponibilizadas pelo INSA para diagnóstico laboratorial de *A. phagocytophilum* e *E. chaffeensis*. Entre 2011- 2014 foram recebidas uma média de cerca de 50 amostras para este diagnóstico não tendo no entanto sido confirmados laboratorialmente casos de infeção ativa por qualquer dos agentes.

## Bibliografia

1. Walker D, Dumler JS. *Ehrlichia chaffeensis* (human monocytotropic ehrlichiosis), *Anaplasma phagocytophilum* human granulocytotropic anaplasmatosis), and other ehrlichiae. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Gerald L. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.), 6ª ed, Elsevier, 2005, II vol, 2310-2315.
2. Blanco JR, Oteo JA. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. Clin Microbiol Infect 2002; 8:763-772.
3. Massung RF, Mauel MJ, Owens JH, Allan N, Courtney JW, Stafford KC 3rd, Mather TN. Genetic variants of *Ehrlichia phagocytophila*, Rhode Island and Connecticut. Emerg Infect Dis. 2002;8(5):467-72.
4. Heo EJ, Park JH, Koo JR, Park MS, Park MY, Dumler JS, Chae JS. Serologic and molecular detection of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophila* (human granulocytic ehrlichiosis agent) in Korean patients. J Clin Microbiol 2002; 40: 3082-3085.
5. Santos AS, Santos-Silva MM, Almeida VC, Bacellar F, Dumler JS. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* DNA in *Ixodes* ticks (Acari:Ixodidae) from Madeira Island and Setúbal District, Mainland Portugal. Emerging Infectious Diseases 2004; 10(9):1643-8.
6. Santos AS, Santos-Silva MM, Sousa R, Bacellar F, Dumler JS. PCR-based survey of *Anaplasma phagocytophilum* in Portuguese ticks (Acari: Ixodidae). Vector Borne and Zoonotic Diseases 2009; 9(1): 33-40.
7. David de Morais JD, Dawson JE, Greene C, Filipe AR, Galhardas LC, Bacellar F. First European cases of ehrlichiosis. Lancet 1991;338:633-4.
8. Santos AS, Bacellar F, Dumler JS. Human exposure to *Anaplasma phagocytophilum* in Portugal. Annals of New York Academy of Science 2006; 1078:100-5.



# FEBRE Q

Ana Sofia Santos

## Introdução

A febre Q (abreviatura do nome original “Query fever”) é uma zoonose bacteriana causada por *Coxiella burnetii*. Os primeiros casos no Homem foram descritos na Austrália na década de 30 mas rapidamente a doença adquiriu um estatuto mundial, ocorrendo tanto em casos isolados como em surtos. Estes últimos têm vindo ao longo da história a relembrar a importância da febre Q e as implicações que pode determinar na economia em saúde pública. O último grande surto de febre Q ocorreu na Holanda entre 2007 e 2009, originou cerca de 4000 casos agudos, pelo menos duas centenas de casos crónicos, número que continua ainda hoje a aumentar, para além de gastos na ordem dos milhões de euros em medidas profiláticas e de contenção que culminaram com o abate de mais de 50000 animais gestantes, representando em muitas explorações cerca de 60% do efetivo pecuário [1].

## Taxonomia e epidemiologia

*C. burnetii* é a única espécie descrita no género *Coxiella*, originalmente classificada na ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae, tribo Rickettsiae, por partilhar com as rickettsias algumas características morfológicas e ecológicas. Todavia, a aplicação de técnicas moleculares à filogenia questionou essa taxonomia tradicional, demonstrando que *C. burnetii* se distancia dos demais microrganismos da ordem Rickettsiales, que são  $\alpha$ -proteobactérias, aproximando-se de algumas  $\gamma$ -proteobactérias, como a *Legionella* spp. e *Francisella tularensis*, o que levou à sua recente reclassificação na ordem Legionellales.

*C. burnetii* é uma bactéria que apresenta uma distribuição geográfica mundial. A única exceção é a Nova Zelândia, país que continua ainda hoje a ser considerado indeme de febre Q. Este é um agente que se encontra largamente disseminado na natureza, tendo como principais reservatórios carraças, aves e mamíferos. Às carraças, com mais de 40 espécies envolvidas, é atribuído um papel essencial na transmissão do agente entre os animais silvestres e na amplificação dos ciclos silvestres aos animais

---

domésticos. Apesar destes artrópodes constituírem também uma fonte potencial de infeção para o Homem, é no contacto com mamíferos domésticos, sobretudo gado bovino, ovino e caprino, que reside a base fundamental da epidemiologia da febre Q. Nestes animais a bactéria causa infeções persistentes que são geralmente assintomáticas, salvo distúrbios reprodutivos mais ou menos ligeiros, passando quase sempre despercebidas a veterinários e produtores. O agente é assim eliminado durante toda a vida do animal nas secreções e excreções como leite, fezes, urina, sémen, secreções vaginais e produtos do parto/aborto. Neste contexto, é particularmente importante a gravidez por estimular a proliferação de *C. burnetii* na placenta e as épocas de parição pelas quantidades massivas de microrganismos que são eliminados para o ambiente durante o parto ou aborto. Dado que *C. burnetii* tem a capacidade de produzir estruturas semelhantes a esporos muito leves e resistentes a condições físico-químicas extremas pode permanecer viável por longos períodos no meio ambiente e ser transportada por correntes de ar ou ventos dominantes a quilómetros de distância do foco original de excreção [2].

## Patogénese

A inalação de aerossóis contendo *C. burnetii* resultantes do contacto direto com animais infetados ou com ambientes contaminados é considerada a principal forma de infeção humana. A ingestão de leite e derivados não pasteurizados e de água de furos não tratada é também apontada como uma forma potencial de exposição. Outras vias alternativas de infeção são também referidas na literatura mas tidas como excecionais, como a via sexual, transfusional e transplacentária [3].

*C. burnetii* é uma bactéria intracelular obrigatória que tem como principais células alvo os macrófagos/monócitos, multiplicando-se no interior dos fagolisossomas. Dado que a via aerogénea é a principal via de infeção, defende-se que seja nos pulmões o primeiro local onde ocorre a proliferação do agente, que posteriormente se dissemina a outros órgãos através da circulação sanguínea [2].

Após um período de incubação geralmente de duas a três semanas (que pode variar entre nove e 39 dias), surge um quadro febril com ou sem focalização acompanhado por alterações hematológicas moderadas que recebe a designação de febre Q aguda. Entre as focalizações mais frequentes contam-se quadros de hepatite e/ou pneumonia atípica. Embora a maior parte das situações apresente um prognóstico favorável, as hospitalizações associadas à febre Q aguda evidenciam a morbidade que lhe está

associada. Contudo, a maior relevância e gravidade é devida à persistência da infecção e ao desenvolvimento de situações crônicas. A gravidez, imunodepressão (patológica ou induzida), doença valvular, vascular ou osteoarticular são tidos como fatores de risco para o desenvolvimento da febre Q crônica. Entre as manifestações clínicas de febre Q crônica contam-se abortos/nado-morto, aneurismas, osteomielite, hepatite crônica, mas principalmente endocardite, quase sempre de evolução lenta mas muito insidiosa. A febre Q crônica pode ser fatal se não tratada atempadamente, mas mesmo com uma intervenção antibiótica adequada, o regime necessário é agressivo e exige um tratamento prolongado com a possibilidade de efeitos secundários mas com o perigo de recidivas se suspenso antecipadamente [3].

Estima-se que a febre Q apenas se manifeste em 50% dos indivíduos infetados por *C. burnetii* e que apenas 2% das infecções venham posteriormente a evoluir para a fase crônica. Ainda assim, defende-se que em muitos casos a doença fica por diagnosticar pela inespecificidade do quadro clínico e fraco contexto epidemiológico com que muitos doentes se apresentam, considerando-se que de uma maneira geral a realidade da febre Q está subestimada em muitos dos países onde ocorre [3].

O tratamento de eleição da febre Q consiste na administração de doxiciclina. À semelhança de outras doenças associadas a ixodídeos, a prevenção baseia-se em evitar a parasitação por estes artrópodes, limitando a atividade em zonas de risco e reduzindo as áreas de pele exposta. A inspeção do corpo após qualquer atividade de risco é mandatória e ao identificar-se algum ixodídeo fixo à pele deve proceder-se de imediato à sua remoção. É também importante manter os animais domésticos e de companhia desparasitados. Para o controlo da contaminação ambiental por *C. burnetii* devem adotar-se boas práticas de manejo, nomeadamente a inativação do estrume, o planeamento dos partos, para que ocorram em ambiente interior e a inceneração das placentas. Para o controlo da excreção é recomendada a vacinação do efetivo pecuário sendo as vacinas inativadas com *C. burnetii* em fase I as mais efetivas. A vacinação de humanos é possível mas a vacina apenas é comercializada na Austrália e a sua aplicação está limitada aos indivíduos não imunes, após confirmação da sensibilidade por teste cutâneo.

## Diagnóstico laboratorial

De uma maneira geral o diagnóstico laboratorial de febre Q apoia-se essencialmente na serologia, com a avaliação dos títulos de IgG e IgM anti-*C. burnetii* em fase I e fase II,

---

sendo a técnica de referência a imunofluorescência indireta (IFA). Um caso de febre Q aguda é confirmado sempre que se verifique a presença de títulos de IgM e IgG de fase II numa amostra isolada, bem como, seroconversão ou aumento de 4x nos títulos em duas amostras consecutivas colhidas com um intervalo de 2-3 semanas. As situações de febre Q crónica são sugeridas por altos títulos de Ig G de fase I.

Salienta-se que o isolamento do agente (por inoculação em células de crescimento *in-vitro*) ou a deteção molecular (por PCR), são testes diretos particularmente úteis para a confirmação de caso tanto numa fase inicial da infeção aguda, quando os resultados serológicos ainda são negativos, como numa situação crónica. No primeiro caso, a amostra mais adequada é o sangue periférico recolhido em tubo com anticoagulante EDTA. Outras amostras que sejam consideradas pertinentes dada a focalização da doença aguda podem também ser utilizadas, tais como expectorado, lavado broncoalveolar, biópsias, etc. Nas situações crónicas, para além de sangue em EDTA, são particularmente úteis biópsias ou peças cirúrgicas recolhidas face ao quadro da infeção, tais como válvulas cardíacas, aneurismas, fragmentos vasculares, ósseos, placentários etc. Em qualquer dos casos, é importante complementar os testes diretos com a pesquisa de anticorpos circulantes por serologia [3].

## Situação em Portugal

Em Portugal a febre Q foi descrita em 1948, sendo uma doença de declaração obrigatória desde 1999 (ICD10:A78) mas defende-se que o verdadeiro impacto em saúde pública continua subavaliado. Esta é uma doença endémica, associada sobretudo à região sul do país e com uma incidência média de 0,10 casos por 100000 habitantes ano (1999-2007) [4]. Apesar da baixa casuística os dados oficiais sofrem de subnotificação, havendo ainda a considerar o facto da doença nem sempre ser devidamente diagnosticada, dada inespecificidade da apresentação clínica e o contexto epidemiológico vago, podendo ser confundida com outras zoonoses [5]. Assim, face ao desconhecimento da realidade desta zoonose, foi proposto e aprovado um projeto de investigação que arrancou em Abril de 2011 com o apoio da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (ref<sup>a</sup> PTDC/SAU-SAP/115266/2009). No âmbito deste projeto foi já reunida uma coleção nacional de *C. burnetii*, que conta com mais duas dezenas de isolados tanto de origem animal como de casos clínicos humanos e que permitiu caracterizar os grupos genómicos que circulam no país e avaliar o contexto epidemiológico da infeção aguda e crónica [6].

Todos os testes laboratoriais em voga para diagnóstico de febre Q constam da lista de análises disponibilizadas pelo INSA, incluindo a pesquisa de anticorpos IgG, IgM e IgA anti-*C. burnetii* em fase I e fase II por IFA, pesquisa de ADN por PCR e ensaio de isolamento do agente por *shell-vial* com células macrofágicas de crescimento *in-vitro*. Entre 2011- 2013 foram recebidos uma média anual de cerca de 530 pedidos de diagnóstico, registando-se uma taxa de positividade nas amostras da ordem dos 22%, tendo sido laboratorialmente confirmados cerca de 20 casos de infeção ativa por *C. burnetii* por ano.

### Bibliografia

1. Van der Hoek W, Schneeberger PM, Oomen T et al. Shifting priorities in the aftermath of a Q fever epidemic in 2007 to 2009 in the Netherlands: from acute to chronic infection. *Euro Surveill* 2012; 17:20059.
2. Maurin M, Raoult, D. Q Fever. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12(4):518-553.
3. Santos AS, Bacellar F, França A. Febre Q: revisão de conceitos. *Revista Portuguesa de Medicina Interna* 2007; 12(2):90-9.
4. DGS (Direcção Geral de Saúde), 2010. Febre Q, In: Doenças de Declaração Obrigatória 2004–2008, Publicação do Ministério da Saúde, pp. 61–62. Disponível em: <http://www.dgs.pt>
5. Santos AS, de Sousa R, Alves F, Proença P, Nuncio MS, Dumler JS, Bacellar F. Isolation of *Coxiella burnetii* from the blood of a patient with positive *Anaplasma phagocytophilum* serological results. *Clin Microbiol Infect* 2009;15 Suppl 2:192-3.
6. Santos AS, Tilburg JJ, Botelho A, Barahona MJ, Nuncio MS, Nabuurs-Franssen MH, Klaassen CH. Genotypic diversity of clinical *Coxiella burnetii* isolates from Portugal based on MST and MLVA typing. *Int J Med Microbiol* 2012; 302(6):253-6.



# BABESIOSE HUMANA

Maria Sofia Núncio

## Introdução

O primeiro caso comprovado de babesiose humana no mundo foi relatada na Europa, em 1957. Desde então, e só até 1998, mais de 28 casos infeções foram relatados na Europa [1]. A maior parte (83 %) das infeções em indivíduos eram esplênicos e a maioria (76 %) estavam infectados com *Babesia divergens*, um parasita do gado. As manifestações clínicas graves habituais nas infeções associadas a *B. divergens* incluem a hemólise intravascular grave com hemoglobinúria. Centenas de casos de infeção humana com *Babesia* spp. foram relatados nos EUA. A maioria dos casos foram infetados por carraças portadoras do parasita de roedores *B. microti*, mas foram detetadas outras espécies emergentes como *Babesia* spp. (atualmente conhecida como WA1, CA1 e MO1 ) estão cada vez mais envolvidos no surgimento de casos humanos. As populações de esplenectomizados, idosos, pacientes imunodeprimidos e infectados pelo HIV apresentam um risco acrescido para desenvolverem infeções graves. Alguns outros casos de infeção humana foram descritos na China, Egito , México, África do Sul e Taiwan [1].

## Agente

Existem mais de 100 espécies de babesias, embora sejam poucas as que causam doença nos humanos, das quais são exemplos a *Babesia microti*, encontrada na América, e *Babesia divergens*, uma das espécies mais frequentes nos bovinos e mais comum na Europa.

## Transmissão

A transmissão é mais comum em determinadas regiões e estações do ano: nos EUA ocorre principalmente em partes do Nordeste e Centro-Oeste e, geralmente, os picos de infeção ocorrem durante os meses quentes. Esta patologia pode variar de gravidade, podendo variar entre assintomática a causar risco de vida. A infeção é tanto tratável como evitável.

---

O ciclo de vida do parasita envolve, além do humano, mais dois hospedeiros, o rato e a carraça. Quando o rato é picado por uma carraça infetada, os esporozoítos são introduzidos e vão-se instalar nos glóbulos vermelhos do vetor definitivo, onde se realiza reprodução assexuada. Já no sangue do rato, estes parasitas podem diferenciar-se em gâmetas masculino e feminino. A carraça *Ixodes spp*, ao ingerir estes gâmetas permite a fertilização (reprodução sexuada) e assim a realização do ciclo esporogónico. Os humanos entram neste ciclo quando são picados por carraças portadoras de babesia. Assim há a introdução de esporozoítos que entram nos glóbulos vermelhos, havendo replicação assexuada, e posterior multiplicação de parasitas no sangue humano. Este fenómeno é responsável pelas manifestações clínicas da doença [2].

Outras formas possíveis de adquirir a infeção incluem as transfusão de sangue contaminado (nenhum teste foi licenciado ainda para triagem de doadores), ou transmissão de uma mãe infetada para o bebé durante a gravidez ou o parto.

### **Manifestações clínicas**

A maioria das infeções é assintomática. Os sintomas surgem depois de 1-4 semanas de incubação e são essencialmente: mal-estar geral, febre (sem periodicidade), sudação, arrepios, fadiga intensa, anemia hemolítica (causada por ruptura dos eritrócitos), insuficiência renal e hepato-esplenomegália. As manifestações da doença são mais severas em indivíduos imunodeprimidos ou esplenectomizados. As infeções causadas por *B. divergens* tendem a ser mais graves do que aquelas causadas por *B. microti* [2].

### **Diagnóstico**

Após a suspeita clínica, baseada nos sintomas do paciente, o diagnóstico laboratorial passa pela análise do hemograma e identificação do parasita no interior dos eritrócitos em análises de microscopia sanguínea, ou então por meios serológicos como a imunofluorescência indirecta (IFA) ou técnicas de biologia molecular como o PCR [2].

### **Tratamento e prevenção**

Em humanos, recorre-se essencialmente à clindamicina, em associação ou não com outros fármacos [2]. O uso de medidas de prevenção é especialmente importante para as pessoas em maior risco para a babesiose grave (por exemplo, as pessoas que não têm baço). Se possível, as áreas infestadas por carraças devem ser evitados,

especialmente durante os meses quentes. Se essas áreas não puderem ser evitadas, devem ser usadas medidas de proteção durante as atividades ao ar livre. Nenhuma vacina está disponível para proteger as pessoas contra babesiose.

## O impacto em Saúde Pública

O impacto em saúde humana da babesiose é maior do que aquele indicado pelo número de casos confirmados. As informações obtidas a partir de estudos em animais domésticos indicam que, para cada caso clinicamente demonstrado, há centenas de casos de infecção latente. Infecções inaparentes ou latentes são comuns em muitas infecções microbianas do homem e podem ser detetadas através da utilização de várias técnicas microbiológicas.

Para além da frequência de infecções latentes, a aquisição de conhecimentos sobre manifestações desta forma de babesiose é clinicamente importante. Existem apenas algumas zonas do mundo livres de babesiose. Em muitas regiões tropicais e subtropicais, a babesiose é endémica. Neste contexto, os trabalhadores agrícolas e pessoas que passam muito tempo em áreas rurais endémicas, incluindo os próprios médicos-veterinários, frequentemente entram em contacto com carraças infetadas, constituindo grupos de risco relativamente a esta e outras doenças transmitidas por carraças [3].

## Situação em Portugal

No INSA, o diagnóstico molecular está disponível mas, apesar de na década de 1990 terem sido detetados anticorpos específicos em dois doentes esplenectomizados (dados não publicados), nunca foi recebida nenhuma solicitação de diagnóstico laboratorial de babesiose nem confirmado nenhum caso de babesiose humana. Contudo, dado o número crescente de casos que estão a ocorrer na Europa e nos Estados Unidos, é provável que venham a ser detetados casos de importação desta patologia em Portugal.

## Bibliografia

1. Kjemtrup AM, Conrad PA. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. *Int J Parasitol.* 2000 Nov;30(12-13):1323-37.
2. Babesiosis. [http://www.cdc.gov/parasites/babesiosis/gen\\_info/index.html](http://www.cdc.gov/parasites/babesiosis/gen_info/index.html)
3. Kreier, Julius P. (1977), *Parasitic Protozoa*, ed. Academic Press, vol.IV, 59,60,235,236,243.



# V. DOENÇAS ASSOCIADAS A PULGAS



# PESTE

Isabel Lopes de Carvalho, Maria Sofia Nuncio

## Introdução

A peste é uma infeção causada pela bactéria *Yersinia pestis*, tendo como potenciais reservatórios os roedores e como artrópode vetor, a pulga. Esta infeção é transmitida ao Homem através da picada deste artrópode mas também através do contacto com tecidos e fluidos orgânicos infetados. No caso da peste pneumónica a transmissão faz-se através da inalação de aerossóis [1].

A doença está associada a locais onde a transmissão pessoa a pessoa seja muito propícia e as condições sanitárias e de higiene pessoal favoreçam a proliferação e passagem do vetor de um hospedeiro para outro. A proliferação dos reservatórios (populações de ratos) e das pulgas que os parasitam, juntamente com a sua expansão para os locais onde habita o Homem, podem favorecer o aparecimento desta doença.

Habitualmente a peste aparece associada a catástrofes como a guerra ou no seguimento de desastres naturais de grandes dimensões que causam a interrupção das medidas sanitárias e onde as populações muitas vezes são obrigadas a recorrer a abrigos sobrelotados, favorecendo a passagem das pulgas infetadas de uns hospedeiros para outros.

Os últimos surtos de peste foram reportados na Índia durante a primeira metade do Séc. XX e no Vietname durante a Guerra (1960-1970). Nos dias de hoje a peste é endémica na África subsariana e Madagáscar onde ocorrem mais de 90% dos casos. A peste também é endémica em algumas zonas dos EUA [1].

## Situação em Portugal

Portugal terá sido atingido pela peste em 1348 que levou à morte entre um terço e metade da população, segundo as estimativas mais credíveis, levando o país ao caos. Foram inclusivamente convocadas as cortes em 1352 para restaurar a ordem. Um dos efeitos indiretos da peste em Portugal seria a revolução após o reinado de D. Fernando (Crise de 1383-1385) [2]

---

A peste voltou a Portugal várias vezes até ao fim do século XVII, onde a Grande Peste de Lisboa, em 1569, terá matado 600 pessoas por dia, ao todo 60 000 habitantes da cidade terão morrido. A última grande epidemia foi em 1650. No entanto, no seguimento da terceira pandemia, em 1899, a peste foi importada para o Porto a partir do Oriente, provavelmente de Bombaim. A epidemia do Porto foi alvo de investigação por Ricardo Jorge, que instituiu as medidas de saúde pública necessárias e que a conseguiram limitar [2]. Atualmente, baseado nos dados disponíveis, a peste encontra-se erradicada em Portugal. No entanto, podem aparecer alguns casos de importação através de pessoas que venham infetadas de países onde esta doença é endémica. A UREB/INSA tem capacidade instalada para a deteção rápida deste agente infeccioso.

Em Portugal, esta doença atualmente está incluída na lista de doenças de notificação obrigatória mas nos últimos anos não têm sido enviados pedidos de diagnóstico ao INSA nem se conhece a existência de casos autóctones. Contudo alguns relatos na Europa alertam para a possibilidade de importação de casos de indivíduos que viajaram para zonas endémicas, nomeadamente profissionais da área da saúde e da segurança que por motivos humanitários, ou para o aparecimento de pequenos surtos em países europeus associados a emigrantes ilegais, que muitas vezes se convertem em sem-abrigo, provenientes de zonas endémicas [3].

## **Bibliografia**

1. Stenseth NC, Atshabar BB, Begon M, Belmain SR, Bertherat E, Carniel E, Gage KL, Leirs H, Rahalison L. Plague: past, present, and future. *PLoS Med.* 2008; 15;5:e3. doi: 10.1371.
2. David de Morais JA. A peste bubónica nos Açores no século XX: Estudo analítico a partir das estatísticas oficiais e do romance "Mau tempo no Canal" de Vitorino Nemésio. *Revista Atlântida* vol. LVI 2011.
3. Brouqui P; Raoult D. Arthropod-borne diseases in homeless. *Ann N Y Acad Sci*; 1078: 223-35, 2006 Oct.

# RICKETTSIAS TRANSMITIDAS POR PULGAS

Rita de Sousa

O grupo das Rickettsias patogénicas para o homem transmitidas por pulgas estão incluídas duas espécies: *R. typhi* do grupo do tifo e o agente do tifo murino e a *Rickettsia felis*, pertencente ao grupo das febres exantemáticas.

## TIFO MURINO OU ENDÉMICO

Em Portugal o tifo murino foi reconhecido pela primeira vez em 1940 e na década de noventa foram descritos casos de doença pontuais na região de Lisboa e a ocorrência de um surto em 1996 na ilha de Porto Santo, no arquipélago da Madeira [1,2].

## Epidemiologia

*R. typhi* tem uma distribuição mundial e é mantida num ciclo natural que envolve particularmente roedores como reservatórios hospedeiros e os seus vetores. O principal vetor é a pulga *Xenopsylla cheopis*, também designada como pulga do rato. Contudo, para além de *X. cheopis*, outras espécies de pulgas estão implicadas na transmissão de *R. typhi* nomeadamente a pulga do gato, *C. felis* e a espécie *Leptopsylla segnis*, responsável pela transmissão deste agente no surto de tifo murino ocorrido em 1996, na Ilha de Porto Santo do arquipélago da ilha da Madeira [2,3].

## Infeção e manifestações clínicas

*R. typhi* é transmitida principalmente pela introdução de fezes de pulgas infetadas através das lesões da pele causadas pela abrasão da ferida onde a pulga picou. Alguns autores referem que em alguns casos a transmissão pode ocorrer diretamente pela alimentação da pulga no homem ou por inalação através de aerossóis.

O período de incubação da doença é de cerca de oito a 16 dias. Os sintomas surgem em geral de forma súbita com manifestações semelhantes às outras rickettsioses como febre, cefaleias intensas, *rash*, porta de entrada (picada), acompanhados por arrepios, mialgias e náuseas.

---

O surto em 1996 na ilha de Porto Santo, no arquipélago da Madeira envolveu um total 12 casos de infeção confirmados serologicamente. As manifestações clínicas predominantes foram febre (100%), cefaleias (87%), mialgias (85%), artralgias (90%), e ar-repios/tremores (70%). Apesar de em geral estar descrita entre 20-80% dos casos a presença de exantema, neste grupo de doentes não foi referido a presença do mesmo. Mortalidade é em geral baixa (1%) quando instituída terapêutica específica [4].

### **Diagnóstico laboratorial**

O diagnóstico laboratorial pode ser feito com base na serologia para distinguir o tifo murino de uma infeção causada por rickettsias do grupo das febres exantemáticas. É sugerida confirmação por seroconversão (aumento do título 4x) com base nos títulos de anticorpos determinados em duas amostras consecutivas colhidas com um intervalo de 2-3 semanas. O diagnóstico pode ainda ser efetuado com base no isolamento ou deteção molecular (PCR) do agente numa amostra de sangue periférico. Entre 2011- 2014 apesar de terem sido recebidos alguns pedidos de diagnóstico para pesquisa de anticorpos para *R. typhi* não foram confirmados laboratorialmente casos de infeção pelo respetivo agente nas amostras enviadas para o CEVDI.

O principal meio de prevenção de rickettsioses transmitidas por pulgas é limitar a exposição às pulgas, que podem ou não estar infetadas. É aconselhável por isso a administração de produtos específicos (inseticidas) adequados a esse fim, eliminando as pulgas dos locais infestados e/ou dos animais domésticos.

Os programas de eliminação de roedores, nomeadamente em zonas urbanas devem ser sempre acompanhados de um programa paralelo para a eliminação dos seus ectoparasitas, uma vez que o ciclo de vida destes depende dos roedores para se alimentarem e a sua ausência pode fazer com que procurem outros hospedeiros, nomeadamente o Homem. Não há vacinas para proteger o Homem ou os animais de estimação da infeção por *R. felis* ou *R. typhi*.

### **INFEÇÃO POR *R. FELIS***

O primeiro caso de infeção humana por *Rickettsia felis* for descrito em 1994 num doente do Texas, Estados Unidos, colocando em evidência a capacidade desta espécie, em causar doença no homem. Na última década, casos de infeção por *R. felis* foram confirmados laboratorialmente em países do continente Americano (USA, México, Brasil), Europa (Espanha), África (Tanzânia) e Ásia incluindo a Nova Zelândia [5].

## Epidemiologia

*R. felis* denominada inicialmente como agente ELB foi detectada pela primeira vez em 1990 em pulgas de gato, *Ctenocephalides felis*. Posteriormente foi detectada noutras espécies de pulgas como *C. canis*, *Pulex irritans* e *X. cheopis* colhidas em diferentes animais domésticos e silváticos [3]. Existem ainda casos pontuais da sua deteção em carraças nomeadamente *R. sanguineus* [6]. Esta Rickettsia, de distribuição mundial está descrita em Portugal em pulgas das espécies *Archaeopsylla erinacei* e *Ctenophthalmus sp* colhidas em ouriço e ratos, respectivamente [3].

## Infeção e manifestações clínicas

As manifestações clínicas mais comuns nestes doentes assemelham-se às manifestações referidas por outras rickettsioses sendo em geral cefaleias, febre, rash difuso, calafrios, mialgias, artralgias e escara no local de uma picada de pulga. Em Portugal até à data não existem casos humanos descritos.

## Diagnóstico laboratorial

A confirmação do diagnóstico clínico pela infeção específica por *R. felis* requer o isolamento ou a deteção molecular do agente (PCR) e sequenciação. Devido a reações cruzadas dentro do grupo das febres exantemáticas, a serologia, por si só não possibilita a identificação da espécie de rickettsia dentro deste grupo.

## Bibliografia

1. Pinto MRC. "Tifo Murino". Lisboa: IPO e Instituto Bacteriológico Câmara Pestana, 1945.
2. Bacellar F, Lencastre I, Filipe AR. "Is murine typhus re-emerging in Portugal?" Euro Surveill 1998; 3(2): 18-20.
3. De Sousa R, Edouard-Fournier P, Santos-Silva M, Amaro F, Bacellar F, Raoult D. Molecular detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi* and two genotypes closely related to *Bartonella elizabethae*. Am J Trop Med Hyg. 2006 Oct;75(4):727-31.
4. Freitas L, Freitas E, Barros A, Bacellar F, Fraga C, Almeida V et al. "Murine typhus: an outbreak in Madeira archipelago". Antimicrobics and Infectious Diseases Newsletter 1996; 15(9): 64-6.
5. Pérez-Osorio CE, Zavala-Velázquez JE, Arias León JJ, Zavala-Castro JE. *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. Emerg Infect Dis. 2008 Jul;14(7):1019-23. doi: 10.3201/eid1407.071656.
6. Abarca K, López J, Acosta-Jamett G, Martínez-Valdebenito C. *Rickettsia felis* in *Rhipicephalus sanguineus* from two distant Chilean cities. Vector Borne Zoonotic Dis. 2013 Aug;13 (8):607-9.

---

# VI. DOENÇAS ASSOCIADAS A PIOLHOS



# TIFO EPIDÉMICO

Rita de Sousa

O agente etiológico do tifo epidémico, *Rickettsia prowazekii*, é transmitido ao homem através do piolho do corpo (*Pediculus humanus humanus*).

## Epidemiologia

O tifo epidémico está particularmente associado a más condições de higiene que favorecem a disseminação dos piolhos, como por exemplo em situações de guerra ou catástrofes ambientais envolvendo movimentação de populações desalojadas (por ex. campos de refugiados [1]). Alguns casos esporádicos de tifo epidémico nos Estados Unidos estão ainda relacionados com a transmissão através de pulgas e piolhos que parasitam esquilos voadores (*Glaucomys volans*). De todas as rickettsioses conhecidas, só no tifo epidémico o homem é reservatório do agente. O piolho é infetado com *R. prowazekii* quando se alimenta num doente rickettsiémico. As rickettsias multiplicam-se nas glândulas salivares do piolho e infetam posteriormente as suas fezes. Durante a alimentação no hospedeiro o homem infeta-se com as fezes através da inoculação de feridas causadas pela abrasão da pele. O facto de o piolho abandonar o cadáver do hospedeiro ou doentes com febre alta (> 40°C) aumenta a sua eficiência como vetor, uma vez que assim vai procurar e parasitar um novo hospedeiro não infetado, propagando a infeção. Por outro lado o piolho infetado não tem a capacidade de transmitir a infeção à sua descendência e a doença, em geral, dissemina-se pessoa a pessoa pela via do piolho. Os piolhos infetados morrem ao fim de uma a duas semanas. Os casos de doença aparecem em geral nos meses mais frios.

A doença de Brill - Zinsser, uma forma recrudescente e mais moderada de tifo epidémico, pode aparecer passado alguns anos da ocorrência da forma aguda da doença, provavelmente relacionado com fatores de imunidade e idade avançada. A maior parte dos casos relatados (> 90%) de doença de Brill - Zinsser são de doentes que emigraram de zonas endémicas ou que estiveram expostos na Segunda Guerra Mundial ao tifo epidémico [2]. As rickettsias do grupo do tifo podem manter-se

---

dormentes durante anos e posteriormente sofrer um processo de reactivação por debilitação do sistema imunitário.

## Manifestações Clínicas

O período inicial da doença (1-3 dias) é caracterizado por um quadro inespecífico de febre, dores de cabeça, e mialgias. A partir do quinto dia o aparecimento do exantema está descrito em 20 a 80% dos casos e pode ser do tipo petequial ou maculopapular. A taxa de mortalidade sem tratamento é cerca de 20 a 30%. Em doentes sem complicações a temperatura corporal volta ao normal em duas semanas mas a completa convalescença da doença pode demorar cerca de três meses. Na doença de Brill- Zinsser quando os sintomas aparecem e a bacteriémia ocorre a forma da doença é mais moderada [1].

Tetraciclinas, doxiciclina e cloranfenicol são eficazes no tratamento das infeções por *R. prowazekii*.

## Diagnóstico Laboratorial

O teste de confirmação do diagnóstico clínico mais utilizado é a técnica de imunofluorescência indirecta. Outras técnicas de diagnóstico como imunohistoquímica em biópsias de pele, PCR e isolamento a partir de amostras de sangue podem ser alternativas a outras técnicas, mas implica a sua realização em laboratórios especializados.

## Bibliografia

1. Bechah Y, Capo C, Mege JL, Raoult D. Epidemic typhus. *Lancet Infect Dis.* 2008 Jul;8(7):417-26.
2. Faucher JF, Socolovschi C, Aubry C, Chirouze C, Hustache-Mathieu L, Raoult D, Hoen B. Brill-Zinsser disease in Moroccan man, France, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2012 Jan;18(1):171-2. doi: 10.3201/eid1801.111057.

# FEBRE DAS TRINCHEIRAS

Rita de Sousa

A febre das trincheiras é causada por *Bartonella quintana* é transmitido ao homem através do piolho do corpo (*Pediculus humanos humanus*).

## Taxonomia

O género *Bartonella* está incluído no sub-grupo das alfa-proteobacterias, ordem Rhizobiales, família Bartonellaceae. O género *Bartonella*, classificado durante muito tempo na ordem Rickettsiales foi reclassificado recentemente na ordem Rhizobiales e está filogeneticamente mais próximo dos géneros *Brucella*, *Rhizobium* e *Agrobacterium* do que das rickettsias.

Os membros do género *Bartonella* são bactérias intracelulares facultativas, Gram - negativas de forma cocobacilar. Têm como particular estratégia para se multiplicarem a infeção dos eritrócitos e todos os membros são organismos de crescimento muito fastidioso. *B. quintana* está descrita em todos os continentes.

## Epidemiologia

As primeiras descrições de infeção causada por *B. quintana* surgiram durante a I Guerra Mundial, e ficou conhecida pela febre das trincheiras (ocorria nos soldados que lutavam nas trincheiras europeias). Estima-se que durante este período esta febre tenha afectado mais de 1 milhão de pessoas nas frentes ocidental e oriental da Europa. Posteriormente a doença foi descrita esporadicamente na Europa, Ásia e Norte de África e alguns surtos de doença foram também relatados durante a Segunda Guerra Mundial. Na sua maioria, estes casos de infeção estavam associados a situações de condições precárias de higiene, falta de saneamento e com as populações desabrigadas [1].

Actualmente na Europa e na América do Norte, a infeção por *B. quintana* está particularmente associada com pessoas socialmente desfavorecidas, e relacionada com a pobreza, alcoolismo e sem abrigo.

---

## Infeção e manifestações clínicas

*B. quintana* é transmitida ao homem pelo piolho do corpo (*Pediculus humanus humanus*). A bactéria é excretada nas fezes do piolho e penetra na pele através de pequenas lesões decorrentes da abrasão causada pelo coçar das picadas dos piolhos. O homem é o único reservatório conhecido.

*Bartonella quintana* foi originalmente descrita como o agente etiológico da febre das trincheiras e só mais foi tarde associada a outras patologias, como a endocardite e angiomatose bacilar [1].

As descrições das manifestações clínicas associadas com infeções de *B. quintana* variam consideravelmente e incluem desde infeção assintomática, a doença febril recorrente (febre das trincheiras), endocardite com “cultura negativa” e angiomatose bacilar. A causa da variabilidade das manifestações clínicas é desconhecida, mas pode estar relacionada com o hospedeiro ou a variabilidade genética de diferentes estirpes de *B. quintana*.

De acordo com o acima descrito as manifestações podem ser:

- febre das trincheiras: febre de início súbito, muitas vezes acompanhada de dor de cabeça, mal-estar e artralguas nos membros inferiores, particularmente nas canelas. Os doentes podem experimentar um ou vários episódios de febre recorrente aproximadamente a cada cinco dias. Após a fase febril da doença, alguns doentes recuperam completamente, enquanto outros podem manter a infeção sem manifestações clínicas aparentes. Como resultado, podem ocorrer recidivas de muitos meses ou anos após o episódio inicial mesmo com tratamento antibiótico com tetraciclina.
- endocardite: a bacteriémia crónica associada ao desenvolvimento de endocardite e que pode ocorrer em doentes sem história prévia de doença cardíaca.
- angiomatose bacilar: as manifestações clínicas da angiomatose bacilar são representadas por lesões de proliferação vascular decorrentes da resposta angiogénica determinada pelas bartonelas. As lesões da angiomatose bacilar apresentam localização variada, podendo envolver todo o organismo, incluindo as mucosas, embora as lesões cutâneas sejam as mais frequentemente reconhecidas. As manifestações mais comuns da angiomatose são lesões papulosas, angiomatosas ou papulonodulares. Estas lesões aparecem especialmente em indivíduos imunocomprometidos, em especial HIV positivos.

No tratamento das infeções por *B. quintana* é recomendado o uso de doxiciclina, eritromicina ou azitromicina, sendo o tempo de tratamento variável de acordo com o tipo de manifestação (p. ex: bacterémia, endocardite)

No caso da endocardite para além do tratamento com o antibiotico pode ser necessária a cirurgia e a substituição das válvulas cardíacas.

## Diagnóstico Laboratorial

A confirmação do diagnóstico clínico com base no diagnóstico laboratorial pode ser realizado através do isolamento do agente (requer 20-40 dias), serologia ou técnicas de biologia molecular (PCR). A serologia é específica e existem diferentes kits comerciais no mercado quer de ELISA quer de imunofluorescência. No entanto alguns estudos serológicos mostraram que casos esporádicos de infeção por *C. burnetii* podem ter reacções cruzadas e originar resultados falsos positivos para *B. quintana* e que a mesma pode induzir reacções cruzadas com clamídia. Em geral, a maioria dos doentes imunocompetentes com endocardite causada por *B. quintana* apresentam serologia positiva com títulos elevados de anticorpos (IgG > 1600).

Em situações em que é necessário realizar cirurgia e substituição de válvulas, a deteção molecular por PCR nas vegetações das válvulas cardíacas é útil para a confirmação do diagnóstico clínico. O mesmo procedimento pode ser utilizado para a deteção de DNA de *Bartonella* em biópsias das lesões de angiomatose bacilar ou no sangue de doentes bacteriémicos. A imunohistoquímica pode ser também utilizada como técnica de diagnóstico em biópsias de pele de doentes com angiomatose bacilar. Esta técnica é útil para fazer o diagnóstico diferencial com outras patologias. A presença das bactérias pode ser demonstrada pela coloração Warthin-Starry.

Apesar de haver descrições de infeção por *B. quintana* em doentes portugueses nos últimos três anos não foi confirmado laboratorialmente nenhum caso de infeção por *B. quintana* no CEVDI [2,3].

## Bibliografia

1. Kaiser PO, Riess T, O'Rourke F, Linke D, Kempf VA. Bartonella spp.: throwing light on uncommon human infections. Int J Med Microbiol. 2011 Jan; 301(1):7-15.
2. Santos R, Cardoso O, Rodrigues P, Cardoso J, Machado J, Afonso A, Bacellar F, Marston E, Proença R. Bacillary angiomatosis by Bartonella quintana in an HIV-infected patient. J Am Acad Dermatol. 2000 Feb;42(2 Pt 1):299-301.
3. Childs JE, Olson JG, Wolf A, Cohen N, Fakile Y, Rooney JA, Bacellar F, Regnery RL Prevalence of antibodies to Rochalimaea species (cat-scratch disease agent) in cats. Vet Rec. 1995 May 20;136(20):519-20. No abstract available.



# FEBRE RECORRENTE EPIDÉMICA OU FEBRE RECORRENTE POR PIOLHO

Maria Sofia Núncio, Isabel Lopes de Carvalho

## Introdução

A febre recorrente epidémica ou cosmopolita, é uma infeção causada por *Borrelia recurrentis*, transmitida ao Homem pelo piolho do corpo (*Pediculus humanus humanus*), enquanto este realiza a sua refeição sanguínea. Esta subespécie vive e multiplica-se nas roupas e a infestação humana tradicionalmente está associada a temperaturas frias e declínio das condições sociais e de higiene provocadas pela instabilidade económica, ocorrência de guerras e, conseqüentemente, de populações desalojadas sobretudo em campos de refugiados. Surpreendentemente, atualmente observa-se uma reemergência desta patologia um pouco por todo o mundo [1]. O piolho alimenta-se do sangue do hospedeiro infectado. *B. recurrentis*, passa do intestino do piolho para a cavidade celómica e multiplica-se na hemolinfa. O piolho infectado excreta *B. recurrentis* nas fezes, o que explica a rapidez com que uma epidemia pode ocorrer. O piolho, que não é afetado pela borrelia, fica portador da bactéria o resto da sua vida (superior a 30 dias), não a transmitindo contudo à sua descendência.

A doença no Homem manifesta-se pela ocorrência de ciclos de febre (2-9 dias) intervalados por períodos não febris (2-4 dias), que se podem repetir entre uma e 10 vezes. A forma epidémica é mais grave e dura cerca de 13-16 dias. O único hospedeiro de *B. recurrentis* é o Homem, pelo que este agente etiológico circula entre o Homem e o piolho. Apesar da principal via de infeção ser o contacto com as fezes contaminadas, o esmagamento do piolho infetado também pode proporcionar um meio de infeção uma vez que estes microrganismos são muito infetantes e podem penetrar pelas mucosas ou mesmo através da pele intacta.

A febre recorrente por piolho é uma doença cosmopolita. Ao longo da história, existem registos de grandes epidemias desta doença. Durante a primeira guerra mundial houve uma grande epidemia na Rússia, entre as duas guerras mundiais na África

---

de leste, durante a segunda guerra mundial no norte de África e durante as guerras da Coreia e do Vietname. Atualmente, a doença ocorre endemicamente em alguns países africanos (Etiópia, Sudão e países limítrofes) e no Peru, associada a condições de pobreza, desintegração social por catástrofes e guerras, o que favorece a proliferação da população de piolhos [1].

O tratamento da doença é realizado através da aplicação de antibióticos como a tetraciclina e a penicilina. Entre as medidas de controlo mais eficazes encontra-se a eliminação dos piolhos que possam entrar em contacto com o portador infetado. A eliminação dos piolhos é conseguida através da utilização de inseticidas na roupa do corpo e da cama, lavagem da roupa e aplicação de produtos adequados existentes no mercado. É de sublinhar que esta subespécie de piolho habitualmente se encontra solto nas roupas dos indivíduos e não fixados, como acontece com o *Pediculus humanus capitis*, piolho comum da cabeça.

### **Situação em Portugal**

Em Portugal, esta doença atualmente não está incluída na lista de doenças de notificação obrigatória e nos últimos anos não têm sido enviados pedidos de diagnóstico ao CEVDI/INSA nem se conhece a existência de casos autóctones. Contudo alguns relatos na Europa alertam para a possibilidade de importação de casos de indivíduos que viajaram para zonas endémicas, nomeadamente profissionais da área da saúde e da segurança que por motivos humanitários, ou para o aparecimento de pequenos surtos em países europeus associados a emigrantes ilegais, que muitas vezes se convertem em sem-abrigo, provenientes de zonas endémicas [1,2].

### **Bibliografia**

1. Brouqui P; Raoult D. Arthropod-borne diseases in homeless. Ann N Y Acad Sci; 1078: 223-35, 2006 Oct.
2. Houhamdi L; Parola P; Raoult D. [Lice and lice-borne diseases in humans]. Med Trop (Mars); 65(1): 13-23, 2005

# VII. DOENÇAS ASSOCIADAS A ROEDORES

---

# HANTAVIROSES

Maria João Alves

## Introdução

Os Hantavírus conhecidos como agentes etiológicos da Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), na Europa e Ásia, e da Síndrome Cardio-Pulmonar por Hantavírus (SCPH) na América são vírus transmitidos por roedores e insectívoros. Os Hantavírus provocam nos micromamíferos infeções crónicas, aparentemente assintomáticas. A transmissão ao ser humano é feita, principalmente, por via respiratória, e é o resultado do contacto com o micromamífero infectado ou com as suas excreções. A SCPH pode também ser transmitida pessoa a pessoa e a FHSR por transfusões de sangue [1,2].

Na Ásia registam-se anualmente cerca de 150 000 casos de infeções por Hantavírus [3]. Na Europa, onde vários Hantavírus são endémicos, são diagnosticados anualmente mais do que 10 000 casos de FHSR [4].

## Taxonomia e distribuição

Os Hantavírus (género *Hantavirus*, família Bunyaviridae) são vírus com invólucro e com genoma de RNA monocatenário, trisegmentado, de polaridade negativa. Atualmente são conhecidos 24 espécies de vírus neste género [5].

Cada espécie de Hantavírus está claramente associada a um hospedeiro natural micromamífero e a ecologia de cada um dos vírus reflecte-se na ecologia do hospedeiro. As análises filogenéticas sugerem que houve uma longa co-evolução vírus-roedor, o que implica que a distribuição geográfica dos Hantavírus está limitada à distribuição geográfica dos seus hospedeiros naturais.

Na Europa os Hantavírus mais importantes são o Puumala (PUU) transmitido por *Myodes glareolus*, na Escandinávia e Europa Central, o Dobrava (DOB), Saaremaa (SAA) e Haantan (HTN) transmitidos por *Apodemus*, em toda a Europa Central e Ocidental e o vírus Seoul (SEO) transmitidos por *Rattus*, presentes em toda a Europa [4].

---

## Patogénese

As hantavíroses podem ser assintomáticas ou provocar mortalidades elevadas. Todos os sinais e sintomas podem-se resumir ao facto das células infectadas perderem a permeabilidade capilar.

### I - Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR)

Em 1954, num simpósio sobre Febre Hemorrágica da Coreia, as manifestações clínicas de FHSR eram descritas como “numerosas, variadas, numa sequência rápida e confusa” [6]. Ainda hoje esta descrição parece apropriada.

A FHSR representa uma das mais severas doenças hemorrágicas, com índices de mortalidade de 5 a 20% [7, 3]. A severidade da FHSR é variável de acordo com a espécie de vírus que a provoca, sendo mais graves com HTN e DOB-SAA, seguido de PUU e SEO.

A FHSR caracteriza-se por febre, trombocitopenia, disfunção renal, proteinúria e insuficiência renal. Normalmente, reconhecem-se cinco fases: I-febril, II-hipotensa, III-oligúrica, IV-diurética e V-convalescença [6,8]. O tempo de incubação é, em média, de duas semanas, mas pode variar entre cinco e 42 dias.

O tratamento é, sobretudo, suportativo requerendo, normalmente, hospitalização, monitorização na fase aguda, suporte electrolítico e controlo da pressão sanguínea. O único tratamento descrito, mas só eficaz nas fases mais precoces da evolução da doença, é com ribavirina [9]. Na Europa não existe vacina.

Cerca de 5% dos doentes hospitalizados por infeções com PUU e 16-48% com DOB recorrem a diálise e a cuidados intensivos prolongados [4].

### II - Síndrome Cardio-Pulmonar por Hantavírus (SCPH)

O primeiro surto de SCPH ocorreu em 1993, na fronteira de quatro estados norte-americanos, nomeadamente New Mexico, Arizona, Colorado e Utah. O Hantavírus isolado denominou-se vírus Sin Nombre [10]. Na altura, notou-se a semelhança dos sintomas com algumas febres hemorrágicas, sobretudo com a FHSR. Estas semelhanças incluíam febre, arrepios, mialgias, seguidos de instabilidade hemodinâmica, choque, trombocitopenia, neutrofilia com diferenciação imatura e linfocitose atípica com formas plasmacitóides e imunoblastos. A SCPH é diferente da FHSR na severidade e proeminência do edema pulmonar e na ausência da doença renal e hemorragias. A mortalidade associada aos casos de SCPH atinge os 35% [11].

## Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico das infeções por Hantavírus baseia-se, sobretudo, na serologia. Os anticorpos IgM e IgG estão presentes logo nos primeiros dias após a infeção.

O diagnóstico indireto, serológico, específico da infeção é particularmente necessário em casos de doentes com sintomas ligeiros ou aspectos clínicos atípicos ou para casos que ocorram em regiões geográficas onde estas infeções ainda não foram reconhecidas. A imunofluorescência indirecta (IFA), com cultura de células infectadas com diferentes espécies de Hantavírus, é uma técnica amplamente utilizada no diagnóstico, assim como os testes imunoenzimáticos (ELISA e *Immunoblot*) com utilização de proteínas recombinantes. Os anticorpos antivirais detetados por IFA surgem logo no início da doença, normalmente na primeira semana, e é frequente haver reações cruzadas entre Hantavírus. Os anticorpos neutralizantes são detectados precocemente e, tal como os anticorpos fluorescentes, persistem por duas ou mais décadas.

A infeção humana pode também ser confirmada por técnicas de diagnóstico directo como a reacção de polimerase em cadeia (RT-PCR), embora sem sucesso em cerca de 2/3 dos doentes [12], e o isolamento do vírus do soro ou sangue total em culturas celulares ou roedores susceptíveis, o que implica manipulação das amostras em laboratórios nível de biossegurança 3.

O diagnóstico laboratorial, epidemiologia e investigação de Hantavírus em humanos e roedores são realizados, desde 1991, no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge [13,14,15].

## Situação em Portugal

Em Portugal os primeiros casos clínicos de infeções por Hantavírus com confirmação laboratorial foram identificados em 1993, 1996 e 1998 [16,17,18].

Todos os anos são confirmados novos casos apesar de a incidência ser bastante baixa (de 0-5 casos/ano) [19].

Em inquéritos epidemiológicos feitos ao longo das duas últimas décadas foi identificada, cerca de 1% de seropositividade na população portuguesa saudável. Em grupos de risco (com maior probabilidade de exposição a roedores) a prevalência determinada foi de 2% e em dois amplos estudos, separados por uma década, em doentes hemodialisados foi de 3 e 4%, associando, provavelmente, uma infeção prévia por Hantavírus à doença renal crónica [20].

---

As hantavíroses representam um problema de saúde pública na Europa. Em Portugal, apesar da baixa incidência determinada até ao momento, a gravidade do percurso clínico e a possibilidade de ocorrerem casos emergentes justificam a necessidade da disponibilidade do diagnóstico laboratorial e da sensibilização da classe médica para esta virose transmitida por roedores.

## Bibliografia

1. Padula PJ, Edelstein A, Miguel SD, López NM, Rossi CM, Rabinovich RD. Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virology* 1998; 241: 323–330.
2. Sinisalo M, Vapalahti O, Ekblom-Kullberg S, Laine O, Rintala H, Vaheeri A. Headache and low platelets in a patient with acute leukemia. *Journal of Clinical Virology* 2010; 48: 159–161.
3. Lee, HW. Epidemiology and pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome. In: R.M. Elliott (Ed.), *The Bunyaviridae* (pp. 253-267). 1996 New York: Plenum Press.
4. Vaheeri A, Henttonen H, Voutilainen L, Mustonen J, Sironen T, Vapalahti O. Hantavirus infections in Europe and their impact in public health. *Reviews in Medical Virology* 2013; 23: 35-49.
5. ICTV 2014 - <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
6. Earle, D.P. Ed. Symposium on epidemic hemorrhagic fever. *Am. J. Med.* 1954; 16: 617-709.
7. Hjelle, B.; Jenison, S.; Goade, D. E.; Green, W. B.; Feddersen, R. M.; Scott, A. Hantaviruses: Clinical, microbiologic and epidemiologic aspects. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1995; 32 (5): 469-508.
8. WHO. Haemorrhagic fever with renal syndrome: Memorandum from a World Health Organization meeting. *Bulletin of the WHO* 1983; 61: 269-275.
9. Huggins, J.W.; Hsiang, C.M.; Cosgriff, T.M. et al. Prospective, double-blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy for hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1991; 164: 119-127.
10. Nichol, S. T.; Spiropoulou, C. F.; Morzunov, S.; Rollin, P. E.; Ksiazek, T. G.; Feldman, H.; Sanchez, A.; Childs, J.; Zaki, S.; Peters, C. J. Genetic identification of a novel Hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness in the southwestern United States. *Science* 1993; 262: 914-917.
11. Kruger D, Schonrich G, Klempa, B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Human Vaccines* 2011; 7:6, 1-9.
12. Plyusnin A, Hörling J, Kanerva M, et al. Puumala hantavirus genome in patients with nephropathia epidemica: correlation of PCR positivity with HLA haplotype and link to viral sequences in local rodents. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1090–96.
13. Filipe AR, Andrade HR, Sommer AI, Traavik T. Hantaviral antigens and antibodies in wild rodents in Portugal. *Acta virol.* 1991; 35: 287-291.
14. Alves MJ, Filipe AR. Diagnóstico laboratorial de hantavíroses. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1999; 22 (3-4): 165-169.
15. Alves MJ, Hjelle B, Mathias ML, Filipe AR. Serological evidence of Hantavirus and LCM virus in rodents in Southern Portugal, *Mus spretus* a possibly carrier for new Hantavirus and LCM virus strain. "Emergence and control of rodent-borne diseases (Hantaviruses and Arenaviruses)" Conference, 28-31/10/1998; Abstract book p 93.

16. Monteiro, J.; Mesquita, M.; Alves, M.J.; Filipe, A. R. Febre Hemorrágica com Síndrome Renal, Primeiro caso clínico diagnosticado em Portugal. *Rev. Port. Doenças Infec.* 1993; 16 (3): 209-214.
17. David de Morais JA, Alves MJ, Filipe AR, Pires C. Evidência epidemiológica e clínica da provável presença de Hantavirus na região do Alentejo – a propósito de um caso clínico. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1996; 19 (3-4): 213-218.
18. David de Morais JA, Páscoa B, Sousa A, Menezes C, Alves MJ, Filipe A. Infeção por Hantavirus, com quadro clínico de falência multi-órgãos. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1998; 21 (3): 120-125.
19. Heyman P, Ceianu CS, Christova I, Tordo N, Beersma M, Alves MJ, Lundkvist A, Hukic M, Papa A, Tenorio A, Zelená H, Eßbauer S, Visontai I, Golovljova I, Connell J, Nicoletti L, Van Esbroeck M, Gjeruldsen Dudman S, Aberle S W, Avšič-Županc T, Korukluoglu G, Nowakowska A, Klempa B, Ulrich R G, Bino S, Engler O, Opp M, Vaheri A. A five-year perspective on the situation of haemorrhagic fever with renal syndrome and status of the hantavirus reservoirs in Europe, 2005-2010. *Eurosurveillance*, 2011;16(36). <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19961>
20. Amaro F, Alves MJ. Hantavirus serodiagnosis in Portugal. VIII International Conference on HFRS, HPS & Hantaviruses, 20 -22 May 2010; Abstract book p16, p103.



# CORIOMENINGITE LINFOCITÁRIA

Maria João Alves

## Introdução

O vírus LCM é o agente etiológico da coriomeningite linfocitária, encefalites e meningoencefalites, sendo também comuns casos de síndrome gripais e assintomáticos. A infeção na grávida implica infeções transplacentárias que resultam em abortos fetais ou malformações, nomeadamente hidrocefalia. A infeção no doente transplantado geralmente conduz à morte.

O vírus da coriomeningite linfocitária (LCM) é um vírus transmitido por roedores, isolado e identificado como agente infeccioso, nos primórdios da virologia em 1934. Tendo ficado órfão morfológicamente e biologicamente durante décadas, a partir dos anos 50 juntaram-se outros vírus nomeadamente, o vírus Tacaribe, o vírus Junin (febre hemorrágica da Argentina), o vírus Machupo (febre hemorrágica da Bolívia), o vírus Lassa (febre de Lassa), Guanarito (febre hemorrágica da Venezuela) e o vírus Sabiá (febre hemorrágica do Brasil). O vírus LCM é o único que surge na Europa.

Nos roedores as infeções são crónicas, aparentemente assintomáticas. A transmissão ao ser humano é feita, principalmente, por via respiratória, e é o resultado do contacto com o micromamífero infetado ou com as suas excreções. As espécies reservatório/vetor mais associadas à transmissão do vírus LCM são *Mus musculus* e hamsters (*Mesocricetus auratus*). A dinâmica da população de roedores é provavelmente o factor determinante na epidemiologia da infeção humana.

## Taxonomia e distribuição

O vírus LCM (género *Arenavírus*, família *Arenaviridae*) é um vírus, com invólucro e com genoma de RNA monocatenário, bisegmentado, ambipolar. As diferentes espécies que constituem os *Arenavírus* foram agrupadas em dois grupos serológicos, nomeadamente os do Novo Mundo (14 espécies do continente americano, quase todas agentes etiológicos de febres hemorrágicas virais associadas a elevadas mortalidades) e os do Velho Mundo (quatro espécies de África, uma delas agente etiológico da febre hemorrágica de Lassa e o vírus LCM). O vírus LCM é o único *Arenavírus* com distribuição geográfica mundial.

---

## Patogénese

Na coriomeningite linfocitária, depois de um período de incubação de uma a duas semanas o doente apresenta um quadro de síndrome gripal (febre, mialgias, prostração, cefaleias, fotofobia, náuseas e vômitos); com leucopénia e trombocitopénia. Em menos de 10% dos casos, dez dias após o início da doença surgem sinais meníngeos por meningite ou meningoencefalite; raramente complicada por meningite transversa, hidrocefalia ou lesão do nervo auditivo. Os casos fatais são raros [1].

Na infeção congénita por vírus LCM a infeção intrauterina pode ser assintomática ou associada a uma síndrome febril no decurso do primeiro ou segundo trimestre. No feto as lesões teratógenicas incluem hidrocefalia, macrocefalia ou microcefalia, coriorretinite, hipoplasia do nervo óptico, calcificações intracranianas, atraso mental e morte fetal [2,3].

Os doentes receptores de transplante de órgãos e tecidos, por serem imunodeprimidos, quando infectados por vírus LCM podem desenvolver um quadro fatal semelhante a febre hemorrágica com falência multissistémica. Em 2003, 2005, 2007 e 2008 em diferentes grupos de doentes transplantados com órgãos sólidos, em que foi detectada infeção por vírus LCM verificou-se uma alta taxa de mortalidade (92%) [4,5,6].

## Diagnóstico laboratorial

Na infeção por vírus LCM a virémia coincide com a fase inicial da síndrome febril e já não está presente quando se inicia o quadro de doença do sistema nervoso central.

Na fase aguda da doença, os anticorpos estão geralmente presentes no soro e no LCR. A imunofluorescência indirecta (IFA), com cultura de células infectadas com vírus LCM, é uma técnica amplamente utilizada no diagnóstico, assim como os testes imunoenzimáticos (ELISA). A pesquisa de anticorpos neutralizantes pode também ser efectuada apesar de este teste ser tecnicamente mais complexo e demorado é, no entanto, uma técnica importante para a confirmação dos serotipos em circulação.

O isolamento do vírus LCM pode ser obtido em roedores suscetíveis ou em cultura celular.

O diagnóstico laboratorial, epidemiologia e investigação em vírus LCM em humanos e roedores são realizados, desde 1991, no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

## Situação em Portugal

O primeiro caso de infeção por vírus LCM foi diagnosticado em Portugal em 1942 [7]. Em 1952 foi diagnosticado um segundo caso já com apoio da componente laboratorial [8].

Entre 1993 e 1994 foram efetuados estudos que envolveram 91 amostras de soro de doentes hospitalizados em diferentes locais do país com o diagnóstico de meningite, encefalite e coriomeningite. Neste grupo 14,2 % apresentavam anticorpos contra o vírus LCM. Em paralelo foram estudados 49 soros de roedores selvagens de três diferentes regiões do país e foram detectados anticorpos contra o vírus LCM em 16,3% dos soros [9]. Mais recentemente foram feitos estudos em cerca de mil roedores e isolada uma nova estirpe de vírus LCM (estirpe Caxias P1) em *Mus musculus* na região de Oeiras [11].

Todos os anos são confirmados novos casos apesar de a incidência ser bastante baixa (-5 casos/ano) [12,13].

Em Portugal, apesar da baixa incidência determinada até ao momento, a gravidade do percurso clínico, das infeções congénitas e em transplantados, e a possibilidade de estarem a ocorrer casos cuja etiologia não é identificada, justificam a necessidade da disponibilidade do diagnóstico laboratorial e da sensibilização da classe médica para esta virose transmitida por roedores.

## Bibliografia

1. Buchmeier MJ, Bowen MD, Peters CJ. Arenaviridae: the viruses and their replication", in: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (Ed.) *Fields Virology*, 4th ed. 2001, pp. 1635-1668, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, EUA.
2. Mets MB, Barton LL, Khan AS, Ksiazek TG. Lymphocytic choriomeningitis virus: an underdiagnosed cause of congenital chorioretinitis. *Am. J. Ophthalmologic.* 2001; 130: 209-215.
3. Barton LL, Mets MB, Congenital Lymphocytic Choriomeningitis Virus Infection: Decade of Rediscovery. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 33: 370-374.
4. Fischer SA, Graham MB, Kuehnert MJ, Kotton CN, Srinivasan A, Marty FM *et al.* Transmission of Lymphocytic Choriomeningitis Virus by Organ Transplantation. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354 (21): 2235-2249.
5. Palacios G *et al.* A New Arenavirus in a Cluster of Fatal Transplant-Associated Diseases. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358 (10):991-998.
6. CDC . Brief Report: Lymphocytic Choriomeningitis Virus Transmitted Through Solid Organ Transplantation - Massachusetts, 2008. *Morb. Mortal Wkly. Rep.* 2008; 57(29):799-801.
7. Cardoso AM. Tentativa de isolamento de vírus da coriomeningite linfocitária. *Amatus Lusitanus* 1941/42; 1: 764-769.
8. Pinto MR, Ferreira CF. Un cas de choriomeningite lymphocitaire isolé à Lisbonne. *A Medicina Contemporânea* 1954; 72 (9): 417-418.

- 
9. Filipe AR, Alves MJ. Presença do Vírus da Coriomeningite Linfocitária (LCMV) em Portugal. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 1994; 4: 227-231.
  10. Alves MJ, Hjelle B, Mathias ML, Filipe AR. Serological evidence of Hantavirus and LCM virus in rodents in Southern Portugal, *Mus spretus* a possibly carrier for new Hantavirus and LCM virus strain. "Emergence and control of rodent-borne diseases (Hantaviruses and Arenaviruses)" Conference, 28-31/10/1998; Abstract book p 93.
  11. Sousa R, Ramalhinho MG, Alves MJ. 1st Isolation and Characterization of Lymphocitic Choriomeningitis Virus from Wild Rodents in Portugal. III European Congress on Tropical Medicine and International Health. *Acta Tropica* 2001: 83, S 110.
  12. Alves MJ, De Sousa R, Santos AS, Lopes de Carvalho I, Z-Z L, Amaro F, Milhano N, Luz T, Parreira P, Nuncio MS. Vigilância de doenças associadas a vetores em Portugal: tendências e desafios face a emergência e alterações ambientais. I Congresso Nacional de Saúde Pública. Lisboa, 14-15 de Abril de 2009.
  13. Alves MJ, Luz T, Santos AS, de Sousa R, Lopes de Carvalho, I, Zé-Zé L, Amaro F, Parreira P, Nuncio MS. Diagnóstico imunológico de doenças associadas a vetores existentes em Portugal. *Observações* 2013, 2, 5. ISSN: 0874:2928| ISSN: 2182-8873 (em linha) © Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

# LEPTOSPIROSE

Rita Matos

## Introdução

Em 1886, Weil descreveu detalhadamente nos Arquivo Alemão de Medicina Clínica uma doença infecciosa cujos sintomas principais eram a icterícia, esplenomegalia e nefrite, que passou a ser conhecida como doença de Weil. No entanto, há referências muito mais antigas que descrevem doenças febris ictericas e que hoje se pensa corresponderem a esta infeção. Nos seus aforismos, Hipócrates refere-se a uma doença icterica e febril grave, há relatos chineses antigos de uma “icterícia dos arrozais”, entre outras referências mais ou menos exaustivas dos sintomas, mas a descrição mais fiel da doença é de 1812, na qual Larrey relata detalhadamente uma “febre amarela” que grassava entre as tropas Napoleónicas no cerco da cidade do Cairo.

Weill descreveu a doença como infecciosa, mas só 21 anos depois, em 1907, Stimson conseguiu visualizar a bactéria responsável pela infeção, num esfregaço corado de tecido de rim de um doente que morrera com “febre amarela”. Este esfregaço foi mais tarde fotografado por Noguchi, em 1928, permitindo que hoje se consigam observar as mesmas espiroquetas que Stimson denominou de “Spirochoeta interrogans”.

Em 1917 os estudos desenvolvidos por Ido Y permitiram fechar o ciclo e clarificar a via de transmissão da doença de Weil. Por essa altura esta doença tinha um impacto grande nos trabalhadores das minas de carvão japonesas, e a investigação aprofundada dos casos levada a cabo por este autor e colegas demonstrou de forma inequívoca o papel dos pequenos roedores como vetores na disseminação da infeção.

Ao longo do século XX foram sendo identificadas e apresentadas à comunidade científica e médica outras doenças originadas por espiroquetas. Os estudos permitiram o reconhecimento das espiroquetas como responsável por diferentes apresentações clínicas, com diferentes graus de severidade, e com distribuição mundial. Permittiram ainda perceber o carácter zoonótico da leptospirose, o seu papel como agente causador de doença nos animais domésticos e no gado, e ainda o papel dos roedores como reservatório da doença e vetor de transmissão [1].

---

## Agente

O agente etiológico da leptospirose, inicialmente denominado de *Spirochoeta interrogans*, é uma bactéria espiralada, pertencente à família das Leptospiraceae. Esta família constitui, em conjunto com a família Spirochaetaceae (onde se incluem os géneros *Borrelia* e *Treponema*), a ordem das Spirochaetales, dentro da classe das Spirochaetes [2].

Tradicionalmente o género *Leptospira* dividia-se em duas espécies: *Leptospira interrogans* (que agrupava todas as leptospiros patogénicas) e *Leptospira biflexa* (não patogénicas). Atualmente, a caracterização molecular das estirpes permitiu diferenciar o género *Leptospira* em 14 espécies patogénicas (*L. alexanderi*, *L. alstonii* (genomospecies 1), *L. broomii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae* (genomospecies 3), *L. weilii* e *L. wolffii*) e 6 não patogénicas (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae* (genomospecies 5), *L. kmetyi*, *L. vanthielii* (genomospecies 4) e *L. wolbachii*).

Apesar desta nova classificação, muitos autores continuam a utilizar a designação *Leptospira interrogans* sensu lato para as estirpes patogénicas.

Estas bactérias caracterizam-se por apresentarem uma grande diversidade antigénica, conhecendo-se atualmente mais de 260 serovares patogénicos de leptospiros e mais de 60 serovares saprófitas. Estes serovares agrupam-se em serogrupos, partilhando entre si alguns antigénios dentro de cada serogrupo. A classificação em serovares é baseada na expressão de diferentes epitopos nos antigénios do lipopolissacárido de membrana (LPS), que variam na sua composição e orientação espacial. Os serovares traduzem uma diferenciação fenotípica e não estão relacionados com a diferenciação genotípica entre espécies. De facto, estão descritos diferentes serovares dentro da mesma espécie (por exemplo, para a espécie *L. santarosai* os serovares Pyrogenes e Bataviae, entre outros) mas também o mesmo serovar associado a espécies diferentes (por exemplo, o serovar Bataviae encontra-se nas espécies *L. interrogans* e *L. santarosai*, entre outras) [3].

As leptospiros são bactérias helicoidais, com as extremidades enroladas, com um comprimento que pode variar entre os 6 e os 20 mm, e uma espessura de aproximadamente 0,1 mm. Têm movimentos translacionais e rotacionais, dispoñdo de dois flagelos periplasmáticos. São microrganismos aeróbicos e, para o seu crescimento *in vitro*, necessitam de ácidos gordos como fonte de carbono, bem como de sais de amónio e vitaminas B12 (cianocobalamina) e B1 (tiamina) como fonte de azoto. A sua temperatura ótima de crescimento situa-se entre 28 e 30°C e o pH nos 7,2 a 7,6 [1].

## Transmissão

O ponto central da transmissão e disseminação das leptospiros é o hospedeiro assintomático, que apresenta/transporta as bactérias nas células epiteliais dos túbulos renais e que as excreta de forma intermitente para o ambiente através da urina. Os outros animais e o homem podem contaminar-se diretamente através do contacto com a urina ou indiretamente pelo contacto com a água ou o solo infetado. A contaminação acontece habitualmente através de feridas na pele ou pelas mucosas, mas também pode ocorrer por ingestão ou inalação.

Os principais hospedeiros/reservatório são os pequenos roedores como o *Ratto rattus*, *Mus domesticus* ou *R. norvegicus* e /ou os marsupiais. Nalguns casos os grandes mamíferos (cães, vacas, porcos) também podem apresentar-se como hospedeiros e, nas situações em que coabitam no mesmo local com pequenos roedores, são habitualmente colonizados por estirpes diferentes das que se encontram nestes últimos [1]. Pensa-se que a transmissão entre hospedeiros se faz também por via sexual, sobretudo porque nos estudos publicados a colonização nos animais adultos é frequentemente superior à dos animais mais jovens [4]. Os pequenos roedores mantêm e propagam a infeção entre si e ocasionalmente transmitem-na aos animais domésticos e ao homem. Esta disseminação é maioritariamente feita de forma indireta, através do contacto com água contaminada. As leptospiros sobrevivem na água ou no solo húmido durante várias semanas e não perdem a sua capacidade infecciosa. Em épocas de chuva intensa ou cheias as condições tornam-se ainda mais propícias à propagação destas bactérias. As pessoas mais expostas acabam por ser os trabalhadores rurais, sobretudo no caso de culturas submersas como o arroz, e ainda os trabalhadores da higiene urbana ou outros que tenham contacto com água não tratada. Outro grupo muitas vezes negligenciado são os praticantes de desportos aquáticos em cursos de água doce.

## Manifestações clínicas

Os sintomas associados à leptospirose não se resumem à doença de Weil, sendo esta apenas uma das manifestações clínicas da infeção. De facto, após um período de incubação assintomático de aproximadamente 15 dias (pode variar entre dois e 30 dias), caracteristicamente surge a febre, acompanhada de dor de cabeça, mialgias e prostração, acompanhada de náuseas, edema conjuntival, rash cutâneo ou das mucosas e fotofobia [1].

---

A leptospirose é uma doença bifásica, sendo a primeira fase bacteriémica, com duração de uma semana. Na segunda fase as leptospiros desaparecem da corrente sanguínea e começam a ser excretadas na urina, ao mesmo tempo que os anticorpos específicos começam a circular no sangue. É habitualmente nesta fase que surgem os sintomas clínicos, à medida que as leptospiros começam a colonizar os tecidos [5].

A evolução da doença varia de acordo com vários fatores, entre eles o serovar, a carga bacteriana infetante, o estado de saúde do doente e a intervenção médica rápida. A maioria dos doentes desenvolve uma doença ligeira, ou subclínica, resolvendo a infeção sem sequer procurar ajuda médica. No entanto, cinco a 10% dos doentes desenvolvem a forma ictérica da leptospirose (doença de Weil) e a taxa de mortalidade oscila entre os cinco e os 15% nos casos mais graves [2].

## Diagnóstico

A leptospirose pode apresentar-se de uma forma pouco específica, podendo ser confundida na fase aguda por uma síndrome gripal, meningite asséptica, hepatite, ou uma síndrome febril de origem viral. A diversidade e pouca especificidade dos critérios clínicos não permitem na maior parte dos casos um diagnóstico seguro, sendo por isso fundamental o diagnóstico laboratorial.

O isolamento do agente infeccioso pode ser feito a partir da cultura do sangue total, na fase de bacteriemia, ou por cultura da urina a partir da segunda semana de evolução dos sintomas. Permite obter a estirpe infetante para caracterização e/ou estudos posteriores e apresenta uma especificidade de 100%. Apesar desta vantagem, o crescimento *in vitro* das bactérias do género *Leptospira* é lento, sendo este o maior constrangimento à utilização da cultura como método exclusivo de diagnóstico. De facto, apesar de nalguns casos se conseguir um resultado positivo durante a primeira semana de incubação, é frequente que isso só aconteça decorridas duas ou três semanas após a cultura. Há vários fatores que contribuem para esta situação, mas no caso da cultura da urina o principal problema é a sensibilidade destas bactérias ao pH ácido, o que obriga a que a cultura seja feita até quatro horas após a colheita deste produto biológico. Mesmo cumprindo o prazo estipulado, a viabilidade das bactérias vai diminuindo à medida que o tempo passa, acontecendo muito frequentemente o inóculo, apesar de positivo, ter muito poucas bactérias viáveis no momento da cultura, o que atrasa a deteção. O exame cultural a partir do sangue total não apresenta esta condicionante e muitas vezes é possível obter uma cultura positiva ao fim de poucos dias.

No entanto, habitualmente o doente só procura apoio médico depois de decorrida a primeira semana de sintomas, sendo a bacteriemia nesta altura já muito baixa.

Existe também a possibilidade de isolar leptospiros no líquido cefalorraquidiano entre o 5.º e 10.º dia após o início dos sintomas. No caso dos exames *post-mortem*, é frequente obter o isolamento a partir de tecidos biológicos infetados, sendo o rim, fígado, baço, tecido fetal e placenta os órgãos mais frequentemente analisados.

A observação microscópica do produto biológico pode complementar a cultura e, apesar de ter um limite de deteção relativamente baixo, quando é positiva permite uma resposta muito rápida. No exame direto a fresco num microscópio de fundo escuro podem observar-se leptospiros no seu movimento livre característico. Pode ainda fazer-se a marcação do produto biológico com um anticorpo específico conjugado com fluoresceína para corar apenas as leptospiros presentes na preparação (imunofluorescência direta). Esta técnica é particularmente importante no caso do sangue já que, no exame direto a fresco, as fibras de fibrina podem ser confundidas com leptospiros.

A partir dos anos 90 desenvolveram-se técnicas de biologia molecular, que permitem detetar DNA de *Leptospira* spp. em produtos biológicos. Os critérios para a escolha do produto biológico mais adequado são os mesmos que os usados para a cultura, mas o limite mínimo de deteção é inferior, tornando estas metodologias muito mais sensíveis. Os alvos de DNA bacteriano para amplificação podem ser vários, sendo os genes *lfb1*, *secY* e *lipL32*, presentes apenas nas estirpes patogénicas, os mais frequentemente utilizados. Atualmente as reações de PCR disponíveis permitem detetar estes alvos em tempo real utilizando sondas que aumentam a sensibilidade e especificidade de deteção [6].

A deteção de anticorpos é o método mais frequentemente utilizado pela facilidade de implementação num laboratório de diagnóstico. Dez a 15 dias após a infeção é possível fazer a deteção dos anticorpos específicos IgG e/ou IgM no soro, por ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) ou imunofluorescência indireta, mas o método de referência é o MAT –Micro Agglutination Test [7]. Neste teste o soro em estudo é incubado diretamente com um conjunto de estirpes de leptospira, e a aglutinação e lise das bactérias pode ser visualizada num microscópio de campo escuro. Devido à grande variedade antigénica das estirpes, este é o teste mais sensível quando o painel de estirpes utilizado é suficientemente amplo e representativo das estirpes infetantes na região. O MAT tem a vantagem adicional de permitir uma identificação presuntiva do serogrupo infetante.

---

## Tratamento

A leptospira é sensível a muitos antibióticos, entre eles os b-lactâmicos, os macrólidos, a tetraciclina, as fluoroquinolonas ou a estreptomicina. Não é habitual pesquisar a susceptibilidade das estirpes infetantes, porque este processo está pouco padronizado e é muito mais lento do que o acompanhamento da evolução clínica, não havendo muitos estudos a documentar situações de resistência. O tratamento é feito habitualmente com penicilina ou doxiciclina [2].

## Controlo e Vigilância Epidemiológica

O controlo de uma zoonose em que os humanos são vítimas ocasionais é necessariamente feito através dos animais ou de uma intervenção no ciclo de infeção. A redução do número de roedores, eliminação de zonas de acumulação de lixo, acondicionamento adequado de cereais e alimentos de animais estão entre as medidas que devem ser tomadas para reduzir o número de casos humanos de leptospirose. Também os equipamentos de proteção pessoal (botas, luvas e fatos) para os trabalhadores mais expostos podem baixar o risco de infeção.

No nosso país a vigilância da leptospirose faz-se através de notificação clínica dos casos a nível nacional para uma entidade única, que compila os dados e os reporta a nível europeu. Esta é uma doença de declaração obrigatória, existindo critérios definidos pela União Europeia para a definição de caso. Os casos prováveis baseiam-se em critérios clínicos e epidemiológicos, sendo obrigatória a informação laboratorial para confirmação dos casos [8].

## Distribuição geográfica

Presume-se que a leptospirose seja uma das zoonoses mais distribuídas no Planeta, sendo as leptospirosas apontadas como ubiqüitárias. É provável que a incidência da leptospirose humana esteja subestimada, devido à diversidade de apresentações clínicas e à dificuldade do diagnóstico laboratorial [2]. Apesar destas limitações, para além das redes de notificação europeia, têm sido desenvolvidos esforços por parte da Organização Mundial de Saúde com o objetivo de determinar a incidência desta doença a nível mundial.

Em 2010, a incidência mundial estimada de leptospirose foi de 5,1 casos por 100 000 habitantes, com maior proporção de casos em adultos do sexo masculino.

As regiões do mundo com incidência mais elevada foram a África, o Pacífico Ocidental e o Sudeste Asiático (95,5, 66,4 e 12,5 casos por 100 000 habitantes, respetivamente). No Continente Americano a incidência foi próxima da média mundial [9].

Segundo dados do ECDC (*European Center for Disease Prevention and Control*) durante o ano de 2011 foram oficialmente notificados 526 casos (0,11 casos por 100 000 habitantes) na Europa, sendo este valor semelhante aos observados em anos anteriores. A incidência na República Checa, na Letónia, em Malta e em Portugal foi superior ao dobro da média europeia. A Irlanda, a Roménia e a Eslovénia foram os países com incidência mais elevada, superior ao triplo da média europeia [10].

### Situação em Portugal

Em Portugal, de acordo com os dados apresentados pelo ECDC, a incidência média em 2011 foi de 0,31 casos por 100 000 habitantes, quase três vezes superior à incidência média europeia (0,11 casos por 100 000 habitantes) e mantendo-se próxima dos 0,30 casos por 100 00 habitantes entre 2009 e 2011 [10].

No Departamento de Doenças Infeciosas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) o diagnóstico desta doença é feito com base na pesquisa direta do agente por cultura e/ou PCR (pesquisa do gene lipL32 por PCR em tempo real, e deteção com sondas de hidrólise) e ainda através da pesquisa de anticorpos por MAT. O MAT é realizado utilizando 22 antigénios, representativos de 22 serovares (Bratislava, Lora, Rachmati, Arboreae, Castellonis, Ballum, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Grippytyphosa, Valbusi, Copenhageni, Louisiana, Mini, Mozdock, Pomona, Sejroe, Wolffi, Shermani, Andamana, Patoc) pertencentes a 16 serogrupos.

Nas amostras analisadas nos últimos três anos (2011-2013) para pesquisa de anticorpos para *Leptospira* foram detetados 31 casos que apresentaram anticorpos para leptospira em títulos compatíveis com infeção. Os serogrupos infetantes mais frequentes foram Shermani, Copenhageni, Arboreae, Grippytyphosa e Pomona. Durante o mesmo período de tempo, nas amostras de sangue e urina recebidas, foi possível detetar leptospiros patogénicas em sete amostras de urina, seis por PCR e uma por cultura. Também se confirmou a presença de DNA de *Leptospira* spp. numa amostra de sangue.

As 39 amostras positivas pertenciam a 38 doentes, maioritariamente do sexo masculino (82%) e oriundos de hospitais de todo o País.

Apesar de ser interessante para caracterização dos casos, não é habitual o INSA receber várias amostras do mesmo doente. Por esta razão apenas num doente foi possí-

---

vel observar resultados conjuntos de PCR e serologia: este doente apresentou serologia positiva, ausência de DNA no sangue e presença de DNA na urina, o que indica claramente que se encontrava na segunda fase da doença (dados não publicados).

## **Bibliografia**

1. Faine, S, Adler, B, Bolin, C, Perolat, P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*, 2nd ed. MedSci, Melbourne, Australia.
2. Levett, P N. *Leptospira and Leptonema*. In: Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J H, Pfaller, M A, Tenover, R H (eds), *Manual of Clinical Microbiology*, 8th Edn. Washington, ASM Press, 2003; 929-936.
3. Adler, B, de la Penã-Moctezuma, A. 2010. *Leptospira and Leptospirosis*. *Vet. Microbiol.*, 140: 287-296.
4. Collares-Pereira, M, Mathias, M L, Santos-Reis, M, Ramalhinho, M G, Duarte-Rodrigues, P., 2001. Rodents and *Leptospira* transmission risk in Terceira Island (Azores). *Eur. J. Epidemiol.*, 16: 1151-1157.
5. Levett, P N. 2001. *Leptospirosis*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 14: 296-326.
6. Bourhy, P, Bremont, S, Zinini, F, Gigy, C, Picardeau, M. 2011. Comparison of Real-Time PCR Assays for Detection of Pathogenic *Leptospira* spp. in Blood and identification of Variations in target Sequences. *J. Clin. Microbiol.*, 49 (6): 2154-2160.
7. Terpstra, W G. 2003. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. World Health Organization.
8. Decisão de Execução da Comissão (2012/506/UE) de 8 de agosto de 2012. *Jornal Oficial da União Europeia*.
9. Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group, 2010. WHO, Geneva, Switzerland.
10. European Center for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2013. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence Stockholm: ECDC; 2014).

# **SALMONELLA SPP. ASSOCIADA A ROEDORES**

Leonor Silveira, Jorge Machado

## **Introdução**

**N**o século XIX, mais especificamente nos anos oitenta, Daniel Elmer Salmon, aluno de Louis Pasteur, e o seu assistente de laboratório Theobald Smith investigavam as causas da cólera suína. Em 1885, Smith identificou um organismo como sendo o agente causal de cólera ao qual deu o nome do seu superior, *Salmonella cholera*. Mais tarde viriam a verificar que o agente que procuravam seria um vírus e não *Salmonella*, que raramente causava sintomas entéricos em suínos.

O impacto de *Salmonella* ao longo dos anos foi considerável. Em 2001, um grupo de investigadores sugeriu que Alexandre o Grande teria morrido com uma infeção por *Salmonella* em 323 A.C. depois de analisados os registos dos seus sintomas. O príncipe Alberto, consorte da Rainha Vitória, também morreu com uma infeção por *Salmonella* em 1861. Ao longo da história foram ocorrendo vários surtos que dizimaram populações, especialmente soldados durante as guerras. Foi apenas durante a Primeira Guerra Mundial (1904-1914) que a vacina contra febre entérica foi utilizada com sucesso.

## **Agente**

A *Salmonella* spp., agente etiológico de salmonelose, é uma proteobactéria gram negativa pertencente à família Enterobacteriaceae em conjunto com *Escherichia coli*, *Shigella*, entre outros. Apesar da controvérsia relativa à nomenclatura dentro deste género, existem atualmente mais de 2500 serotipos de *Salmonella*, resultante de uma enorme variabilidade antigénica.

Os serotipos diferem uns dos outros uma vez que expressam diferentes antigénios somáticos (O) e flagelares (H). Inicialmente, cada serotipo correspondia a uma espécie de *Salmonella* (*S.*) mas desde então foi comprovada a proximidade genética dos serotipos e o género foi então dividido em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*. A espécie *S. enterica* está ainda dividida em seis subespécies (*S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*,

---

*S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. enterica* subsp. *indica*), das quais a subespécie *S. enterica enterica* é a mais relevante e que contem os serotipos mais comuns. Inicialmente, os nomes dos serotipos estavam relacionados com a síndrome que causavam ou então com a especificidade do hospedeiro. Mais tarde veio a comprovar-se que alguns serotipos não seriam específicos de determinados hospedeiros. Apesar de alguns serotipos de *Salmonella* spp. causarem doença em certos hospedeiros animais, como por exemplo, *S. dublin* em gado bovino ou *S. cholerasuis* em suínos, todos os serotipos causam doença em humanos.

Os três serotipos predominantes a nível mundial são *S. enteritidis*, *S. typhimurium* e *S. enterica* 4,[5],12:i:-, também conhecida como *S. typhimurium* monoflagelar [1, 2].

### **Manifestações clínicas**

A salmonelose é tipicamente caracterizada por sintomas de gastroenterite, tais como diarreia, febre, dores abdominais, náusea e por vezes vômito, após um período de incubação de doze a trinta e seis horas. A maior parte das infeções são controladas pelo sistema imunitário, perdurando até sete dias, contudo, em certas situações a desidratação poderá agravar o estado do doente. Em determinadas circunstâncias, em que se verifica infeção sistémica, torna-se necessário recorrer a antibioterapia. Estas situações são mais frequentes em crianças, idosos ou indivíduos imunocomprometidos. Excetuando os casos mais graves, a OMS desaconselha veementemente a utilização de antibióticos para combater a infeção por *Salmonella* spp., uma vez que existem atualmente muitas estirpes multirresistentes. Este é um problema de saúde pública visto que condiciona o tratamento de casos mais graves [1].

### **Diagnóstico**

O diagnóstico de *Salmonella* spp. parte tipicamente do isolamento das bactérias a partir de amostras biológicas, tais como fezes (coprocultura), sangue (hemocultura), entre outros. Segue-se a identificação bioquímica do microrganismo isolado, que é hoje em dia simplificada com sistemas que permitem testar vários parâmetros bioquímicos em simultâneo. A serotipagem pelo método de Kauffman-White-Le Minor é, desde 1934, a técnica de eleição para determinação do serotipo de *Salmonella* spp.. A identificação também poderá ser feita através de técnicas de biologia molecular, como por exemplo, PCR em tempo real para determinação do género do microrganismo. Existem ainda várias técnicas de tipagem aplicadas especialmente na deteção de surtos, como é o caso de fagotipia, testes de sensibilidade a anti-

microbianos, *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), *Multilocus Sequence Typing* (MLST) e *Multiple-Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis* (MLVA) [3]. Com o desenvolvimento dos métodos de sequenciação genómica, que se vem tornando uma técnica cada vez menos dispendiosa, espera-se que dentro de poucos anos, todos os métodos utilizados atualmente se tornem obsoletos.

## Patogénese

A infeção por *Salmonella* spp. tem início com a colonização do intestino e a adesão à mucosa intestinal. Subsequentemente, as células do epitélio intestinal são invadidas e como consequência a estrutura das vilosidades sofre alterações, havendo assim perda de superfície de absorção. É então ativada uma resposta inflamatória e despoletada a secreção de fluidos e eletrólitos que levam ao desenvolvimento de diarreia aquosa. Porém, dependendo do serotipo ou do sistema imunitário do hospedeiro, as bactérias podem ultrapassar as células da mucosa e, através da corrente sanguínea, causar uma infeção sistémica [4].

## Epidemiologia

Com a exceção da *S. typhi*, cujo único hospedeiro é o Homem, a *Salmonella* spp. encontra-se naturalmente no intestino de vários animais, sendo que muitos dos hospedeiros não desenvolvem salmonelose [1]. É uma bactéria extremamente resistente, com a capacidade de persistir no meio ambiente durante largos meses [4]. Causa infeção em humanos através do consumo de alimentos ou água contaminados [1]. A salmonelose é portanto uma infeção zoonótica, que geralmente é transmitida através do consumo de alimentos, tais como carnes de bovino e de aves, leite e ovos, devido à infeção dos animais de onde provêm. Estes animais são infetados através do contacto com animais silvestres, como por exemplo roedores e aves, ou através do consumo de ração e água contaminados. Existem também formas de infeção humana direta, através do contacto com animais contaminados, como por exemplo animais heterotérmicos (répteis e anfíbios), aves ou roedores. De facto, com o aumento do contacto com animais de estimação exóticos, a infeção por serotipos menos comuns de *Salmonella* tem vindo a aumentar, gerando grande preocupação a nível mundial [5].

*Salmonella* spp. permanece nos dias de hoje uma das principais causas de gastroenterite em todo o mundo, apenas ultrapassada por *Campylobacter*. Estima-se que ocorram mundialmente mais de noventa milhões de casos de infeção por *Salmonella*

spp. por ano, com mais de cento e cinquenta milhares de mortes anuais [1, 6]. A taxa de notificação na União Europeia (EU) em 2012 foi de 22,2 por cada 100 000 habitantes, tendo sido reportados 91 034 casos confirmados (Figura 5) [1].

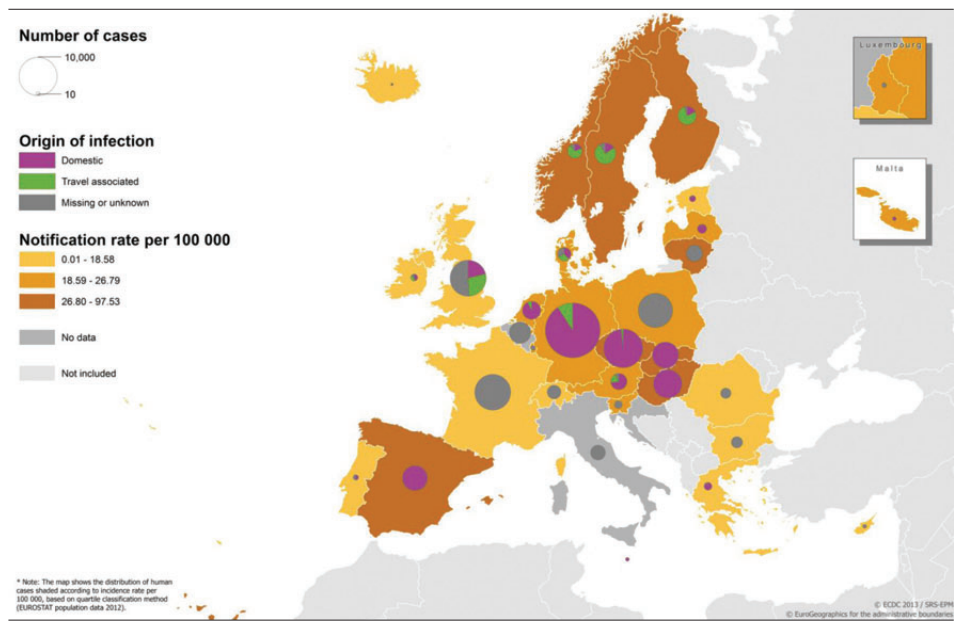


Figura 5: Taxas de notificação e origem de infeções de *Salmonella* spp. em humanos na EU/ EFTA, 2012 (adaptado de [1]).

Em Portugal, a taxa de notificação de casos foi de 1,8 casos por 100 000 habitantes [1]. Esta taxa poder-se-á considerar subestimada, uma vez que nem todos os casos de salmonelose são reportados à Direção-Geral da Saúde (DGS). No Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), foram recebidas 156 estirpes de *Salmonella*, em 2012, provenientes de apenas alguns hospitais nacionais (Quadro 12).

Quadro 12: Número de casos de infeção por *Salmonella* confirmados laboratorialmente, principais serotipos e percentagens relativas, durante o período compreendido entre 2000 e 2012 (adaptado de [7]).

	2000		2001		2002		2003		2004		2005		2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
S. Enteritidis	258	68,8	441	75,9	424	77,2	580	80,1	555	80,3	556	70,7	423	67,8	466	70,7	309	60,7	159	46,1	78	32,6	34	26,6	43	27,6	4326	68,0
S. Typhimurium	70	18,7	66	11,4	86	15,7	98	13,5	90	13,0	175	22,3	151	24,2	129	19,6	126	24,8	95	27,5	83	34,7	44	34,4	30	19,2	1243	19,5
S. 4,5:i:-	0	0,0	24	4,1	6	1,1	0	0,0	7	1,0	15	1,9	12	1,9	17	2,6	29	5,7	43	12,5	54	22,6	24	18,8	55	35,3	286	4,5
S. Typhi	2	0,5	3	0,5	11	2,0	2	0,3	4	0,6	3	0,4	3	0,5	2	0,3	5	1,0	0	0,0	1	0,4	1	0,8	1	0,6	38	0,6
S. Derby	2	0,5	4	0,7	2	0,4	1	0,1	3	0,4	5	0,6	0	0,0	3	0,5	2	0,4	3	0,9	3	1,3	1	0,8	3	1,9	32	0,5
S. Rissen	1	0,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,3	4	0,5	3	0,5	0	0,0	4	0,8	9	2,6	1	0,4	2	1,6	5	3,2	31	0,5
Outros	42	11,2	43	7,4	20	3,6	43	5,9	30	4,3	28	3,6	32	5,1	42	6,4	34	6,7	36	10,4	19	7,9	22	17,2	19	12,2	410	6,4
Total (N)	375	100	581	100	549	100	724	100	691	100	786	100	624	100	659	100	509	100	345	100	239	100	128	100	156	100	6366	100

Nos últimos anos têm vindo a ser reportados alguns surtos de salmonelose transmitidos por roedores. Em 2004, foram reportados ao *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dos Estados Unidos da América (EUA), casos de infeção por *S. typhimurium* multirresistente com origem em hamsters adquiridos em lojas de animais [8]. Entre 2005 e 2006 foram detetados, em vários estados norte americanos, vinte e um casos de salmonelose com origem em ratos comercializados para alimentação de répteis [5]. Mais tarde, em 2008, foram detetados casos semelhantes no Reino Unido com origem aparente em ratos congelados provenientes dos EUA [9]. Já em 2012, o CDC investigou outro surto, por sua vez de *S. enterica* serovar 4,[5],12:i:-, com igual origem em roedores vendidos como alimento de répteis e anfíbios. A estirpe seria a mesma envolvida noutros surtos anteriores, em 2009 no Reino Unido e em 2010 nos EUA, sendo considerada a possibilidade de esta estirpe ser endémica nestes roedores [10]. Os roedores foram também identificados como origem da contaminação de quintas produtoras de aves e suínos, especialmente em quintas de produção biológica [4].

## Situação em Portugal

Em Portugal, no início da década de noventa (1991), foi publicado um estudo em que se pretendia analisar o papel de roedores silvestres como reservatórios de zoonoses, em Águas de Moura, uma aldeia a sessenta quilómetros de Lisboa. De 379 amostras de intestino e fezes de roedores capturados, foram identificadas quatro amostras com *Salmonella*: *S. enteritidis* (duas amostras), *S. typhimurium* e *S. bonn*, isolada

---

pela primeira vez em Portugal. Apesar de a percentagem de roedores infetados com *Salmonella* ser reduzida, dois dos serotipos identificados são dos mais comuns em Portugal e são tipicamente encontrados nas produções avícolas e suínas. Os resultados obtidos apontam para a relevância reduzida dos roedores silvestres como reservatórios de *Salmonella* em regiões urbanas [11]. Contudo o papel dos roedores como vetores de *Salmonella* spp. poderá ter vindo a ser subestimado. Por esta razão, o controlo da higiene na indústria de produção de animais para consumo deve partir do controlo da população de roedores, ao contrário do uso profilático de antimicrobianos nos animais. A constante utilização de antibióticos como tratamento profilático nestas indústrias levou ao desenvolvimento de multirresistências em *Salmonella*, que tem implicações graves na saúde humana [4].

Inserido no Departamento de Doenças Infeciosas (DDI) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), o “Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais” tem como papel a vigilância de infeções gastrointestinais em Portugal. O “Laboratório de *Salmonella*, *Escherichia coli* e outras bactérias entéricas” recebe, de todo o país, estirpes de *Salmonella* spp., entre outras, para identificação do serotipo. Com intuito de estudar a epidemiologia das estirpes de *Salmonella* spp. em Portugal, e também nos casos em que seja necessária a identificação de surtos, é realizado o teste de sensibilidade a antimicrobianos. A técnica de MLVA, otimizada para as estirpes de *S. typhimurium*, é um método ainda mais refinado do que o teste de sensibilidade a antimicrobianos e consiste na tipagem a nível molecular das estirpes existentes no país. Sendo um laboratório de referência, o “Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais” tem como dever acompanhar as novas tendências a nível de diagnóstico e tipagem molecular, sendo um dos objetivos próximos a aplicação da técnica de sequenciação genómica com o objetivo de substituir determinadas técnicas. Com esta técnica será possível fazer, não só a serotipagem das estirpes, como o estudo das resistências a antimicrobianos e a análise filogenética das estirpes, o que permitirá, com um único método, identificar surtos e a sua origem.

## Bibliografia

1. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2014. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. EFSA Journal 12(2):3547, 312 pp.
2. Grimont P e Weill, F. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 9ª edição.

3. Imen B, Ridha M e Mahjoub A. 2012. Laboratory Typing Methods for Diagnostic of *Salmonella* Strains, the “Old” Organism That Continued Challenges in *Salmonella* - A Dangerous Foodborne Pathogen. InTech. (<http://www.intechopen.com/books/salmonella-a-dangerous-foodborne-pathogen/laboratory-typing-methods-for-diagnostic-of-salmonella-strains-the-old-organism-that-continued-chall>) acedido em Fevereiro de 2014.
4. Meerburg B e Kijlstra A. 2007. Role of rodents in transmission of *Salmonella* and *Campylobacter*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:2774–2781.
5. Fuller C, Jawahir S, Leano T, Bidol S, Signs K, Davis C, Holmes Y, Morgan J, Teltow G, Jones B, Sexton R, Davis G, Braden C, Patel N, Deasy III M e Smith K. 2008. A multi-state *Salmonella* Typhimurium outbreak associated with frozen vacuum-packed rodents used to feed snakes. *Zoonoses and Public Health* 55(8-10):481-487.
6. Majowicz S, Musto J, Scallan (<http://cid.oxfordjournals.org/content/50/6/882.long>) - aff-6 E, Angulo F, Kirk (<http://cid.oxfordjournals.org/content/50/6/882.long>) - aff-5 M, O'Brien S, Jones (<http://cid.oxfordjournals.org/content/50/6/882.long>) - aff-8 T, Fazil A Hoekstra R. e 2010. The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases* 50 (6): 882-889.
7. Silveira L, Marques A e Machado J. 2013. Infecções por *Salmonella enterica* no período entre 2000-2012. *Boletim Epidemiológico Observações*. N.º especial 1(6): 14-16.
8. Smith K, Boxrud D, Leano F, Snider C, Braden C, Lockett J, Montgomery S, Swanson S, O'Reilly C. 2003. Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella* Typhimurium Associated with Rodents Purchased at Retail Pet Stores. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 54(17):429-433. (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5417a3.htm>, acedido em Fevereiro de 2014).
9. Harker K, Lane C e Adak G. 2010. An outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT191a associated with reptile feeder mice. *Epidemiology and Infection* 139(8): 1254-1261.
10. Sweat D, Valiani A, Griffin D, Springer D, Rath S, Greene S, Behravesh C, Nguyen T, Mitchell J, Jackson B. 2012. Notes from the Field: Infections with *Salmonella* l 4,[5],12:i:- Linked to Exposure to Feeder Rodents. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 61(15):277-277. (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6115a6.htm>, acedido em Fevereiro de 2014).
11. Filipe A, Rocha M, Ângelo M, Machado J, Chaveca S e Andrade H. 1991. Os roedores silvestres como reservatórios de zoonoses; Estudo de um foco natural: Águas de Moura. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas* 14(3): 163-169.



# FEBRE DA MORDEDURA DO RATO

Maria Sofia Nuncio

## Introdução

A febre da mordedura do rato (RBF) é uma infecção causada por uma das duas espécies bacterianas que podem ser transmitidas através da mordedura de roedor. Até 10 % das mordeduras de rato causam esta afeição. Trata-se principalmente de uma doença própria dos habitantes de zonas desfavorecidas, de pessoas sem-abrigo e do pessoal dos laboratórios biomédicos que algumas vezes pode ser fatal [1].

Apesar do nome, o Homem pode também ser infetado ao ingerir alimentos que tiveram contato com a saliva do animal ou quando colocam à boca mãos ou objetos contaminados com suas fezes ou urina. Quando o indivíduo, por exemplo, ingere leite contendo *Streptobacillus moniliformis* e apresenta sintomas, diz-se que são decorrentes da febre de Haverhill.

Trata-se é uma zoonose bacteriana sistêmica, cuja incidência é atualmente desconhecida. O prognóstico é excelente se a doença for tratada. Se não tratada, a RBF apresenta uma taxa de mortalidade de aproximadamente 10% devido a complicações [1].

## Agente

*Streptobacillus moniliformis*, uma bactéria que se localiza na garganta dos ratos saudáveis e é a causa mais frequente da febre da mordedura do rato em alguns países. Os surtos de infecção têm sido relacionados com indivíduos que bebem leite não pasteurizado e contaminado; quando a bactéria se transmite dessa forma, a doença recebe o nome de febre de Haverhill. Contudo, geralmente a infecção é a consequência da mordedura por um rato da cidade ou do campo. Em certos casos, a infecção transmite-se por intermédio de doninhas e outros roedores.

Outra variedade de febre da mordedura do rato (chamada *soduku*) é causada pela espiroqueta *Spirillum minus*. Esta infecção é frequente na Ásia. Também se contrai através da mordedura de rato ou, ocasionalmente, de outro roedor.

---

## Manifestações clínicas

Nos casos de infecção por *Streptobacillus moniliformis*, a ferida inicial costuma sarar rapidamente. No entanto, entre um e 22 dias depois da mordedura (em regra menos de 10 dias), surgem repentinamente arrepios, febre, vômitos, dor de cabeça e dores nas costas e articulações. Aos três dias aparece uma erupção cutânea de pequenos pontos vermelhos nas mãos e nos pés. Uma semana depois muitos doentes apresentam tumefacção das articulações e dor, que podem persistir vários dias ou meses se não for aplicado um tratamento. Entre as complicações, raras mas graves, desta doença encontram-se a infecção das válvulas cardíacas e o aparecimento de abscessos no cérebro e outros tecidos.

Na infecção por *Spirillum minus*, a ferida costuma sarar rapidamente, mas a inflamação volta entre quatro e 28 dias depois da mordedura (geralmente mais de 10 dias). A inflamação acompanha-se de febre intermitente e de tumefacção dos gânglios linfáticos da zona afectada. Às vezes surge uma erupção cutânea de cor vermelha. Outros sintomas incluem mal-estar, dor de cabeça e fadiga durante os episódios de febre. Se não for administrado qualquer tratamento, a febre costuma reaparecer todos os dois a quatro dias durante um máximo de oito semanas e, por vezes, durante um ano.

Os grupos populacionais mais expostos a esta infecção são indivíduos que habitam em áreas urbanas onde há pouca higiene, pessoas que possuem esses roedores como animais de estimação e profissionais que têm contacto com esse tipo de animais, como por exemplo, alguns biólogos de campo. Em termos de prevenção, recomenda-se o uso de luvas, lavar as mãos constantemente e evitar colocá-las na boca quando estiver próximo dos animais.

Em caso de mordedura, a ferida deve ser lavada com água e sabão, sendo imprescindível o atendimento médico. O profissional poderá analisar a necessidade de o paciente ser vacinado contra a raiva e o tétano.

## Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial consiste na identificação culturas de bactérias, efetuadas a partir de uma amostra de sangue, amostra de tecido da erupção cutânea, de um gânglio linfático ou de líquido das articulações. Atualmente também já é possível realizar a deteção através de métodos moleculares.

## Tratamento

Para tratamento, a penicilina é indicada; entretanto, em casos de alergia, essa pode ser substituída por eritromicina, no caso de febre causada pela *Streptobacillus moniliformis*, ou tetraciclina para sodoku.

## Bibliografia

1. Febre da mordedura do rato.  
[http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=PT&Expert=31205](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=PT&Expert=31205)
2. Febre da mordedura do rato.  
<http://www.manualmerck.net/?id=205&cn=1690>



# CONCLUSÕES

Maria Sofia Núncio; Maria João Alves

Os agentes patogénicos associados a vetores e a roedores têm surgido em novas regiões geográficas, enquanto muitas doenças endémicas têm aumentado a sua incidência.

Embora as introduções de novos agentes etiológicos e a disseminação de agentes infecciosos endémicos sejam muitas vezes considerados processos distintos, muitos agentes endémicos estão realmente a dispersar-se a uma escala local, coincidente com as mudanças observadas no seu habitat natural. A emergência local é impulsionada simultaneamente por alterações de fatores humanos e pela especialização dos ciclos enzoóticos. A introdução de novos agentes infecciosos está habitualmente ligada ao aumento do tráfego de bens e pessoas, em alturas em que as condições (por exemplo, hospedeiros, vetores e clima) são adequadas para a sua proliferação. Uma vez que o agente patogénico se estabelece, fatores ecológicos relacionados com as características do vetor, podem moldar a pressão evolutiva seletiva e resultar num aumento do uso de pessoas como hospedeiros de transmissão.

Desde o início da sua atividade que o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, nomeadamente o Departamento de Doenças Infecciosas no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac, se tem dedicado ao estudo destas patologias, sendo atualmente considerado uma referência nacional e internacional ao nível do diagnóstico de referência, centro de formação e laboratório de investigação nestas áreas.

Em Portugal, já foi comprovada a circulação de vários agentes etiológicos de transmissão vetorial. Muitas destas patologias apresentam sintomatologia inespecífica, pelo que a contribuição do laboratório, sobretudo dos laboratórios de referência, é essencial para o esclarecimento da etiologia dos casos clínicos. Para determinar a potencial incidência destas doenças é necessário determinar quais os problemas existentes em cada zona geográfica e caracterizar a eco-epidemiologia das diferentes patologias. Na investigação, o facto de a abordagem realizada ser pluridisciplinar, envolvendo o estudo do ciclo biológico dos agentes (agente, vetor, hospedeiro), bem como a influência

---

dos fatores ambientais e resultantes da atividade do Homem, tem sido um dos motivos para que os resultados obtidos nesta instituição tenham contribuído significativamente para o melhor conhecimento destas doenças.

A disseminação do conhecimento produzido têm contribuído para o esclarecimento do impacto destas patologias em saúde pública em Portugal, possibilitando às autoridades competentes as ferramentas necessárias para a implementação atempada de medidas que permitam a prevenção, controlo e mitigação de doenças associadas a artrópodes vetores e roedores.





\_Departamento de **Doenças Infeciosas**

**Instituto Nacional de Saúde** *Doutor Ricardo Jorge*

*Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal*

Tel.: (+351) 217 519 200

Fax: (+351) 217 526 400

E-mail: [ddi@insa.min-saude.pt](mailto:ddi@insa.min-saude.pt)

**Centro de Saúde Pública** *Doutor Gonçalves Ferreira*

*Rua Alexandre Herculano, n.321 4000-055 Porto, Portugal*

Tel.: (+351) 223 401 190

Fax: (+351) 223 401 109

E-mail: [inforporto@insa.min-saude.pt](mailto:inforporto@insa.min-saude.pt)

**Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas**

*Doutor Francisco Cambournac*

*Av. da Liberdade, n.5 2965-575 Águas de Moura, Portugal*

Tel.: (+351) 265 938 290

Fax: (+351) 265 912 155

E-mail: [cevdi@insa.min-saude.pt](mailto:cevdi@insa.min-saude.pt)