Microbiologia Médica

Patrick R. Murray
Ken S. Rosenthal
Michael A. Pfaller

MOSBY
ELSEVIER

TRADUÇÃO DA 6ª EDIÇÃO

acesso on-line
RECURSOS INTERATIVOS EXTRAS
EM PORTUGUÊS
studentconsult.com.br

Microbiologia Médica

Patrick R. Murray, PhD
Chief, Microbiology Service, Department of Laboratory Medicine, National Institute of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland

Ken S. Rosenthal, PhD
Professor, Department of Integrative Medical Sciences, Northeastern Ohio Universities Colleges of Medicine and Pharmacy, Rootstown, Ohio

Michael A. Pfaller, MD
Emeritus Professor, Pathology and Epidemiology, University of Iowa College of Medicine and College of Public Health, Iowa City, Iowa

MOSBY

Front Matter

Microbiologia Médica

Patrick R. Murray, PhD

Chief, Microbiology Service
Department of Laboratory Medicine
National Institute of Health Clinical Center
Bethesda, Maryland
Ken S. Rosenthal, PhD
Professor
Department of Integrative Medical Sciences
Northeastern Ohio Universities Colleges of Medicine and Pharmacy
Rootstown, Ohio
Michael A. Pfaller, MD
Emeritus Professor
Pathology and Epidemiology
University of Iowa College of Medicine and College of Public Health
Iowa City, Iowa

Copyright

Do original: Medical Microbiology, 6th edition
© 2009, 2005, 2002, 1998, 1994, 1990 por Mosby, um selo editorial Elsevier, Inc.
Tradução autorizada do idioma inglês da edição publicada por Mosby – um selo editorial Elsevier
ISBN: 978-0-323-05470-6
© 2010 Elsevier Editora Ltda.
Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19/02/1998.
Nenhuma parte deste livro, sem autorização prévia por escrito da editora, poderá ser reproduzida ou transmitida sejam quais forem os meios empregados: eletrônicos, mecânicos, fotográficos, gravação ou quaisquer outros.
ISBN: 978-85-352-3446-6
Capa
Interface Participações
Editoração Eletrônica
Diagrama Ação - Produção Editorial
Elsevier Editora Ltda.
Conhecimento sem Fronteiras
Rua Sete de Setembro, n° 111 – 16° andar
20050-006 – Centro – Rio de Janeiro – RJ
Rua Quintana, n° 753 – 8° andar
04569-011 – Brooklin – São Paulo – SP
Serviço de Atendimento ao Cliente
0800 026 53 40
sac@elsevier.com.br
Preencha a ficha de cadastro no final deste livro e receba gratuitamente informações sobre os lançamentos e promoções da Elsevier.
Consulte também nosso catálogo completo, os últimos lançamentos e os serviços exclusivos no site www.elsevier.com.br.

NOTA

O conhecimento médico está em permanente mudança. Os cuidados normais de segurança devem ser seguidos, mas, como as novas pesquisas e a experiência clínica ampliam nosso conhecimento, alterações no tratamento e terapia à base de fármacos podem ser necessárias ou apropriadas. Os leitores são aconselhados a checar informações mais atuais dos produtos, fornecidas pelos fabricantes de cada fármaco a ser administrado, para verificar a dose recomendada, o método e a duração da administração e as contraindicações. É responsabilidade do médico, com base na experiência e contando com o conhecimento do paciente, determinar as dosagens e o melhor tratamento para cada um individualmente. Nem o editor nem o autor assumem qualquer responsabilidade por eventual dano ou perda a pessoas ou a propriedade originada por esta publicação.

O Editor

CIP-Brasil. Catalogação-na-fonte.
Sindicato Nacional dos Editores de Livros, RJ
M962m
Murray, Patrick R.
Microbiologia médica / Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller; [tradução Carlos Pelleschi Taborda… et al.]. – Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
il.
Tradução de: Medical microbiology

Inclui índice
ISBN 978-85-352-3446-6
1. Microbiologia médica. I. Rosenthal, Ken S. II. Pfaller, Michael A. III. Título.
09-4966. CDD: 616.9041
CDU: 579.61
18.09.09 29.09.09 015393

Revisão Científica e Tradução

SUPERVISÃO DA REVISÃO CIENTÍFICA

Afonso Luis Barth

Professor Adjunto do Departamento de Análises da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Chefe do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS

Bolsista de Produtividade em Pesquisa 1B do CNPq

Doutor em Microbiologia Clínica pela University of London

Especialista em Biotecnologia Moderna

REVISÃO CIENTÍFICA

Afonso Luis Barth (Caps. 1 a 3, 7 a 17 e Índice)

Ana Lucia Peixoto de Freitas (Caps. 32 a 47)

Professor Adjunto do Departamento de Análises da Faculdade de Farmácia da UFRGS

Doutor em Ciências Médicas pela UFRGS

Mestre em Microbiologia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS

Fernanda de Paris (Caps. 4 e 48 a 67)

Farmacêutica-bioquímica

Mestre em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela UFRGS

Chefe da Unidade de Biologia Molecular e Técnicas Especiais do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS

Suzane Silbert (Caps. 18 a 31)

Clinical Scientist do Laboratório Clínico do Departamento de Patologia Clínica do Tampa General Hospital, Flórida, Estados Unidos

Visitor Research Fellow da University of Iowa Hospital and Clinics, Estados Unidos

Mestre e Doutora em Ciências das Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Tiana Tasca (Caps. 6, Caps. 78 a 87)

Professor Adjunto do Departamento de Análises da Faculdade de Farmácia da UFRGS

Doutor em 2005 pela UFRGS

Mestre em 2001 pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC/RS)

Valério Rodrigues Aquino (Caps. 5, 68 a 77)

Bioquímico

Chefe da Unidade de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS

Mestre em Medicina (Ciências Médicas) pela UFRGS

TRADUÇÃO

Adriana Pittella Sudré (Caps. 6 e 83 a 87)

Professora Assistente do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal Fluminense (UFF)

Doutoranda em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Mestre em Patologia pela UFF

Alessandra Mattos Saliba (Cap. 4)

Professora Adjunta do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (FCM/UERJ)

Doutora em Ciências (Microbiologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Mestre em Microbiologia pela UERJ

Alexandre Aldighieri Soares (Cap. 59)

Médico pela UFRJ

Residência em Clínica Médica pelo Hospital Naval Marcílio Dias, RJ

Residência em Endocrinologia pelo Instituto Estadual de Diabetes e Endocrinologia Luiz Capriglione (IEDE-RJ)

Ana Cláudia de Paula Rosa (Caps. 14 e 37)

Professora Adjunta da Disciplina de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ

Doutor em Ciências (Microbiologia) pelo Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes da UFRJ (IMPPG-UFRJ)

Ana Luiza de Mattos-Guaraldi (Caps. 26 e 27)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM/UERJ

Coordenador Geral do Laboratório de Difteria e Corinebactérias de Importância Médica

Doutor em Ciências pela UFRJ

Mestre em Microbiologia pela UFRJ

Angela Christina Dias de Castro (Caps. 1, 7, 18, 21 e 28)

Professor Adjunto IV do IMPPG-UFRJ

Doutor em Ciências pelo Instituto de Microbiologia da UFRJ

Ângela Corrêa de Freitas Almeida (Caps. 24 e 32)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM/UERJ

Doutor em Ciências Biológicas (Microbiologia) pela UFRJ

Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia) pela UFRJ

Arnaldo Feitosa Braga de Andrade (Caps. 53, 56, 60 e 64)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM/UERJ

Coordenador Geral de Pós-graduação da FCM/UERJ

Pós-doutorado em Imunologia pela Tufts University, Boston, MA, Estados Unidos

Doutor e Mestre em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ

Graduado em Medicina pela Universidade Federal do Ceará
Carlos Pelleschi Taborda (Caps. 68, 69, 73, 74 e 75)

Professor Associado do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas e Chefe do Laboratório de Micologia Médica do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo/LIM-53 do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP)

Mestre em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Doutor em Ciências (Microbiologia e Imunologia) pela UNIFESP

Livre-docente em Microbiologia pela USP
Edianez V. Dias Chimello (Caps. 48 a 50 e Caps 65 a 67)

Tradutora
Eliseanne Nopper (Caps. 51 e 52)

Especialista em Psiquiatria Clínica pela Faculdade de Medicina de Santo Amaro (FMSA) e Complexo Hospitalar do Mandaqui, SP

Médica pela FMSA/Organização Santamarense de Educação e Cultura da Universidade de Santo Amaro (OSEC/UNISA), SP
Elizabeth de Andrade Marques (Caps. 33 e 38)

Professor Associado de Microbiologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM/UERJ

Doutor em Microbiologia pela UFRJ
Irene T. Araújo Maciel (Cap. 58)

Doutora em Biologia Celular e Molecular (Virologia Molecular)

Pesquisadora Visitante do Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), RJ
José Augusto Adler Pereira (Caps. 2, 3, 8 e 20)

Professor Associado do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da FCM-UERJ

Professor Responsável pela Disciplina de Imunologia do Centro Biomédico da Universidade Gama Filho (CBM-UGF)

Professor e Orientador do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica Humana da FCM-UERJ

Doutor e Mestre em Microbiologia pelo IMPPG-UFRJ

Residência Médica em Patologia Clínica (Microbiologia) no Hospital das Clínicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HUPE-UERJ)

Graduado em Medicina pela FCM-UERJ

Karina Penedo Carvalho (Cap. 25 e Índice)

Doutora em Biologia Humana e Experimental pela UERJ

Mestre em Morfologia pela UERJ

Luciane Faria de Souza Pontes (*in memoriam*) (Caps. 9 a 13)

Professora do Curso de Especialização em Histocompatibilidade da UERJ

Farmacêutica

Doutora em Ciências Biomédicas

Lucimar Gonçalves Milagres (Caps. 17 e 29)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UERJ

Doutor em Ciências (Imunologia) pelo Instituto de Ciências Biológicas da USP

Marcelo Sampaio Narciso (Caps. 5, Caps 43 a 46 e 54)

Professor Adjunto do Programa de Graduação de Histologia do ICB da UFRJ

Doutor e Mestre em Ciências Morfológicas pelo Programa de Ciências Morfológicas (PCM) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da UFRJ

Especialista em Histologia e Embriologia pela UERJ

Maria Cristina Plotkowski (Cap. 15)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM-UERJ

Coordenadora Geral do Programa de Pós-graduação em Microbiologia da UERJ

Doutor em Ciências (Microbiologia e Imunologia) pela UFRJ

Maria das Graças de Luna Gomes (Caps. 30 e 31)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM-UERJ

Honorary Research Fellow da University of Birmingham, Birmingham, Reino Unido

Doutor e Mestre em Ciências Biológicas pela UFRJ

Marlene Teixeira De-Souza (Caps. 16, 19, 39, 41, 42 e 47)

Professor Adjunto do Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia, Universidade de Brasília (UnB)

Doutor em Biologia Molecular pela UnB/Instituto Pasteur – Paris, França

Master of Science in Biotechnology pelo Imperial College, University of London, Reino Unido

Bioquímica Clínica/Farmacêutica pela Universidade Federal de Juiz de Fora, MG

Rafael Silva Duarte (Caps. 34 a 36)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia Médica do IMPPG-UFRJ

Doutor em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ

Mestre em Microbiologia e Imunologia pela UFRJ

Raphael Hirata Júnior (Cap. 40)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da FCM-UERJ

Doutor e Mestre em Microbiologia pela UFRJ

Soraya Imon de Oliveira (Caps. 78 a 82)

Doutora em Imunologia pela USP

Especialista de Laboratório do Departamento de Física Experimental do Instituto de Física da USP

Vânia Lúcia Carreira Merquior (Caps. 22 e 23)

Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, da FCM-UERJ

Doutor em Microbiologia pela UFRJ

Vânia Regina de Souza Albuquerque (Caps. 55, 57 e 61 a 63)

Médica Radiologista do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, do Hospital Mário Kröeff e da Rede Labs D'Or

Walderez Gambale (Caps. 70 a 72, 76 e 77)

Professor Doutor do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas

Professor Adjunto do Departamento de Morfologia e Patologia Básica da Faculdade de Medicina de Jundiaí, SP

Dedicatória

Aos leitores: que todos possam se beneficiar ao usar este livro tanto quanto nos beneficiamos ao prepará-lo.

Apresentação

A microbiologia médica pode ser um campo confuso para o iniciante. São muitos os questionamentos com que nos deparamos ao estudar microbiologia. Como assimilar todos os nomes? Que agente infeccioso causa quais doenças? Por quê? Quando? Quem está sob risco? Existe um tratamento? No entanto, todas essas preocupações podem ser reduzidas a uma questão básica: Que informação é imprescindível para compreender o diagnóstico e o tratamento de um paciente infectado?

Com certeza, há várias teorias sobre o ensino e a aquisição das informações necessárias ao estudante, o que, supostamente, valida a grande quantidade de livros de microbiologia que invadiu as livrarias nos últimos anos. Embora não reivindiquemos a melhor maneira de ensinar microbiologia médica (na verdade, não existe um método perfeito para o ensino médico), as revisões deste livro estão fundamentadas em experiências adquiridas ao longo dos anos de ensino a estudantes de medicina, residentes e colegas da área de doenças infecciosas, bem como no trabalho devotado às cinco edições anteriores. Tentamos apresentar os conceitos básicos da microbiologia médica de forma clara e sucinta para contemplar diferentes níveis de aprendizagem. O texto foi escrito de forma direta com – assim esperamos – explicações simples para conceitos difíceis. No lugar de textos longos, os **itens** estão resumidos em tabelas e quadros, com ilustrações coloridas para facilitar o aprendizado visual. Os **Casos Clínicos** são relevantes, pois situam a realidade dentro da ciência básica. Os **pontos importantes** são enfatizados em **quadros** para auxiliar os estudantes, especialmente em suas revisões; e as **questões de estudo**, incluindo os **Casos Clínicos**, contemplam os principais aspectos de cada capítulo.

Nossos conhecimentos de microbiologia e imunologia estão aumentando com muita rapidez, a cada descoberta interessante que acontece em diversas áreas. A disseminação do conhecimento poderia tornar este livro mais extenso. Usamos nossa experiência como autores e professores para selecionar as informações e explicações mais importantes a serem incluídas nesta obra. Cada capítulo foi cuidadosamente atualizado e ampliado a fim de abranger as descobertas mais recentes que fossem relevantes do aspecto clínico. Em cada um desses capítulos, tentamos apresentar o material que consideramos útil para o estudante obter um claro entendimento da significância dos micróbios, um a um, e de suas doenças.

A cada edição de *Microbiologia Médica*, refinamos e atualizamos nossa apresentação. As notáveis alterações desta sexta edição abrangem o acréscimo ou a reorganização de um grande número de novos quadros de resumos, tabelas, fotografias clínicas e casos clínicos originais. A inclusão dos **Casos Clínicos** é uma característica nova desta edição, que acreditamos ser particularmente interessante e instrutiva para os estudantes. Consideramos que os casos são recursos úteis ao ensino e consistem na maneira mais eficiente de apresentar este assunto complexo. A seção de microbiologia básica foi reorganizada. A ampliação da seção de micologia reflete o aumento do papel dos fungos nas doenças infecciosas, em especial no hospedeiro imunocomprometido. O estudante também encontrará discussões sobre novos patógenos importantes (p. ex., vírus da gripe aviária) e antigos patógenos associados a novas doenças (p. ex., *Staphylococcus aureus*, responsáveis por infecções de pele e de tecidos moles adquiridas na comunidade). Finalmente, o estudante terá acesso ao site do *Student Consult*, em português, com recursos que o auxiliarão a avaliar seu domínio no assunto e a se preparar para os exames profissionais. São vídeos, animações sobre toxinas, apresentações do PowerPoint disponíveis para download, 200 perguntas e respostas, 60 casos clínicos, além de uma biblioteca com 548 imagens.

A Nossos Futuros Colegas: Os Estudantes

Como o estudante pode assimilar o que parece ser uma infinidade de fatos? À primeira vista, o sucesso na microbiologia médica parece depender de memorização. Embora a memorização seja um aspecto importante em qualquer disciplina médica, a compreensão dos princípios básicos e o desenvolvimento de um sistema para estocagem de informação ajudarão e poderão ser aplicados futuramente no estudo de micróbios e doenças recém-descobertos. Sugerimos que o estudante se concentre em aprender o que é importante, **pensando como um médico e tratando cada micróbio e as doenças dele advindas como se fosse um paciente**. À medida que estudar esse material, continue fazendo as sete perguntas básicas: Quem? Onde? Quando? Por quê? Qual? O quê? e Como? Por exemplo: Quem está sob risco de contrair a doença? Onde tal microrganismo causa infecção (tanto o local anatômico quanto a área geográfica)? Quando o isolamento desse microrganismo é importante? Por que esse microrganismo é capaz de causar doença? Quais espécies e gêneros são clinicamente importantes? Que testes diagnósticos devem ser realizados? Como essa infecção é controlada? Cada microrganismo encontrado pode ser sistematicamente examinado. Conheça as especificidades do crescimento do microrganismo, as propriedades de virulência do microrganismo e as doenças por ele causadas; entenda a epidemiologia das infecções; saiba quais espécimes devem ser coletadas e que testes básicos de identificação devem ser realizados; e, ainda, familiarize-se com as estratégias preventivas e terapêuticas. Aprenda de três a cinco palavras ou frases associadas ao micróbio que poderão estimular a sua memória **(palavras-gatilho)** e organize os diversos fatos em um quadro lógico. Crie **associações alternativas**. Por exemplo, este livro apresenta os microrganismos na estrutura taxonômica sistemática (frequentemente denominada *bug parade*, pois os autores acreditam que essa seja a maneira mais fácil de apresentar os microrganismos). Considere determinada propriedade de virulência (p. ex., produção de toxina) ou tipo de doença (p. ex., meningite) e relacione os organismos que compartilham a propriedade. Suponha que um paciente imaginário esteja infectado com um patógeno específico e faça o histórico do caso. Explique o diagnóstico ao paciente imaginário e também a seus futuros colegas de profissão. Em outras palavras, não tente simplesmente memorizar página após página de fatos; em vez disso, utilize técnicas que estimulem sua mente e desafiem sua compreensão dos fatos apresentados ao longo do texto.

Nenhum livro desta magnitude seria bem-sucedido sem a contribuição de numerosos profissionais. Somos gratos à valiosa ajuda profissional e ao apoio fornecidos pela equipe da Elsevier, particularmente William Schmitt, Katie DeFrancesco e Priscilla Crater. Também queremos agradecer a muitos estudantes e colegas de profissão que ofereceram sugestões e críticas construtivas no decorrer da elaboração desta sexta edição de *Microbiologia Médica*.

Patrick R. Murray, PhD

Ken S. Rosenthal, PhD

Michael A. Pfaller, MD

Table of Contents

Front Matter

Copyright

Revisão Científica e Tradução

Dedicatória

Apresentação

Seção 1: Introdução

Capítulo 1: Introdução à Microbiologia Médica

Seção 2: Princípios Básicos de Microbiologia Médica

Capítulo 2: Classificação, Estrutura e Replicação Bacteriana

Capítulo 3: Metabolismo e Genética Bacterianos

Capítulo 4: Classificação, Estrutura e Replicação dos Vírus

Capítulo 5: Classificação, Estrutura e Replicação dos Fungos

Capítulo 6: Classificação, Estrutura e Replicação Parasitária

Capítulo 7: Microbiota Comensal e Patogênica de Seres Humanos

Capítulo 8: Esterilização, Desinfecção e Antissepsia

Seção 3: Conceitos Básicos na Resposta Imune

Capítulo 9: Elementos das Respostas Protetoras do Hospedeiro

Capítulo 10: Respostas Imunes Humorais

Capítulo 11: Respostas Imunecelulares

Capítulo 12: Respostas Imunes aos Agentes Infecciosos

Capítulo 13: Vacinas Antimicrobianas

Seção 4: Princípios Gerais do Diagnóstico Laboratorial

Capítulo 14: Princípios de Microscopia e Aplicações

Capítulo 15: Cultura In Vitro: Princípios e Aplicações

Capítulo 16: Diagnóstico Molecular

Capítulo 17: Diagnóstico Sorológico

Seção 5: Bacteriologia

Capítulo 18: Mecanismos de Patogênese Bacteriana

Capítulo 19: Diagnóstico Laboratorial de Doenças Bacterianas

Capítulo 20: Agentes Antibacterianos

Capítulo 21: Staphylococcus e Cocos Gram Positivos Relacionados

Capítulo 22: Streptococcus

Capítulo 23: Enterococcus e Outros Cocos Gram Positivos

Capítulo 24: Bacillus

Capítulo 25: Listeria e Erysipelothrix

Capítulo 26: Corynebacterium e Outros Bacilos Gram Positivos

Capítulo 27: Nocardia e Bactérias Relacionadas

Capítulo 28: Mycobacterium

Capítulo 29: Neisseria e Bactérias Relacionadas

Capítulo 30: Enterobacteriaceae

Capítulo 31: Vibrio e Aeromonas

Capítulo 32: Campylobacter e Helicobacter

Capítulo 33: Pseudomonas e Microrganismos Relacionados

Capítulo 34: Haemophilus e Bactérias Relacionadas

Capítulo 35: Bordetella

Capítulo 36: Francisella e Brucella

Capítulo 37: Legionella

Capítulo 38: Bastonetes Gram Negativos Diversos

Capítulo 39: Clostridium

Capítulo 40: Bactérias Gram Positivas Anaeróbicas Não Formadoras de Esporos

Capítulo 41: Bactérias Gram Negativas Anaeróbias

Capítulo 42: Treponema, Borrelia e Leptospira

Capítulo 43: Mycoplasma e Ureaplasma

Capítulo 44: Rickettsia e Orientia

Capítulo 45: Ehrlichia, Anaplasma e Coxiella

Capítulo 46: Chlamydia e Chlamydophila

Capítulo 47: O Papel de Bactérias em Doenças

Seção 6: Virologia

Capítulo 48: Mecanismos de Patogênese Viral

Capítulo 49: Agentes Antivirais

Capítulo 50: Diagnóstico Laboratorial de Doenças Virais

Capítulo 51: Papilomavárus e Poliomavárus

Capítulo 52: Adenovírus

Capítulo 53: Herpesvírus Humanos

Capítulo 54: Poxvírus

Capítulo 55: Parvovírus

Capítulo 56: Picornavírus

Capítulo 57: Coronavírus Norovírus

Capítulo 58: Paramyxovírus

Capítulo 59: Ortomixovírus

Capítulo 60: Rabdovírus, Filovírus e Bornavírus

Capítulo 61: Reovírus

Capítulo 62: Togavírus e Flavivírus

Capítulo 63: Buniavírus e Arenavírus

Capítulo 64: Retrovírus

Capítulo 65: Vírus da Hepatite

Capítulo 66: Vírus Lentos não Convencionais: Príons

Capítulo 67: O Papel dos Vírus na Doença

Seção 7: Micologia

Capítulo 68: Patogênese das Doenças Fúngicas

Capítulo 69: Diagnóstico Laboratorial das Doenças Fúngicas

Capítulo 70: Agentes Antifúngicos

Capítulo 71: Micoses Superficiais e Cutâneas

Capítulo 72: Micoses Subcutâneas

Capítulo 73: Micoses Sistêmicas devida a Fungos Dimórficos

Capítulo 74: Micoses Oportunistas

Capítulo 75: Infecções Fúngicas ou Similares de Etiologia Incomum ou Incerta

Capítulo 76: Micotoxinas e Micotoxicoses

Capítulo 77: Papel dos Fungos na Doença

Seção 8: Parasitologia

Capítulo 78: Patogênese das Doenças Parasitárias

Capítulo 79: Diagnóstico Laboratorial da Doença Parasitária

Capítulo 80: Agentes Antiparasitários

Capítulo 81: Protozoários Intestinais e Urogenitais

Capítulo 82: Protozoários do Sangue e dos Tecidos

Capítulo 83: Nematoides

Capítulo 84: Trematódeos

Capítulo 85: Cestoides

Capítulo 86: Artrópodes

Capítulo 87: O Papel dos Parasitos na Doença

Respostas

Índice

Seção 1
Introdução

1 Introdução à Microbiologia Médica

Imagine a excitação sentida pelo biólogo holandês Anton van Leeuwenhoek em 1674 quando olhava através de suas lentes de microscópio cuidadosamente posicionadas sobre uma gota de água e descobriu um mundo de milhões de minúsculos “animaliculos”. Cerca de 100 anos mais tarde, o biólogo dinamarquês Otto Müller ampliou os estudos de van Leeuwenhoek e organizou as bactérias em gêneros e espécies de acordo com os métodos de classificação de Carolus Linnaeus. Este foi o começo da classificação taxonômica dos micróbios. Em 1840, o patologista alemão Friedrich Henle propôs os critérios para provar que os microrganismos eram responsáveis por causar doenças em seres humanos (a “teoria do germe” como causador de doença). Robert Koch e Louis Pasteur confirmaram esta teoria nas décadas de 1870 e 1880 com uma série de experimentos elegantes que provaram que os microrganismos eram responsáveis por causar antraz, raiva, peste, cólera e tuberculose. Outros cientistas brilhantes continuaram a provar que uma coleção diversa de micróbios era responsável por doenças em seres humanos. A era da quimioterapia começou em 1910, quando o químico alemão Paul Ehrlich descobriu o primeiro agente antibacteriano, um composto eficaz contra a espiroqueta causadora da sífilis. Este fato foi seguido pela descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928, pela descoberta da sulfonamida em 1935 por Gerhard Domagk, e pela descoberta da estreptomicina por Selman Waksman em 1943. Em 1946, o microbiologista americano John Enders foi o primeiro a cultivar vírus em cultura de células, o que levou à produção de culturas de vírus em larga escala para o desenvolvimento de vacinas. Milhares de cientistas seguiram estes pioneiros, cada um baseado nos fundamentos estabelecidos pelos seus antecessores, e cada um adicionando uma observação que ampliou nossa compreensão sobre os micróbios e o seu papel em doenças.

O mundo descoberto por van Leeuwenhoek era complexo, consistindo em protozoários e bactérias de todas as formas e tamanhos. No entanto, atualmente sabemos que a complexidade da microbiologia médica rivaliza com os limites da imaginação. Hoje sabemos que existem milhares de diferentes tipos de microrganismos que vivem no interior, sobre e ao redor de nós — e centenas que causam doenças sérias em seres humanos. Para compreender esta informação e organizá-la de maneira útil, é importante entender alguns dos aspectos básicos da microbiologia médica. Para iniciar, os micróbios podem ser divididos em 4 grupos gerais: os vírus, as bactérias, os fungos e os parasitas, cada um apresentando o seu próprio grau de complexidade.

Vírus

Os vírus são as menores partículas infecciosas, variando em diâmetro de 18 a 600 nanômetros (a maioria dos vírus mede menos de 200 nm e não pode ser visualizada ao microscópio óptico). Os vírus contêm tipicamente ou ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA), mas nunca os 2. No entanto, algumas partículas semelhantes aos vírus não contêm nenhum ácido nucleico detectável (p. ex., prions, Cap. 66), enquanto o recém-descoberto Mimivírus contém ambos RNA e DNA. Os ácidos nucleicos e as proteínas virais requeridos para a replicação e patogênese estão contidos em um envelope proteico com ou sem um envelope membranoso lipídico. Os vírus são parasitas verdadeiros pois requerem a célula hospedeira para a replicação. As células que eles infectam e a resposta do hospedeiro à infecção ditam a natureza das manifestações clínicas. Foram descritas mais de 2.000 espécies de vírus, destas, aproximadamente, 650 infectam os seres humanos e os animais. A infecção pode levar a uma rápida replicação e destruição da célula ou a uma relação crônica com a possível integração da informação genética viral no genoma do hospedeiro. Os fatores que determinam quais dos dois processos acontecerão são apenas parcialmente compreendidos. Por exemplo, a infecção com o vírus da imunodeficiência humana, o agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), pode resultar em uma infecção latente dos linfócitos CD4 ou na replicação ativa e destruição destas células imunologicamente importantes. Deste modo, a infecção pode se espalhar para outras células suscetíveis, como as micróglias do cérebro, resultando nas manifestações neurológicas da AIDS. Assim, as doenças causadas por vírus podem variar desde o resfriado comum ou uma gastroenterite até infecções fatais como a raiva, o ebola, a varíola, ou a AIDS.

Bactérias

As bactérias apresentam uma estrutura relativamente simples. Elas são organismos **procariotos** — organismos simples, unicelulares que não apresentam membrana nuclear, mitocôndria, complexo de Golgi, ou retículo endoplasmático — que se reproduzem por divisão assexuada. A parede celular bacteriana é complexa, consistindo de 1 entre 2 formas básicas: uma parede celular com uma camada espessa de peptidioglicano, nas bactérias Gram positivas, e uma parede celular com uma camada fina de peptidioglicano e uma membrana externa sobreposta, bactérias Gram negativas (informações adicionais acerca desta estrutura são apresentadas no Cap. 2). Algumas bactérias não apresentam a parede celular e compensam esta falta sobrevivendo somente no interior da célula hospedeira ou em um ambiente hipertônico. O tamanho (1 a 20 μm ou maior), a forma (esferas, bastões, espirais) e o arranjo espacial (células isoladas, cadeias, aglomerados) das células são usados para a classificação preliminar das bactérias, e as propriedades fenotípicas e genotípicas formam a base para a classificação definitiva. O corpo humano é habitado por milhares de diferentes espécies bacterianas — algumas vivendo de forma transitória, outras numa relação parasítica permanente. Do mesmo modo, as bactérias estão presentes no ambiente que nos cerca, incluindo o ar que respiramos, a água que bebemos, e a comida que comemos; sendo que muitas destas bactérias são relativamente não virulentas, mas outras são capazes de produzir doenças que ameaçam a vida. A doença pode resultar do efeito tóxico de produtos bacterianos (p. ex., toxinas) ou quando a bactéria invade sítios anatômicos que são normalmente estéreis.

Fungos

Ao contrário do que acontece com as bactérias, a estrutura celular dos fungos é mais complexa. Os fungos são organismos **eucariotos** que contêm um núcleo bem-definido, mitocôndria, complexo de Golgi e retículo endoplasmático (Cap. 5). Os fungos podem existir em forma unicelular **(leveduras)** que se replica assexuadamente ou em uma forma filamentosa **(fungos filamentosos)** que podem se replicar sexuada e assexuadamente. A maioria dos fungos existe como leveduras ou bolores, no entanto, alguns podem assumir ambas as morfologias. São conhecidos como fungos **dimórficos** e incluem os organismos como *Histoplasma, Blastomyces* e *Coccidioides*.

Parasitas

Os parasitas são os micróbios mais complexos. Embora todos os parasitas sejam classificados como eucariotos, alguns são unicelulares e outros multicelulares (Cap. 6). Eles variam em tamanho desde protozoários minúsculos medindo de 1 a 2 µm em diâmetro (o tamanho de muitas bactérias) a tênias que podem medir mais de 10 metros de comprimento e artrópodes. Na verdade, considerando o tamanho de alguns destes parasitas é difícil imaginar como estes organismos podem ser classificados como micróbios. Seus ciclos de vida são igualmente complexos, com alguns parasitas estabelecendo uma relação permanente com os seres humanos e outros passando por uma série de estágios de desenvolvimento até se tornarem hospedeiros animais. Uma das dificuldades encontradas pelos estudantes não é só a compreensão do espectro da doença causada por parasitas, mas também o conhecimento da epidemiologia destas infecções, o que é vital para o desenvolvimento do diagnóstico diferencial e da abordagem para o controle e prevenção das infecções parasíticas.

Doença Microbiana

Uma das razões mais importantes para o estudo dos micróbios é compreender as doenças que eles causam e a maneira para controlá-las. Infelizmente, a relação entre muitos organismos e as doenças causadas por eles não é simples. Especificamente, a maioria dos organismos não causa uma única doença bem-definida, embora existam alguns que o façam (p. ex., *Treponema pallidum*, sífilis; poliovírus, pólio; espécies de *Plasmodium*, malária). Em vez disso, é mais comum um determinado organismo produzir muitas manifestações de doença (p. ex., *Staphylococcus aureus* — endocardite, pneumonia, infecções de feridas, intoxicação alimentar) ou muitos organismos produzirem a mesma doença (p. ex., meningite causada por vírus, bactérias, fungos, e parasitas). Além disso, relativamente poucos organismos podem ser classificados sempre como patogênicos, embora alguns pertençam a esta categoria (p. ex., vírus da raiva, *Bacillus anthracis, Sporothrix schenckii*, espécies de *Plasmodium*). Em vez disso, a maioria dos organismos é capaz de estabelecer doença somente sob circunstâncias bem-definidas (p. ex., a introdução de um organismo com potencial para causar doença em sítios normalmente estéreis como cérebro, pulmões e cavidade peritoneal). Algumas doenças surgem quando um indivíduo é exposto a organismos oriundos de fontes externas. Estas são conhecidas como **infecções exógenas**, e exemplos incluem as doenças causadas pelo vírus da influenza, pelo *Clostridium tetani*, pela *Neisseria gonorrhoeae*, pelo *Coccidioides immitis*, e pela *Entamoeba histolytica*. No entanto, a maioria das doenças humanas é produzida por organismos da própria microbiota do indivíduo, que se espalham para sítios anatômicos impróprios onde a doença pode ocorrer **(infecções endógenas)**.

A interação entre um organismo e o hospedeiro humano é complexa. A interação pode resultar em colonização transiente, numa relação simbiótica de longo tempo, ou em doença. A virulência do organismo, o sítio de exposição e a habilidade do hospedeiro em responder ao organismo determinam o resultado da interação. Assim, as manifestações da doença podem variar de sintomas suaves até a falência de órgãos e a morte. O papel da virulência microbiana e da resposta imunológica do hospedeiro é discutido em profundidade nos capítulos subsequentes.

O corpo humano é notadamente adaptado em controlar a exposição a micróbios patogênicos. As barreiras físicas previnem a invasão pelos micróbios, as respostas inatas reconhecem perfis moleculares nos componentes microbianos e ativam as defesas locais e as respostas imunes específicas que atacam o micróbio para sua eliminação. Infelizmente, a resposta imune é frequentemente muito tardia ou muito lenta. Para melhorar a habilidade do corpo humano prevenir infecções, o sistema imune pode ser aumentado tanto através da transferência passiva de anticorpos presentes em preparações de imunoglobulinas quanto através da imunização ativa com componentes dos micróbios (antígenos). As infecções também podem ser controladas com uma variedade de agentes terapêuticos. Infelizmente, muitos micróbios podem alterar a sua complexidade antigênica **(variação antigênica)** ou desenvolver resistência até os mais potentes antibióticos. Desta maneira, a batalha entre micróbios e hospedeiro continua, com nenhum dos dois lados sendo ainda capaz de reivindicar a vitória (embora os micróbios tenham demonstrado uma capacidade notável). Claramente não existe uma “bala mágica” que tenha erradicado as doenças infecciosas.

Microbiologia Diagnóstica

O laboratório de microbiologia clínica tem um importante papel no diagnóstico e controle das doenças infecciosas. No entanto, a capacidade do laboratório em realizar estas funções é limitada pela qualidade do espécime clínico coletado do paciente, pelos meios através dos quais o espécime clínico é transportado para o laboratório e pelas técnicas usadas para identificar o micróbio na amostra. Pelo fato da maioria dos testes diagnósticos serem baseados na habilidade do organismo crescer, as condições de transporte devem assegurar a viabilidade do patógeno. Além disso, os testes mais sofisticados serão de pouco valor se o espécime clínico coletado não for representativo do sítio da infecção. Isto parece óbvio, mas muitos espécimes clínicos enviados ao laboratório para análise são contaminados durante a coleta com organismos que colonizam as superfícies das mucosas. É virtualmente impossível interpretar os resultados de testes com espécimes clínicos contaminados, porque a maioria das infecções é causada por organismos endógenos.

O laboratório é também capaz de determinar a atividade de agentes terapêuticos selecionados, embora o valor destes testes seja limitado. O laboratório deve testar somente os microrganismos capazes de produzir doença e os antimicrobianos clinicamente relevantes. Testar todos os organismos isolados e uma seleção indiscriminada de drogas pode produzir resultados de difícil interpretação com consequências potencialmente perigosas. Não somente um paciente pode ser tratado inadequadamente com antibióticos desnecessários, mas também o microrganismo patogênico verdadeiro pode não ser reconhecido entre a variedade de organismos isolados e testados. Finalmente, a determinação *in vitro* da suscetibilidade de um organismo a uma variedade de antibióticos é somente um aspecto de um quadro complexo. A virulência do organismo, o sítio da infecção e a habilidade do paciente responder a infecção influenciam a interação hospedeiro-parasita e também devem ser consideradas quando o tratamento for planejado.

Resumo

É importante estar ciente que o nosso conhecimento do mundo microbiano está evoluindo continuamente. Assim como os primeiros microbiologistas fizeram suas descobertas com as bases estabelecidas pelos seus antecessores, nós e as futuras gerações continuaremos a descobrir novos micróbios, novas doenças e novas terapias. Os capítulos a seguir pretendem servir de base de conhecimento que pode ser usada para construir o seu entendimento dos micróbios e de suas doenças.

Seção 2
Princípios Básicos de Microbiologia Médica

2 Classificação, Estrutura e Replicação Bacteriana

As bactérias são as menores células, somente visíveis com o emprego de um microscópio. A menores bactérias (*Chlamydia* e *Rickettsia*) apresentam entre 0,1 a 0,2 µm de diâmetro, enquanto as bactérias maiores podem ter vários micrômetros de comprimento. Uma espécie recentemente descrita é centena de vezes maior do que a média das células bacterianas podendo ser visível a “olho nu”. A maioria das espécies, entretanto, tem aproximadamente 1µm de diâmetro, sendo visíveis por meio de microscópico óptico que tem resolução de 0,2 µm. Comparativamente, células de animais e de plantas são muito maiores, variando de 7µm (o diâmetro de uma hemácia) a vários centímetros (o comprimento de algumas células nervosas).

Diferenças entre Eucariontes e Procariontes

As células de animais, plantas e fungos são **eucariontes** (grego para “núcleo verdadeiro”), enquanto que bactérias e algas cianofícias correspondem a **procariontes** (grego para “núcleo primitivo”). Além de não possuírem núcleo típico nem outras organelas, o cromossomo bacteriano difere do cromossomo humano em várias características. O cromossomo de uma bactéria típica como a *Escherichia coli* é uma única molécula circular de ácido desoxirribonucleico (DNA), dupla-fita, contendo aproximadamente 5 milhões de pares de base (ou 5.000 kilobases [kb] pareadas), e comprimento aproximado de 1,3mm (*i.e.*, cerca de 1.000 vezes o diâmetro da célula). Os menores cromossomos bacterianos (dos micoplasmas) têm 1/4 deste tamanho. Comparativamente, os seres humanos apresentam duas cópias de 23 cromossomos que representam $2{,}9 \times 10^9$ pares de base com 990mm de comprimento. As bactérias possuem ribossomos menores, o ribossomo de 70S, e na maioria das bactérias uma parede celular constiuída por um emaranhado de peptidoglicanos envolve as membranas protegendo-as contra o ambiente. As bactérias podem sobreviver e, em alguns casos crescer, em ambientes hostis nos quais a pressão osmótica externa à célula é tão baixa que poderia lisar a maioria das células eucarióticas, em temperaturas extremas (tanto no calor quanto no frio), em ambientes muito secos e com fontes de energia muito escassas e diversas. As bactérias evoluíram se adaptando a essas condições. Estas e outras características distintas são detalhadas na Figura 2-1 e destacadas na Tabela 2-1. Várias dessas características determinam as bases da atividade antimicrobiana.

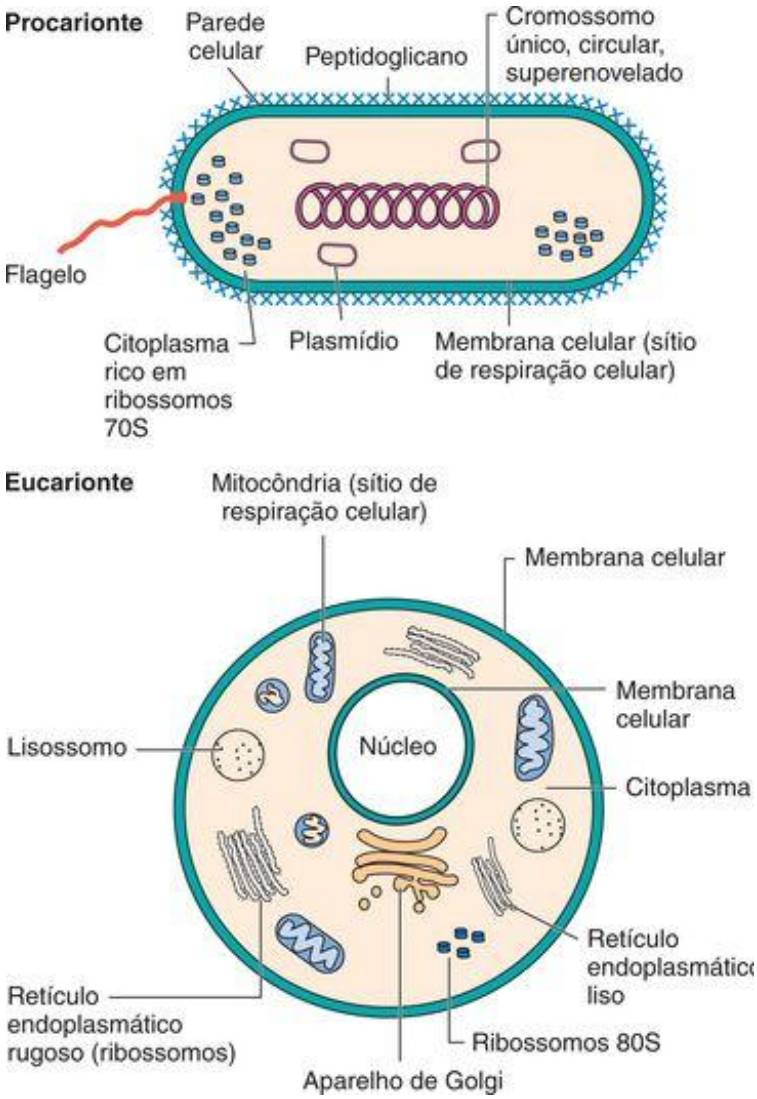


Figura 2-1 Principais características de procariontes e de eucariontes.

Tabela 2-1 Principais Características dos Eucariontes e dos Procariontes

Característica	Eucarionte	Procarionte
Principais grupos	Algas, fungos, protozoários, plantas, animais	Bactérias
Tamanho (aproximado)	>5µm	0,5-3,0µm
Estruturas Nucleares		
Núcleo	Membrana clássica	Ausência de membrana nuclear
Cromossomos	Fitas de genoma diploide	DNA genômico, haploide, único, circular
Estruturas Citoplasmáticas		
Mitocôndria	Presente	Ausente
Corpúsculos de Golgi	Presente	Ausente
Retículo endoplasmático	Presente	Ausente
Ribossomos (coeficiente de sedimentação)	80S (60S + 40S)	70S (50S + 30S)
Membrana citoplasmática	Contem esteróis	Não contem esteróis
Parede celular	Presente para os fungos; ausente em outros	Estrutura complexa contendo proteínas, lipídios e peptidoglicanos
Reprodução	Sexual e assexuada	Assexuada (divisão binária)
Movimento	Flagelos complexos, se presentes	Flagelo simples, se presente
Respiração	Via mitocôndria	Via membrana citoplasmática

Modificado de Holt S: In Slots J, Taubman M (eds): Contemporary Oral Microbiology and Immmunology. St Louis, Mosby, 1992.

Classificação das Bactérias

As bactérias podem ser classificadas por aspectos microscópicos e macroscópicos, pelas características de crescimento e propriedades metabólicas, pela antigenicidade e, finalmente, pelos seus genótipos.

Diferenciações Macroscópica e Microscópica

A diferenciação inicial entre as bactérias pode ser realizada pelas características do crescimento em diversos meios nutrientes e seletivos. As bactérias crescem em colônias que são como cidades de milhões ou mais de organismos. A soma de suas características determinam as características diferenciais como a cor, tamanho, forma e odor. Utilizando meios de cultura adequados, podem ser determinadas a capacidade de resistir a certos antibióticos, de fermentar açúcares específicos (p. ex., lactose, na diferenciação entre *E. coli* de *Salmonella*), de lisar hemácias (propriedades hemolíticas) ou de hidrolisar lipídios (p. ex., lípase de clostrídeos).

Aspectos microscópicos, incluindo o tamanho, forma e configuração dos organismos (cocos, bastonetes, curvos ou espirilados), e a capacidade de reter corantes de Gram (Gram positivos ou Gram negativos) são as formas iniciais de diferenciação bacteriana. Uma bactéria esférica, como o *Staphylococcus*, é um coco; uma bactéria em forma de bastão, como *Escherichia coli*, é um bacilo; e o treponema semelhante a uma cobra é um espirilo. Além disso, espécies de *Nocardia* e de *Actinomyces* apresentam formas filamentosas ramificadas semelhantes às dos fungos. Algumas células bacterianais formam agregados semelhantes a cachos de uvas, como os *Staphylococcus aureus* ou os diplococos (duas células juntas) observados em espécies de *Streptococccus* ou de *Neisseria*.

Coloração de Gram é um teste rápido, importante e fácil que permite aos clínicos a diferenciação entre as duas mais importantes classes de bactérias, permitindo um diagnóstico inicial e começar uma terapêutica com base em diferenças inerentes às bactérias (Fig. 2-2). As bactérias são fixadas (pelo calor ou de outra forma) na superfície de uma lâmina, coradas pelo **cristal violeta** (Fig. 2-3), um corante que é precipitado pelo **lugol** e, posteriormente, o corante em excesso e não ligado é removido pelo **descorante**, contendo acetona, e pela água. Um contracorante, **safranina**, é adicionado corando todas células descoradas. Este processo demora menos de 10 minutos.

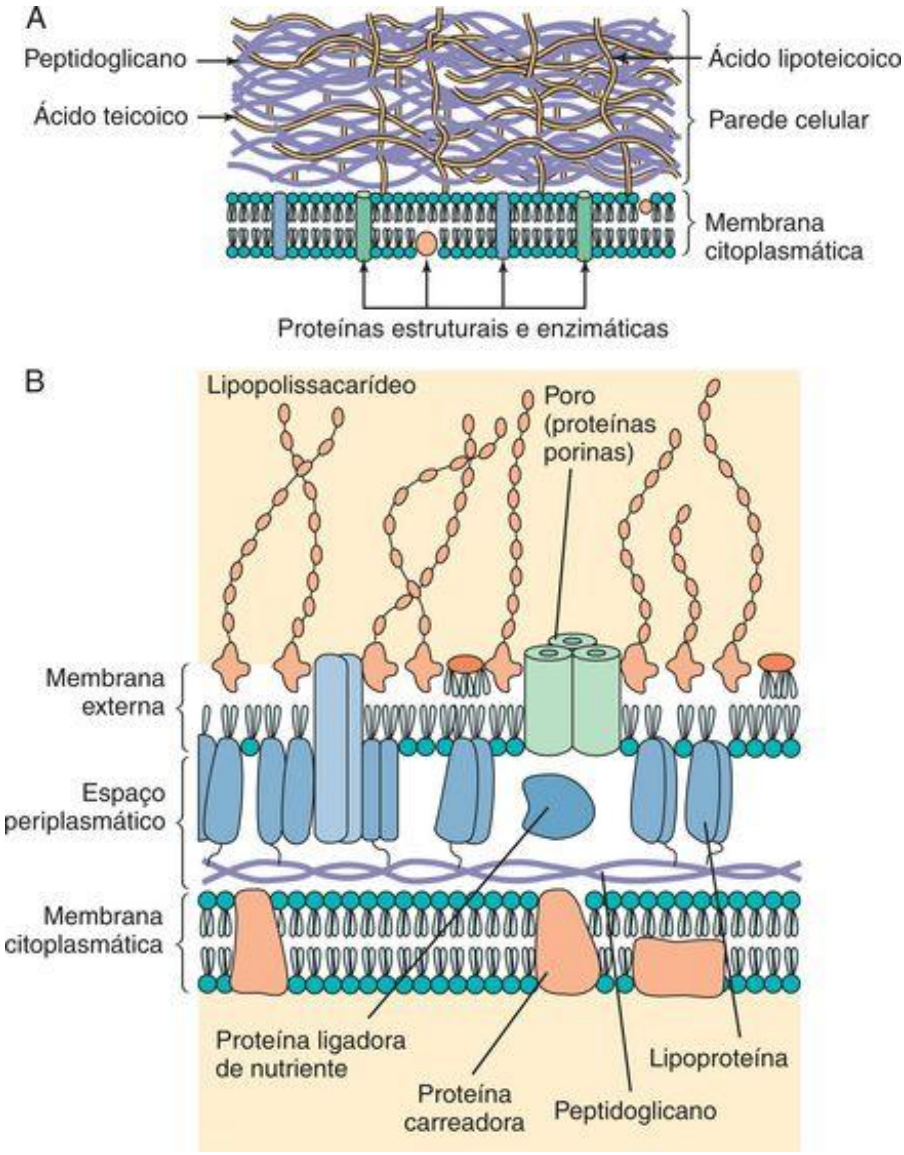


Figura 2-2 Comparação das paredes celulares de bactérias Gram positivas e Gram negativas. **A**, Uma bactéria Gram positiva tem uma camada de peptidoglicano espessa que contém ácido teicoico e ácidos lipoteicoicos. **B**, Uma bactéria Gram negativa tem uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa que contém lipopolissacarídeo, fosfolipídeos e proteínas. O espaço periplasmático entre as membranas citoplasmática e externa contém proteínas de transporte, degradativas e de síntese de parede celular. A membrana externa é acoplada à membrana citoplasmática em pontos de adesão e é presa ao peptidioglicano por lipoproteínas de ligação.

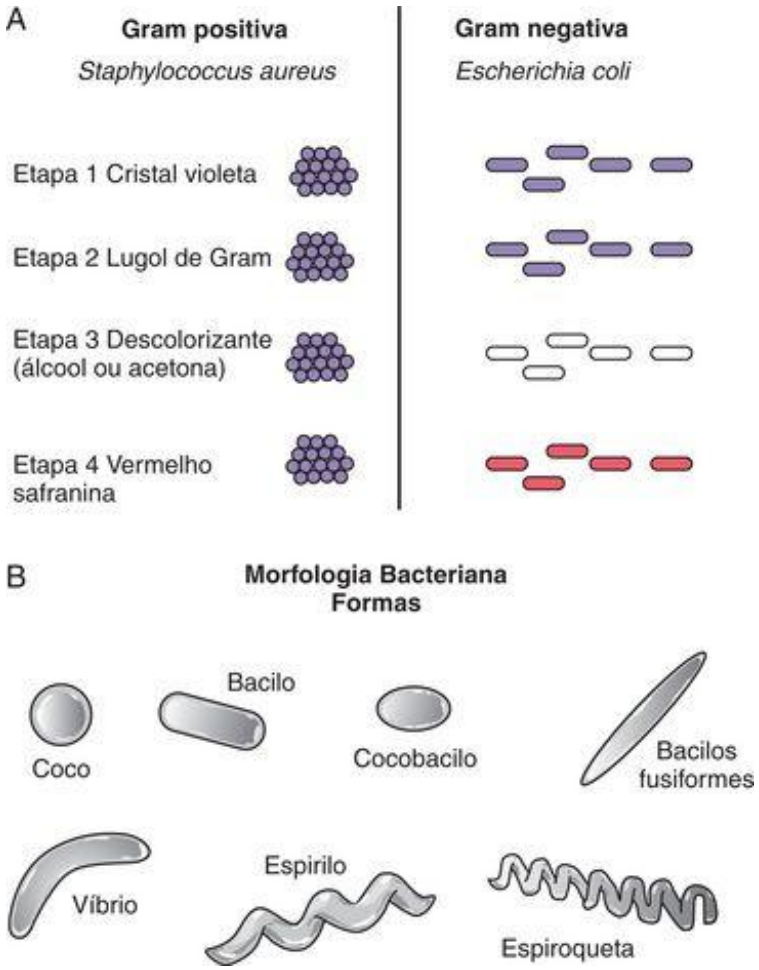


Figura 2-3 Morfologia de bactérias coradas pelo método de Gram. **A**, O cristal violeta da coloração de Gram é precipitado pelo lugol do Gram e é retido na espessa camada de peptidoglicano nas bactérias Gram positivas. O descorante dispersa a membrana externa das Gram negativas e retira o cristal violeta através da fina camada de peptidoglicano. As bactérias Gram negativas são visualizadas pelo contracorante vermelho. **B**, Morfologias bacterianas.

Para as bactérias **Gram positivas**, que adquirem cor **púrpura**, o corante fica retido pela camada de peptidoglicano, estrutura espessa de moléculas interligadas, que envolve a célula. **Bactérias Gram negativas** possuem uma fina camada de peptidoglicano que não retém o corante cristal violeta, dessa forma a célula é contracorada pela safranina e se torna vermelha (Fig. 2-4). O recurso mnemônico que pode ser útil **"P-PÚRPURA-POSITIVO"**.

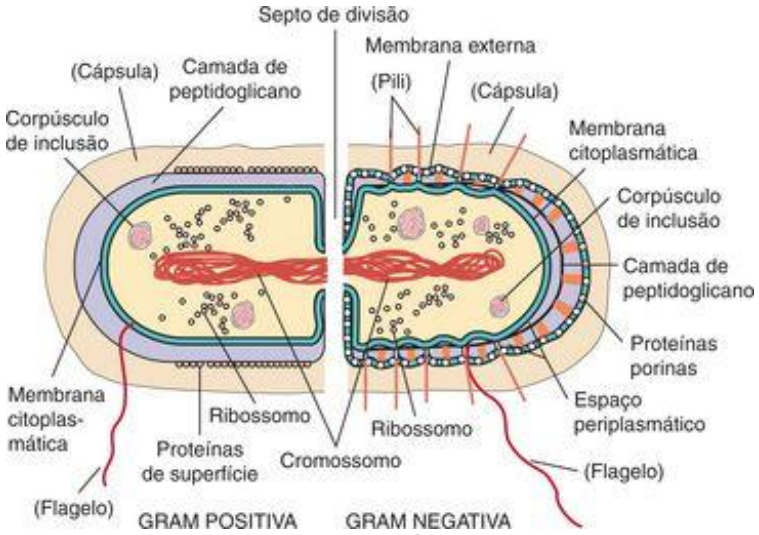


Figura 2-4 Bactérias Gram positivas e bactérias Gram negativas. Uma bactéria Gram positiva tem uma espessa camada de peptidoglicano (preenchendo o espaço púrpural)

(*esquerda*). Uma bactéria Gram negativa tem uma fina camada de peptidoglicano (linha preta única) e uma membrana externa (*direita*). As estruturas nomeadas entre parênteses não são encontradas em todas as bactérias. Na divisão celular a membrana e o peptidoglicano crescem um na direção do outro para a formação de um septo de divisão que separa as células-filhas.

Devido à degradação do peptidoglicano, a coloração de Gram não é um teste utilizável para bactérias em privação, ou seja, metabolicamente não ativas (p. ex., culturas velhas ou em fase estacionária) ou tratadas por antibióticos. Entre as bactérias que não podem ser classificadas pela coloração de Gram se incluem as micobactérias, que têm uma camada externa lipídica e são diferenciadas por coloração de álcool-acidorresistência, e os micoplasmas que são desprovidos de peptidoglicano.

Diferenciação Metabólica, Antigênica e Genética

O próximo nível de classificação é baseado no perfil metabólico da bactéria, que inclui as exigências de ambientes anaeróbicos ou aeróbicos, exigências por nutrientes específicos (p. ex., capacidade de fermentar carboidratos específicos ou de utilizar diferentes compostos como fontes de carbono para o crescimento), e produção de metabólitos característicos (ácidos, álcoois) e de enzimas específicas (p. ex., catalase de estafilococos). Foram desenvolvidos métodos automatizados para a diferenciação de bactérias entéricas e outras; sendo que estes analisam o crescimento em diferentes meios e os produtos microbianos correspondentes, fornecendo um biotipo numérico para cada uma das bactérias.

Uma cepa (ou estirpe) bacteriana particular pode ser diferenciada pela utilização de anticorpos na detecção de antígenos característicos da bactéria (**sorotipagem**). Estes testes sorológicos podem ser empregados na identificação de organismos não cultiváveis (*Treponema pallidum*, o organismo causador da sífilis) ou muito perigosos (p. ex., *Francisella*, o organismo que causa a tularemia) para o crescimento em laboratório, ou para bactérias que sejam associadas com doenças sindrômicas específicas (p. ex., *Escherichia coli* sorotipo O157, agente de colite hemorrágica) ou que necessitem identificação rápida (p. ex., *S. pyogenes*, agente da faringite estreptocócica). Se utiliza, também, a sorotipagem, em abordagens epidemiológicas, subdividindo as bactérias além do nível de espécie.

O método mais preciso para a classificação de bactérias é pela análise do seu material genético. Novos métodos diferenciam bactérias pela detecção de sequências características do DNA. Estas técnicas incluem **hibridização de DNA, amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR)** e técnicas relacionadas descritas no Capítulo 16. Estas técnicas não exigem bactérias viáveis ou em crescimento e podem ser empregadas para a detecção rápida e identificação de microrganismos de crescimento lento, como as micobactérias e fungos, ou para a análise de espécimes clínicos ou mesmo de bactérias muito virulentas. A tecnologia é atualmente disponível para análises de sequências de nucleotídeos de segmentos específicos ou de todo o cromossomo bacteriano. A aplicação mais comum dessas técnicas é na análise de sequências de DNA ribossômico para a identificação de sequência altamente conservadas que identificam uma família ou gênero e as sequências altamente variáveis que diferenciam em espécie ou subespécie. Estas também são utilizadas para definir relações evolucionárias entre organismos e para tentar identificar organismos de crescimento difícil ou impraticável. Se incluem entre outros vários métodos que têm sido empregados para classificação de microrganismos em nível de subespécie para investigações epidemiológicas: **análise de plasmídios, ribotipagem** e **análise de fragmentos de DNA cromossomal**. Recentemente os aspectos técnicos destes métodos têm sido a tal ponto simplificados que a maioria dos laboratórios usa-os em suas práticas rotineiras.

Estrutura Bacteriana

Estruturas Citoplasmáticas

O citoplasma das bactérias contém o DNA cromossomal, mRNA, ribossomos, proteínas e metabólitos (Fig. 2-4). Diferente dos eucariontes, o **cromossomo bacteriano** é único, de dupla-fita circular não contido em um núcleo, mas em uma localização definida conhecida como **nucleoide**. Não estão presentes histonas para manter a conformação do DNA e o DNA não forma nucleossomos. Podem estar presentes **plasmídios** que são formas circulares menores de DNA extracromossomal. Os plasmídios são mais comumente encontrados em bactérias Gram negativas e embora não sendo habitualmente essenciais para a sobrevivência celular frequentemente fornecem vantagens seletivas: muitos destes conferem resistência para um ou mais antibióticos.

A ausência de membrana nuclear simplifica as exigências e os mecanismos de controle para a síntese de proteínas. Na ausência de membrana nuclear a transcrição e a tradução são acopladas; em outras palavras, os robossomos podem se ligar ao RNAm e as proteínas podem ser formadas à medida que o RNAm é sintetizado estando ainda ligado ao DNA.

O **ribossomo bacteriano** é constituído de subunidades 30S + 50S, formando o ribossoma 70S. É diferente do ribossoma de 80S (40S + 60S) dos eucariontes. As proteínas e o RNA do ribossomo bacteriano são significativamente diferentes dos presentes em ribossomos de eucariontes e são importantes alvos para drogas antimicrobianas.

A **membrana citoplasmática** tem uma estrutura bilipídica semelhante a membranas de eucariontes, mas não contém esteroides (p. ex., colesterol); os micoplasmas são uma exceção para esta regra. A membrana citoplasmática é responsável por muitas das funções atribuídas às organelas em células de eucariontes. Estas tarefas incluem o transporte de elétrons e a produção de energia que são normalmente alcançadas na mitocôndria. Adicionalmente, a membrana contém proteínas de transporte que captura metabólitos e libera outras substâncias, bombas iônicas para manter o potencial de membrana e enzimas. O interior da membrana é revestido por filamentos de proteínas semelhantes à actina que contribuem para a determinação da forma da bactéria e o sítio de formação de septo para a divisão celular. Estes filamentos determinam a forma em espiral dos treponemas.

Parede Celular

A estrutura (Tab. 2-2) dos componentes e funções (Tab. 2-3) das paredes celulares diferenciam as bactérias Gram positivas das Gram negativas. Os componentes das paredes celulares são, também, peculiares para as bactérias e suas estruturas repetitivas contribuem para as respostas da imunidade inata humana. Na Tabela 2-4 são destacadas importantes diferenças nas características de membranas.

Tabela 2-2 Estruturas de Membranas Bacterianas

Estrutura	Constituintes Químicos
Membrana plasmática	Fosfolipídeos, proteínas e enzimas envolvidas na geração de energia, potencial de membrana e transporte
Parede Celular	
Bactérias Gram positivas	
Peptidoglicano	Cadeias de glicanos de GlcNac e MurNac interligadas por pontes peptídicas
Ácido teicoico	Fosfato de Polirribitol ou fosfato de glicerol
Ácido lipoteicoico	Ácido teicoico ligado a lipídio
Bactérias Gram negativas	
Peptidoglicano	Versão mais fina da encontrada em bactérias Gram positivas
Espaço periplasmático	Enzimas envolvidas no transporte, degradação e síntese
Membrana externa	Fosfolipídeos contendo ácidos graxos saturados
Proteínas	Porinas, lipoproteínas, proteínas de transporte
LPS	Lipídio A, polissacarídeo central, antígeno O
Outras estruturas	
Cápsula	Polissacarídeos (dissacarídeos e trissacarídeos) e polipeptídeos
Pili	Pilina, adesinas
Flagelo	Proteínas motrizes, flagelina
Proteínas	Proteína M de estreptococos (como um exemplo)

GlcNac, N-acetilglicosamina; LPS, lipopolissacarídeo; MurNac, ácido, N-acetil murâmico.

Tabela 2-3 Funções do Envoltório Bacteriano

Função	Componente
Estrutura	
Rigidez	Todos
Acomodação de componentes internos	Todos
Funções Bacterianas	
Barreira de permeabilidade	Membrana externa ou membrana plasmática
Captura de metabólitos	Membranas e proteínas de transporte periplasmático, porinas, permeases
Produção de energia	Membrana plasmática

Mobilidade	Flagelo
Conjugação	Pili
Interações com o Hospedeiro	
Adesão a células do hospedeiro	Pili, ácido teicoico
Reconhecimento imunológico pelo hospedeiro	Todas as outras estruturas
Escape aos mecanismos de reconhecimento imunológico do hospedeiro	Cápsula, proteína M
Importância Médica	
Sensibilidade a antibióticos	Enzimas de síntese do peptidoglicano
Resistência a antibióticos	Membrana externa

Tabela 2-4 Características de Membranas de Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas

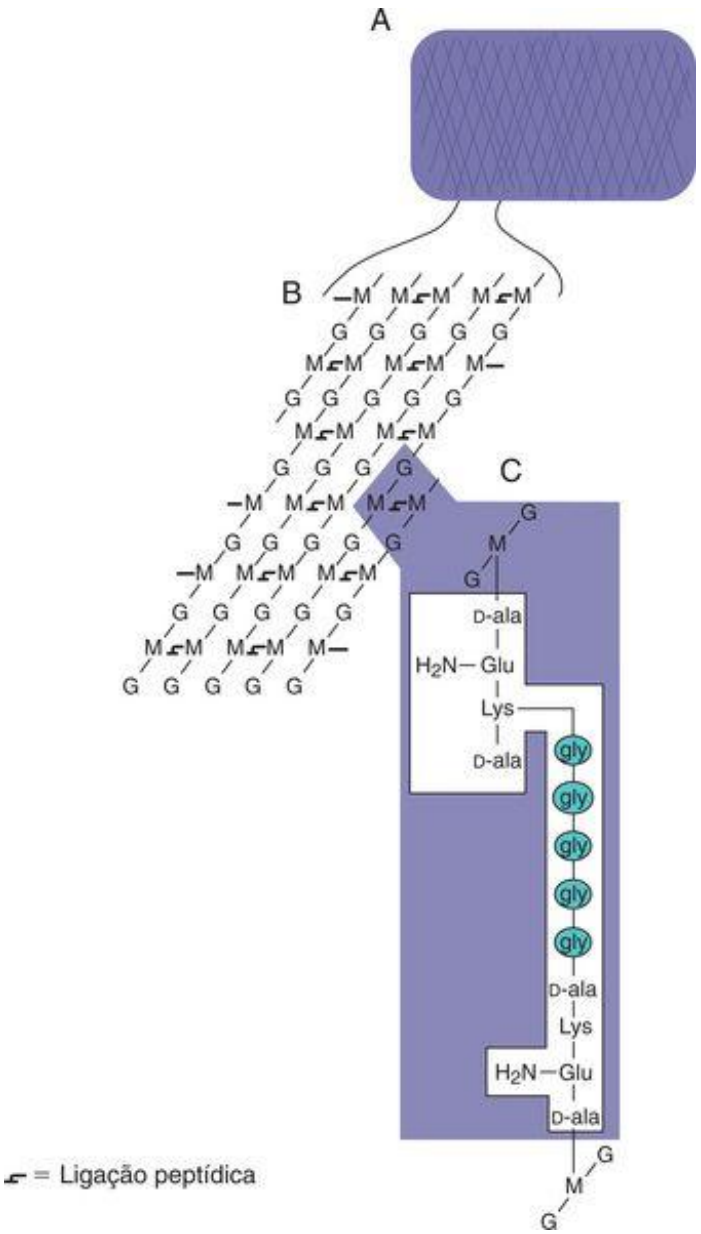
Características	Gram Positivas	Gram Negativas
Membrana externa	–	+
Parede celular	Mais espessa	Mais fina
LPS	–	+
Endotoxina	–	+
Ácido teicoico	Frequentemente presente	–
Esporulação	Algumas cepas	–
Cápsula	Algumas vezes presente	Algumas vezes presente
Lisozima	Sensível	Resistente
Atividade antibacteriana da penicilina	Mais sensível	Mais resistente
Produção de exotoxina	Algumas cepas	Algumas cepas

LPS, Lipopolissacarídeo.

Camadas de **peptidoglicano** rígido **(mureína)** circundam as membranas citoplasmáticas da maioria dos procariontes. As exceções são os organismos das *Archaeobacteria* (que contêm pseudoglicanos ou pseudomureínas semelhantes aos peptidoglicanos) e os micoplasmas (que não possuem parede celular). Como o peptidoglicano é a estrutura responsável pela rigidez, também ajudam na determinação da forma das células bacterianas. As bactérias Gram negativas também são envolvidas por membranas externas.

Bactérias Gram Positivas

Uma bactéria Gram positiva tem uma *parede celular espessa em múltiplas camadas constituída principalmente de peptidoglicano* (150 a 500 Å) envolvendo a membrana citoplasmática (Fig. 2-5). O peptidoglicano é um exoesqueleto emaranhado similar em função a um exoesqueleto de inseto, entretanto, o peptidoglicano da célula é suficientemente poroso para permitir a difusão de metabólitos para a membrana plasmática. Um novo modelo de peptidoglicano sugere que o glicano se estenda para fora da membrana plasmática como que cerdas projetadas que são interligadas por curtas cadeias de peptídeos. O **peptidoglicano é essencial** para a estrutura, para a duplicação e para a sobrevivência em condições normalmente hostis nas quais as bactérias crescem.



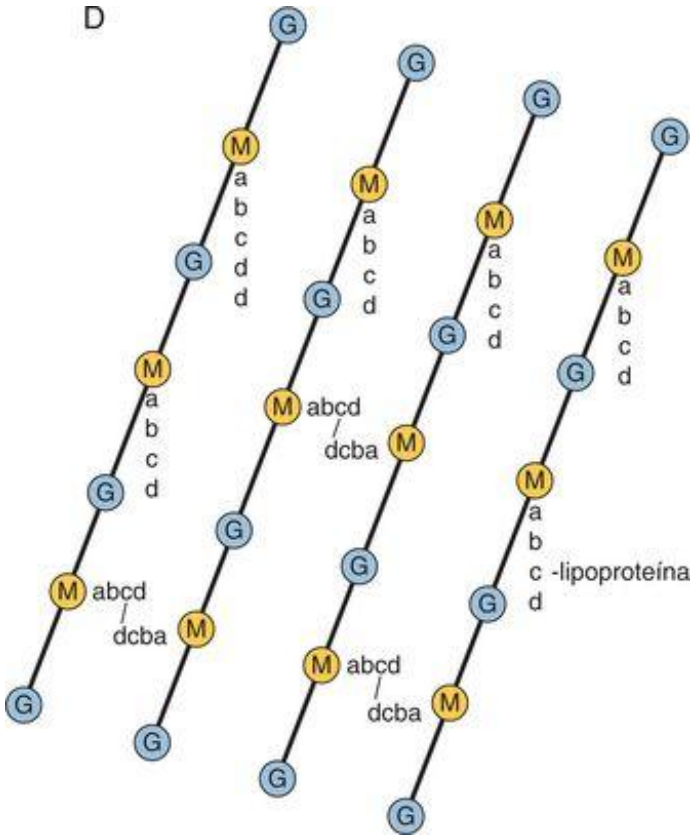


Figura 2-5 Estrutura geral dos componentes do peptidoglicano da parede celular. **A**, O peptidoglicano forma uma camada emaranhada ao redor da célula. **B**, O emaranhado de peptidoglicano é constituído de polímero de polissacarídeos que apresentam ligação cruzada através de pontes peptídicas. **C**, Os peptídeos são ligados cruzadamente através de uma ligação peptídica entre a D-alanina (D-ala) terminal de uma cadeia e a lisina (Lys) (ou outro aminoácido) de outra cadeia. Uma ponte de pentaglicina (gly5) estende a ligação em *Staphylococcus aureus* (como mostrado). **D**, Representação da estrutura do peptidoglicano de *Escherichia coli*. Ácido diaminopimélico, o aminoácido diaminado, na terceira posição do peptídeo está *ligado diretamente* à alanina terminal de outra cadeia, ligando cruzadamente o peptidoglicano. As lipoproteínas ancoram a membrana externa ao peptidoglicano. G, N-acetilglicosamina; Glu, ácido D-glutâmico; gly, glicina; M, N-acetilmurâmico; e lisina (Lys).

*(**A-C** redesenhado de Talaro K. Talaro A: Foundations in Microbiology, 2nd ed. Dubuque, Iowa, Wm C Brown, 1996; **D** redesenhado de Joklik KJ, et al; Zinsser Microbiology Norwalk, Conn, Appleton & Lange, 1988.)*

O peptidoglicano pode ser degradado pelo tratamento com **lisozima**. A lisozima é uma enzima presente na lágrima e no muco de humanos, mas também é produzida por bactérias e por outros organismos. A lisozima degrada o glicano central do peptidoglicano. Desprovida do peptidoglicano a bactéria pode sofrer lise devido à grande diferença de pressão osmótica ao longo da membrana citoplasmática. A remoção da parede celular produz o **protoplasto** que sofre lise se não for osmoticamente estabilizado.

A parede celular das bactérias Gram positivas pode incluir, também, outros componentes como os ácidos teicoico e lipoteicoico e polissacarídeos complexos (habitualmente denominados de **polissacarídeos C**). A proteína M dos estreptococos e a proteína R dos estafilococos também se associam ao peptidoglicano. Os **ácidos teicoicos** são solúveis em água, polímeros aniônicos e em fosfatos de polióis que estão ligados covalentemente ao peptidoglicano, sendo essenciais para a viabilidade celular. Os **ácidos lipoteicoicos** contêm um ácido graxo e são ancorados na membrana citoplasmática. Estas moléculas são antígenos de superfície comuns que diferenciam sorotipos bacterianos e promovem a ligação a outras bactérias e a receptores específicos em superfícies de células de mamíferos (adesão). Os ácidos teicoicos são importantes fatores de virulência. Os ácidos lipoteicoicos são liberados no meio e no hospedeiro e, embora mais fracamente, podem, como as endotoxinas, iniciar respostas inatas protetoras.

Bactérias Gram Negativas

As paredes celulares de bactérias Gram negativas são mais complexas do que as celulares das Gram positivas, tanto do ponto de vista estrutural quanto químico (Fig. 2-2). Estruturalmente, as paredes celulares de Gram negativos contêm duas camadas externas à membrana citoplasmática. Imediatamente externa à membrana celular está uma *fina camada de peptidoglicano* que contribui somente para 5% a 10% do peso da parede celular da bactéria Gram negativa. Não há *ácidos teicoico ou lipoteicoico* na parede celular das bactérias Gram negativas. A **membrana externa** se localiza na parte mais externa da célula e é peculiar às bactérias Gram negativas. A área entre a superfície externa da membrana citoplasmática e a superfície interna da membrana externa é denominada **espaço periplasmático**. Este espaço é, efetivamente, um compartimento contendo componentes de sistemas de transporte de ferro, proteínas, açúcares e outros metabólitos além de uma variedade de enzimas hidrolíticas que são importantes à célula na degradação de grandes moléculas para o metabolismo. Essas enzimas incluem, caracteristicamente, proteases, fosfatases, lípases, nucleases e enzimas que degradam carboidratos. No caso de espécies Gram negativas patogênicas muitos dos fatores de virulência, como colagenases, hialuronidases, proteases e β-lactamases, estão no espaço periplasmático.

A parede de células Gram negativas é, também, atravessada por diferentes sistemas de transporte, incluindo-se os sistemas de secreção Tipos I, II, III, IV e V. Os sistemas de transporte fornecem mecanismos para a captura e liberação de diferentes metabólitos e de outros compostos. O sistema de secreção do Tipo III é um importante fator de virulência para algumas térias, com uma estrutura complexa que atravessa tanto a membrana interna quanto a externa e que pode funcionar como uma seringa que injeta proteínas dentro de células.

Como mencionado anteriormente, as membranas externas (Fig. 2-2) são peculiares às bactérias Gram negativas. A membrana externa é como um saco de lona inflexível envolvendo a bactéria. *A membrana externa mantém a estrutura bacteriana e é uma barreira de permeabilidade às grandes moléculas* (p. ex., proteínas como a lisozima) *e a moléculas hidrofóbicas* (p. ex., alguns antibióticos). Esta também fornece proteção para condições ambientais adversas como as do sistema digestivo do hospedeiro (importante para organismos das *Enterobacteriaceae*). A membrana externa tem uma estrutura assimétrica de dupla camada que difere de qualquer outra membrana biológica em sua face externa à membrana. A face interna contém fosfolipídeos normalmente encontrados em membranas bacterianas. Entretanto, a face externa é composta primariamente pelo **lipopolissacarídeo (LPS)**. Excetuando-se as moléculas de LPS que estão sendo sintetizadas, a face exterior da membrana externa é o único local onde se encontra LPS.

O LPS é chamado de **endotoxina**, um potente desencadeador de respostas imunológicas inatas. O LPS é liberado a partir da bactéria para o meio e para o hospedeiro. O LPS ativa os linfócitos B e induz os macrófagos, as células dendríticas e outras células a liberar interleucina-1, interleucina-6, fator de necrose tumoral e outros fatores. O LPS induz à produção de febre e pode causar choque séptico. A **reação de Shwartzman** (coagulação intravascular disseminada) se segue à liberação de grande quantidade de endotoxina na corrente sanguínea. A bactéria *Neisseria* libera grande quantidade de compostos relacionados, lipo-oligossacarídeos (**LOS**), determinando febre e sintomas graves.

A variedade de proteínas encontradas em membrana externa de Gram negativos é limitada, mas várias das delas estão presentes em pequenas concentrações, resultando em um conteúdo total de proteínas que é maior do que o da membrana citoplasmática. Muitas das proteínas atravessam toda a bicamada lipídica e são proteínas transmembrana. Um grupo dessas proteínas é denominado **porinas** porque formam poros **que permitem a difusão através da membrana de moléculas hidrofílicas com massas menores do que 700 Da**. *O canal de porina permite a passagem de metabólitos e de pequenos antibióticos hidrofílicos*. A membrana externa também contém proteínas estruturais, moléculas receptoras de bacteriófagos e outros ligantes e componentes de sistemas de transporte e de secreção.

A membrana externa está conectada à membrana citoplasmática em **sítios de**

aderência e é ligada ao peptidoglicano por **lipoproteínas**. A lipoproteína é ligada covalentemente ao peptidoglicano e é ancorada na membrana externa. Os sítios de aderência criam uma rota membranosa de liberação de componentes de membrana externa recém-sintetizados para a membrana externa.

A membrana externa é mantida estruturada por ligações de cátions divalentes (Mg^{+2} e Ca^{+2}) entre fosfatos no LPS e por interações hidrofóbicas entre LPS e proteínas. Estas interações produzem uma membrana resistente, inflexível que pode ser rompida por antibióticos (p. ex., polimixina) ou pela remoção de íons de Mg e Ca (quelação com ácido etilenodiaminotetracético [EDTA] ou por tetraciclina). A ruptura da membrana externa enfraquece a bactéria e leva ao aumento da permeabilidade a moléculas grandes e hidrofílicas. A adição de lisozima às células, rompendo a membrana externa, produz os **esferoplastos** que são, como os protoplastos, osmoticamente sensíveis.

Estruturas Externas

Algumas bactérias (Gram positivas ou Gram negativas) são envolvidas por camadas (não fixadas na célula) de polissacarídeos ou proteínas chamadas de **cápsulas**. Nos casos aos quais estas são frouxamente aderidas e não uniformes em densidade ou espessura, o material é denominado **slime**. As cápsulas e o slime são, também, chamadas de **glicocálix**. *Bacillus anthracis*, a exceção a essa regra, produz uma cápsula polipeptídica. A cápsula é difícil de ser visualizada ao microscópio, mas seu espaço pode ser visualizado pela exclusão de partículas de tinta da Índia.

As cápsulas e os lime não são necessários para o crescimento bacteriano, mas são muito importantes para a sobrevivência no interior do hospedeiro. *A cápsula é fracamente antigênica e antifagocítica sendo um importante fator de virulência* (p. ex., Em *Streptococcus pneumoniae*). A cápsula também pode atuar como uma barreira para moléculas hidrofílicas tóxicas, como os detergentes e pode promover a **aderência** a outras bactérias ou a superfícies de tecidos do hospedeiro. Para o *Streptococcus mutans*, a cápsula de dextrana e lenana é o meio pelo qual a bactéria se liga e perfura o esmalte dentário. Bactérias desprovidas de cápsulas podem se originar, durante o crescimento em condições de laboratório, na ausência das pressões seletivas do hospedeiro, sendo, dessa forma, menos virulentas. Algumas bactérias (p. ex., *Pseudomonas aeruginosa*) podem produzir um **biofilme** polissacarídico sob certas condições que estabelece uma comunidade bacteriana e as protege de antibióticos e de mecanismos de defesa do hospedeiro. Outro exemplo de biofilme é a placa dentária produzida por *Streptococcus mutans*.

O s **flagelos** são estruturas propulsoras semelhantes a cordas compostas por subunidades de proteínas (**flagelina**) enroladas em hélice que são ancoradas na membrana basal através de estruturas em gancho e do corpo basal e são orientadas por potenciais de membrana. As espécies bacterianas podem ter um ou vários flagelos em suas superfícies que podem estar ancorados em diferentes partes da célula. Os flagelos promovem mobilidade à bactéria, permitindo que a célula se mova (**quimiotaxia**) em direção a nutrientes e se afaste de venenos. As bactérias se aproximam de nutrientes se movimentando diretamente em sua direção e depois se desviando (saltando) para uma nova direção. O tempo de mobilidade se torna maior à medida que a concentração do quimioatraente aumenta. As direções do giro flagelar determinam se a bactéria se movimenta diretamente ou salta. Os flagelos também expressam determinantes de antígenos e de cepas (estirpes).

A s **Fímbrias (pili)** (do latim “franja”) são estruturas semelhantes a pelos na superfície externa da bactéria; são compostos por subunidades de proteínas (**pilina**). As fímbrias podem ser diferenciadas dos flagelos por serem menores em diâmetro (3 a 8nm contra 15 a 20nm) e comumente não têm estrutura enrolada. Em geral, muitas fímbrias são arranjadas de forma peritríquia (uniformemente) sobre toda a superfície da célula bacteriana. As fímbrias podem medir 15 a 20µm ou muitas vezes o tamanho da célula.

As fímbrias promovem a adesão a outras bactérias ou ao hospedeiro (nomes alternativos são *adesinas, lectinas, evasinas* e *agressinas*). Como um fator de adesão (**adesina**) a fímbria é um importante fator de virulência para a colonização e infecção do trato urinário por *E. coli, Neisseria gonorrhoeae* e por outras bactérias. As extremidades das fímbrias podem conter proteínas (lectinas) que se ligam a açúcares específicos (p. ex., manose). **Pili F (pili sexual)** se liga a outras bactérias e é um tubo para a transferência de grandes segmentos de cromossomo bacteriano entre bactérias. Estes pili são codificados por plasmídio (F).

Bactérias que São Exceções

Micobactérias têm uma camada de peptidoglicano (estrutura ligeiramente diferente) que é entrelaçada e covalentemente ligada a um polímero de um arabinoglicano e envolvida por uma cobertura lipídica semelhante à graxa de ácido micólico (grandes ácidos graxos α-ramificados e β-hidroxilados), pelo fator corda (glicolipídeo de trealose e 2 ácidos mucólicos), cera D (glicolipídeo de 15 a 20 ácidos micólicos e açúcar) e por sulfolipídeos. Estas bactérias são descritas como **álcool-acidorresistentes**. A cobertura é responsável pela virulência e é antifagocitária. *Corynebacterium* e *Nocardia* são organismos que também produzem lipídios de ácido micólico. Os **micoplasmas** são também exceções por não possuírem uma parede celular de peptidoglicano e por incorporarem esteroides do hospedeiro em suas membranas.

Estrutura e Biossíntese dos Principais Componentes da Parede Celular Bacteriana

Os componentes da parede celular bacteriana são grandes estruturas completamente produzidas a partir de subunidade polimerizadas. Este tipo de estrutura facilita sua síntese. As bactérias enfrentam problemas na montagem de suas paredes como os astronautas construindo uma estação espacial. A síntese de peptodoglicano, LPS, ácido teicoico e da cápsula ocorre externamente à bactéria, distante do maquinário de síntese e das fontes de energia do citoplasma e em um ambiente inóspito. Tanto para a estação espacial quanto para a bactéria, subunidades e precursores da estrutura final, pré-fabricados, são montados em um cenário de localização interna, semelhante a uma fábrica, preso a uma estrutura semelhante a uma “esteira transportadora”, trazidas para superfície sendo ligadas à estrutura preexistente. Para as bactérias a estrutura semelhante à esteira transportadora é um grande fosfolipídeo chamado de **bactoprenol, (undecaprenol) (C_{55} isoprenoide)**. Os precursores pré-fabricados devem também ser ativados por ligações de alta energia (p. ex., fosfatos) ou outras formas de potencializar as reações de ligação que ocorrem fora da célula. Para as bactérias Gram negativas, os componentes de membrana são transferidos através de sítios de adesão.

Peptidoglicano (Mucopeptídeo, Mureína)

O peptidoglicano é um emaranhado rígido construído a partir de cadeias lineares de polissacarídeos semelhantes a cordas ligadas cruzadamente por peptídeos. O polissacarídeo é construído de unidades repetidas de ***N*- acetilglicosamina (Glc-Nac, NAG, G)** e **ácido *N*-acetilmurâmico (MurNAc, NAM, M)** (Fig. 2-6; Fig. 2-5).

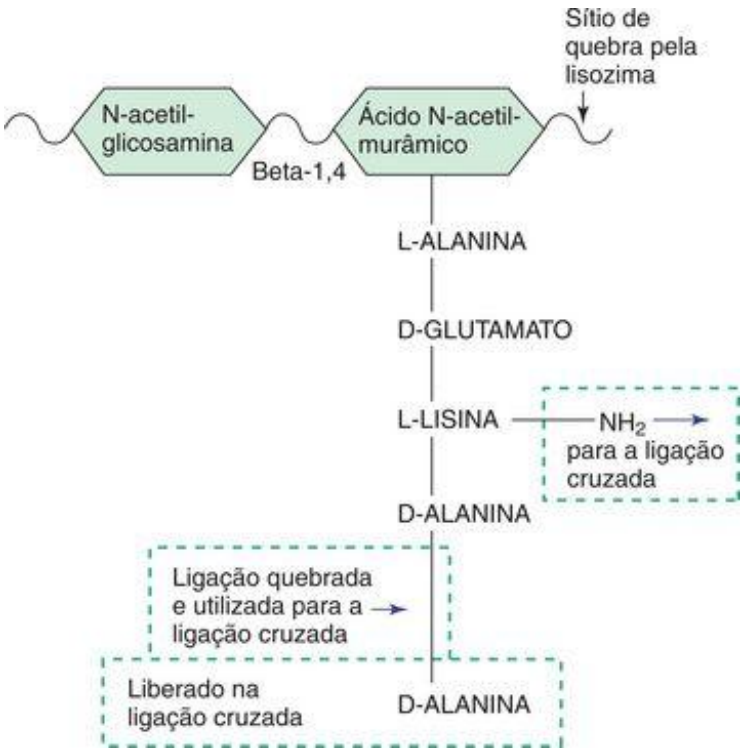


Figura 2-6 O precursor do peptidoglicano. O peptidoglicano é construído a partir de unidades pré-fabricadas que contém um pentapeptídeo ligado ao MurNAc. O pentapeptídeo contêm uma unidade terminal de D-alanina-D-alanina. O dipeptídeo é requerido para ligar cruzadamente o peptidoglicano e é o local para a ação dos antibióticos β-lactâmicos e vancomicina.

Um tetrapeptídeo é ligado ao MurNAc. O peptídeo é incomum porque contém aminoácidos, tanto D quanto L (D-aminoácidos não são normalmente encontrados na natureza), e o peptídeo é produzido enzimaticamente ao invés de ser por um ribossomo. Os dois primeiros aminoácidos ligados ao MurNAc podem variar em diferentes organismos.

Os ácidos diaminados na terceira posição são essenciais para a ligação cruzada da cadeia de peptidoglicano. Exemplos de ácidos diaminados incluem a lisina e os ácidos diaminopimélico e diaminobutírico. A ligação cruzada por peptídeo é formada entre a amina livre do ácido diaminado e a D-alanina na quarta posição de uma outra cadeia. *S. aureus* e outras bactérias Gram positivas utilizam um aminoácido ponte (p. ex., peptídeo glicina$_5$) entre esses aminoácidos para aumentar a ligação cruzada. A forma precursora do peptídeo tem uma D-alanina extra que é liberada durante a etapa de ligação cruzada.

O peptidoglicano em bactérias Gram positivas forma múltiplas camadas e é frequentemente ligado cruzadamente em 3 dimensões garantindo uma parede celular muito forte e rígida. Em contraste, o peptidoglicano nas bactérias Gram negativas comumente tem uma espessura de uma única molécula (uma camada). O número de ligações cruzadas e o comprimento da ligação cruzada determina a rigidez do emaranhado de peptidoglicano. O sítio onde a **lisozima** quebra o glicano do peptidoglicano é mostrado na Figura 2-6.

Síntese do Peptidoglicano

A síntese do peptidoglicano ocorre em 5 etapas (Fig. 2-7). Primeira, no interior da célula a glicosamina é enzimaticamente convertida em MurNAc e depois ativada energeticamente pela reação com uridina trifosfato (UTP) para produzir ácido N-acetilmurâmico-fosfatato (UDP-MurNAc). Segunda, MurNAc o precursor do pentapeptídeo do UDP-MurNAc é montado em uma série de etapas enzimáticas.

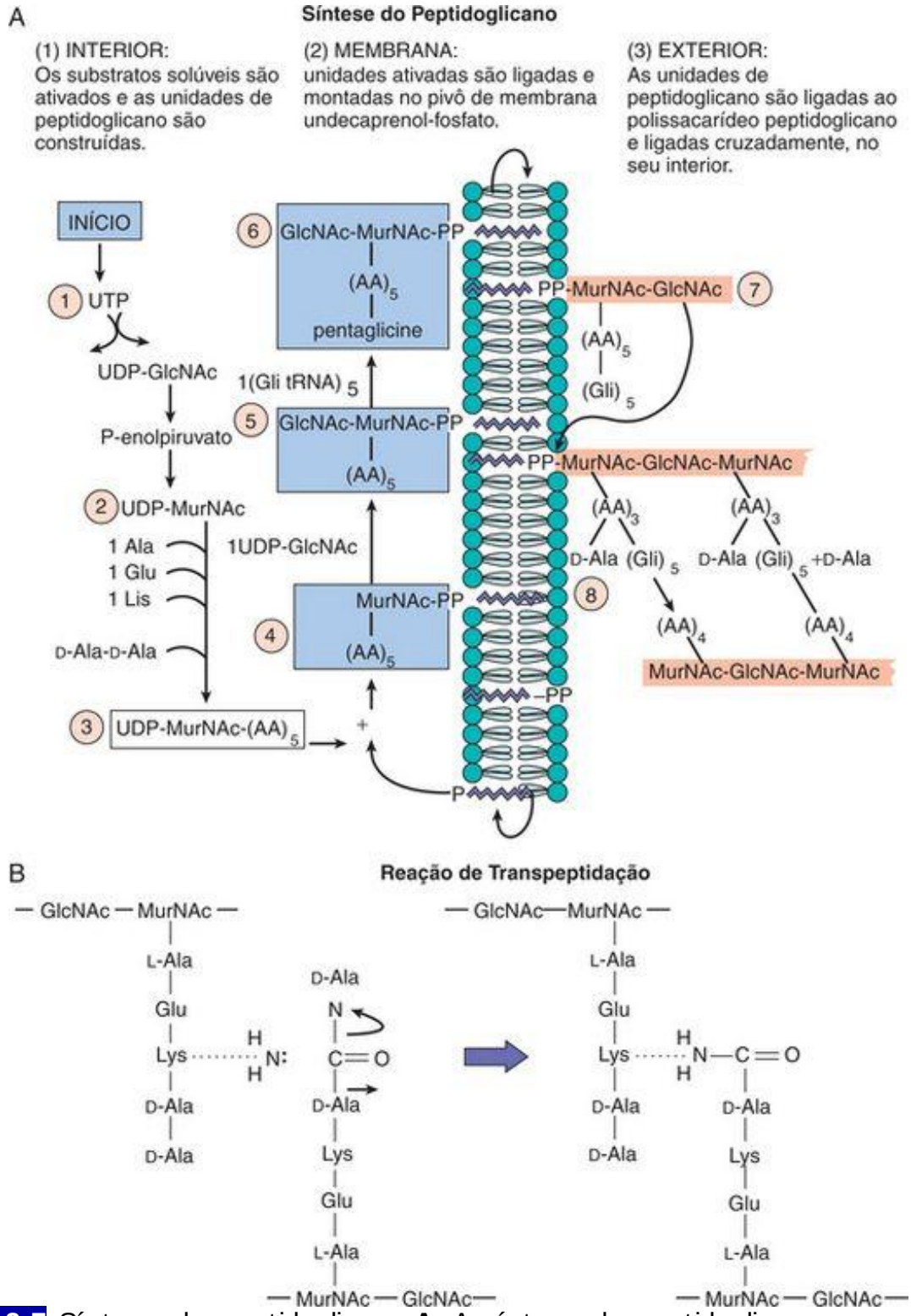


Figura 2-7 Síntese do peptidoglicano. **A**, A síntese do peptidoglicano ocorre em três fases: (1) O peptidoglicano é sintetizado a partir de unidades pré-fabricadas construídas e ativadas para o montagem e transporte no interior da célula; (2) Na membrana as unidades são montadas na esteira transportadora que é o undecaprenol-fosfato e a construção é

completada; (3) As unidades são translocadas para o exterior da célula onde são ligadas à cadeia de polissacarídeo e o peptídeo é ligado cruzadamente para terminar a construção. *S. aureus* utiliza uma ponte de pentaglicina na ligação cruzada. Tal construção pode ser comparada a uma montagem de uma estação espacial. **B**, A reação de ligação cruzada é uma transpeptidação. *E. coli* utiliza uma ligação direta entre D-alanina e lisina. Uma ligação peptídica (produzida no interior da célula) é "negociada" por outra (fora da célula) com a liberação de D-alanina. As enzimas que catalisam a reação são chamadas de *transpeptidases-carbopeptidases D-alanina, D-alanina*. Estas enzimas são alvos dos antibióticos β-lactâmicos e são chamadas de proteínas ligadoras de penicilina.

(© American Society for Clinical Pathologists. Reimpressa com permissão.)

Terceira, o UDP-MurNAc-pentapeptídeo é ligado ao **bactoprenol** (esteira transportadora) na membrana citoplasmática através de ligação pirofosfato que libera a uridina monofosfato (UMP). O GlcNAc é adicionado na produção do dissacarídeo, bloco de construção do peptidoglicano. Algumas bactérias (p. ex., *S. aureus*) adicionam a pentaglicina, ou uma outra cadeia ao ácido diaminado, na terceira posição da cadeia peptídica, para aumentar a ligação cruzada. Quarta, a molécula de bactoprenol transloca o dissacarídeo:peptídeo precursor para fora da célula. O dissacarídeo GlcNAc-MurNac é, então, ligado à cadeia de peptidoglicano, utilizando a ligação pirofosfato entre este e o bactoprenol como energia para promover a reação por enzimas denominadas de **transglicosilases**. O pirofostato-bactoprenol é reconvertido em fosfobactoprenol e reciclado. A **bacitracina** bloqueia a reciclagem. Quinta, fora da célula, mas próximo à membrana, cadeias de peptídeos de glicanos adjacentes são ligadas cruzadamente, uma à outra, pela troca de uma ligação peptídica (**transpeptidação**) entre a amina livre do aminoácido na terceira posição do pentapeptídeo (p. ex., lisina), ou o N terminal da cadeia ligada de pentaglicina, e a D-alanina na quarta posição de uma outra cadeia peptídica, liberando a D-alanina terminal do precursor. Esta etapa exige energia adicional porque a ligação peptídica tem que ser "negociada".

A reação de ligações cruzadas é catalizadas por **transpeptidases** ligadas à membrana. Enzimas relacionadas, DD-**carboxipeptidases** removem D-alaninas que não reagiram para limitar a extensão das ligações cruzadas. As transpeptidases e as carboxipeptidases são chamadas de **proteínas ligadoras de penicilina (PBPs)**, porque estas são alvos para penicilina e para outros antibióticos β-lactâmicos. A *penicilina* e outros **antibióticos β-lactâmicos** têm uma conformação semelhante ao "estado de transição" do substrato D-ALA-D-ALA quando ligado a essas enzimas. A **vancomicina** se liga à estrutura D-ALA-D-ALA bloqueando estas reações. Diferentes PBPs são utilizadas para estender o emaranhado de peptidoglicano (forma celular). A extensão do peptidoglicano e a ligações cruzadas são necessárias para o crescimento e divisão celulares.

O peptidoglicano está constantemente sendo sintetizado e degradado. As **autolosinas** como a lisozima são importantes para a determinação da forma bacteriana. A inibição da síntese ou das ligações cruzadas do peptidoglicano não interrompe a autólise e seu efeito enfraquece o emaranhado e leva a célula à lise e à morte. A síntese de novos peptidoglicanos não ocorre durante condições de privação o que leva ao enfraquecimento do peptidoglicano e à perda da utilidade da coloração de Gram.

O entendimento da biossíntese do peptidoglicano é essencial em Medicina porque estas reações são peculiares às células bacterianas e podem ser inibidas com pouco ou nenhum efeito adverso às células do hospedeiro (humano). Como indicado acima, vários antibacterianos atingem uma ou mais etapas desta via (Cap. 20).

Ácido Teicoico

O s **ácidos teicoico** e **lipoteicoico** são polímeros de ribose ou glicerol quimicamente modificados, conectados por fosfatos (Fig. 2-8). Açúcares, colina ou D-alanina podem ser ligados às hidroxilas da ribose ou do glicerol, provendo-os de determinantes antigênicos. Estes podem ser discriminados por anticorpos e podem determinar o sorotipo bacteriano. O ácido lipoteicoico contém um ácido graxo e é ancorado na membrana. O ácido teicoico é sintetizado a partir de blocos de construção se utilizando o bactoprenol de uma forma similar àquela para o peptidoglicano. O ácido teicoico e algumas **proteínas de superfície** (p. ex., Proteína A de *S. aureus*) são secretados pela célula e são ligados enzimaticamente ao N-terminal do peptídio do peptidoglicano.

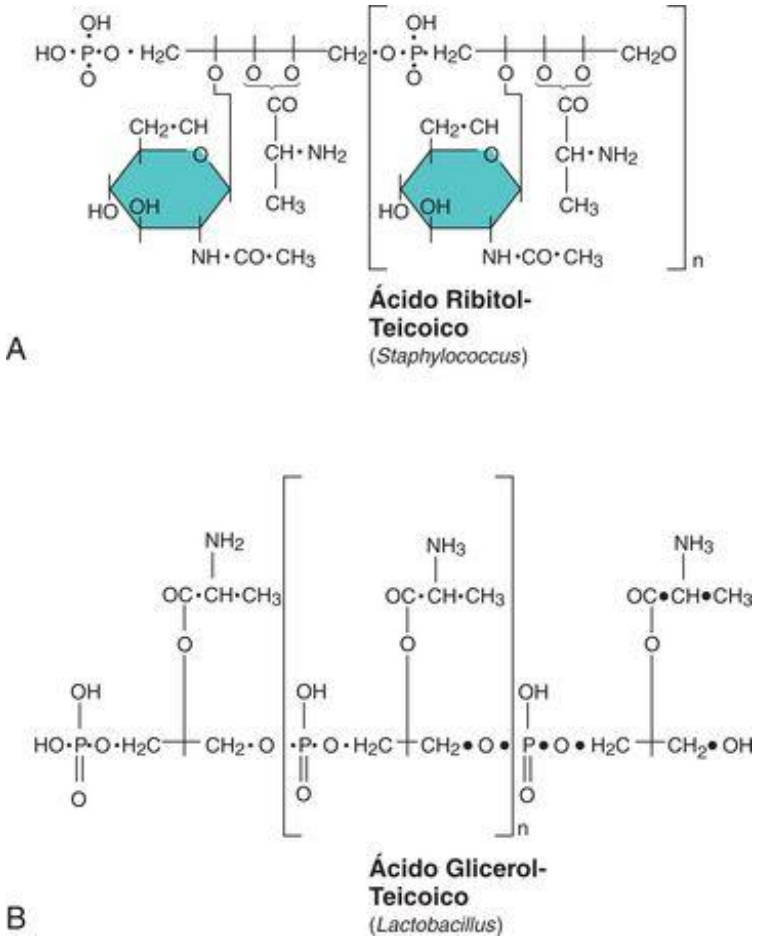


Figura 2-8 Ácido teicoico. O ácido teicoico é um polímero de ribitol quimicamente modificado (**A**) ou de glicerol fosfato (**B**). A natureza da modificação (p. ex., açúcar, aminoácido) pode determinar o sorotipo da bactéria. O ácido teicoico pode ser ligado covalentemente ao peptidoglicano. O ácido lipoteicoico é ancorado na membrana citoplasmática por um ácido graxo ligado covalentemente.

Lipopolissacarídeo

O **LPS (endotoxina)** *é constituído por três partes estruturais: Lipídio A, cerne polissacarídico (cerne rugoso) e antígeno O* (Fig. 2-9). O lipídio A é um componente fundamental do LPS e é essencial para a viabilidade bacteriana. *O lipídio A é responsável pela atividade de endotoxina do LPS*. Este tem um arcabouço de glicosamina dissacarídeo fosforilado com ácidos graxos ligados para ancorar a estrutura por toda a membrana externa. Os fosfatos conectam as unidades de LPS dentro de agregados. Uma cadeia de carboidrato é ligada a cada dissacarídeo do arcabouço e se estende para fora da bactéria. O cerne polissacarídico é um polissacarídeo ramificado de 9 a 12 açúcares. A maior parte da região do cerne é fosforilada e contém um açúcar incomum, o 2-ceto-3-desoxi-octanato (KDO). Cátions divalentes ligam os fosfatos do LPS e do cerne, fortalecendo a membrana externa. O antígeno O é ligado ao cerne e se estende à distância da bactéria. É um polissacarídeo longo, linear, constituído de 50 a 100 unidades repetidas, de 4 a 7 açúcares cada unidade. O lipo-oligossacarídeo, que está presente em espécies de *Neisseria*, não contém a porção de LPS no antígeno O e é prontamente dispersado da bactéria. O antígeno O mais curto torna a *Neisseria* mais suscetível ao controle do hospedeiro por meio do complemento.

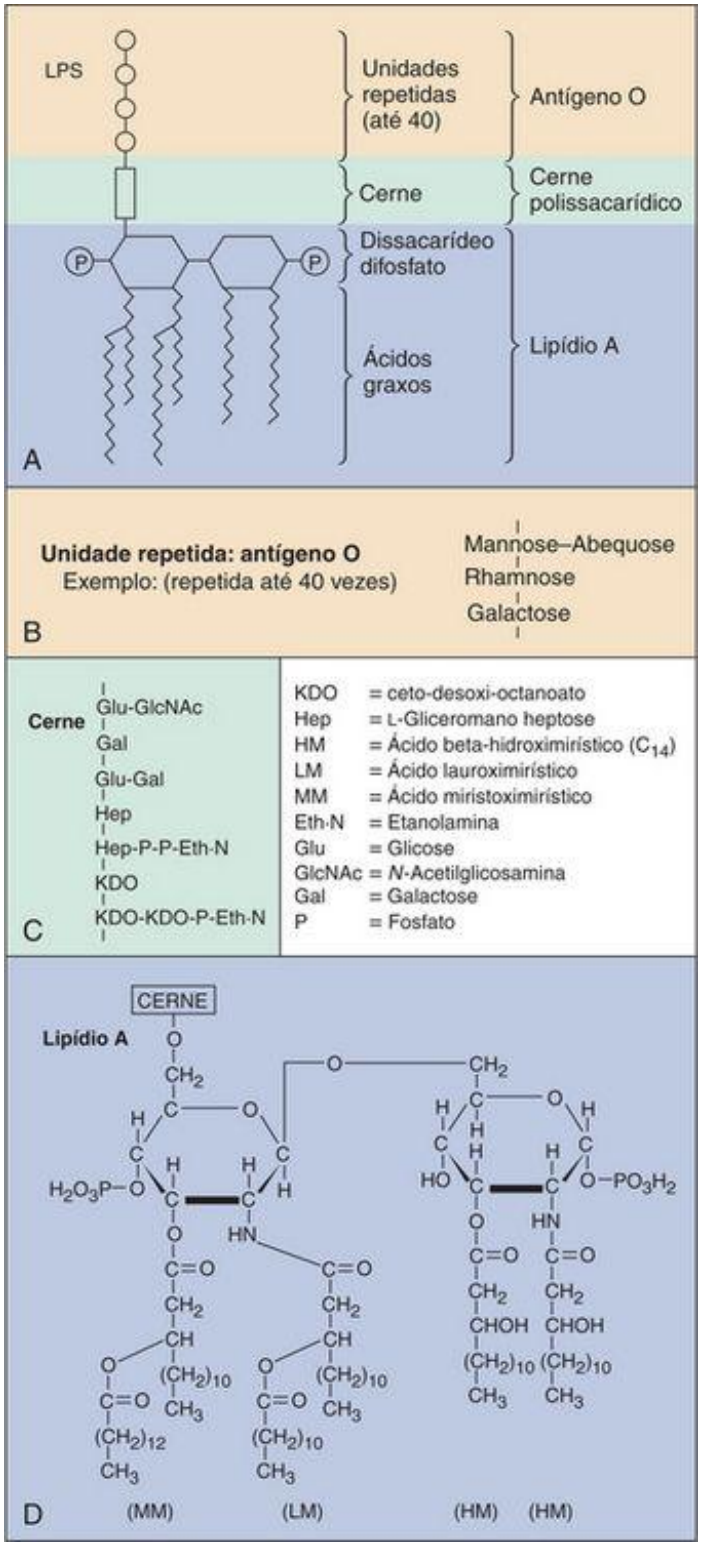


Figura 2-9 O lipopolissacarídeo do envoltório da célula Gram negativa. **A**, O segmento de um polímero mostrando o arranjo dos principais componentes. Cada molécula de LPS tem um Lipídio A e uma unidade central, mas muitas repetições do antígeno O. **B**, A estrutura do Lipídio A de *Salmonella typhimurium*. **C**, Polissacarídeo central ou cerne polissacarídico. **D**, Unidades repetitivas típicas de antígeno O (*S. typhimurium*).

(Redesenhado a partir de Brooks GF, Butel JS, Omston LN: Jawetz Melnick and Aldenbergs Medical Microbiology, 19 th ed. Norwalk, Conn, Appleton & Lange, 1991.)

A estrutura do LPS é empregada para classificar as bactérias. A estrutura básica do lipídio A é idêntica para bactérias com relação genética e é similar para todas as ***Enterobacteriaceae*** que são Gram negativas. A região do cerne é a mesma para uma espécie de bactéria. O antígeno O diferencia os sorotipos (cepas) de uma espécie bacteriana. Por exemplo, o sorotipo O157:H7 identifica a *E. coli* agente da síndrome hemolítica urêmica.

O lipídio A e as partes do cerne são sintetizadas enzimaticamente de forma sequencial na face interna da membrana citoplasmática. As unidades repetidas do antígeno O são

montadas sobre a molécula de bactoprenol e, depois, transferidas para uma cadeia de antígeno O em crescimento. A cadeia de antígeno O completa é transferida para a estrutura do lipídio A no cerne. A molécula de LPS é translocada por meio de sítios de adesão para a face exterior da membrana externa.

Divisão Celular

A duplicação do cromossomo bacteriano dispara a iniciação da divisão celular (Fig. 2-10). A produção de duas células-filhas requer o crescimento e a extensão dos componentes da parede celular, seguido pela produção do septo (parede transversa) para dividir a célula-mãe em duas células. O septo é constituído por duas membranas separadas por duas camadas de peptidoglicano. A formação do septo é iniciada no meio da célula, em um sítio definido por complexos de proteínas fixadas a uma proteína circular filamentosa que reveste a face interna da membrana citoplasmática. O septo cresce a partir de lados opostos em direção ao centro da célula determinando a separação das células-filhas. Este processo depende de transpeptidases especiais (PBPs) e de outras enzimas. Para estreptococos, a zona de crescimento é localizada a 180 graus, uma da outra, produzindo cadeias lineares de bactérias. Em contraste, a zona de crescimento dos estafilococos está a 90 graus. A quebra incompleta do septo pode determinar que as bactérias permaneçam ligadas, formando cadeias (p. ex., estreptococos) ou cachos (p. ex., estafilococos).

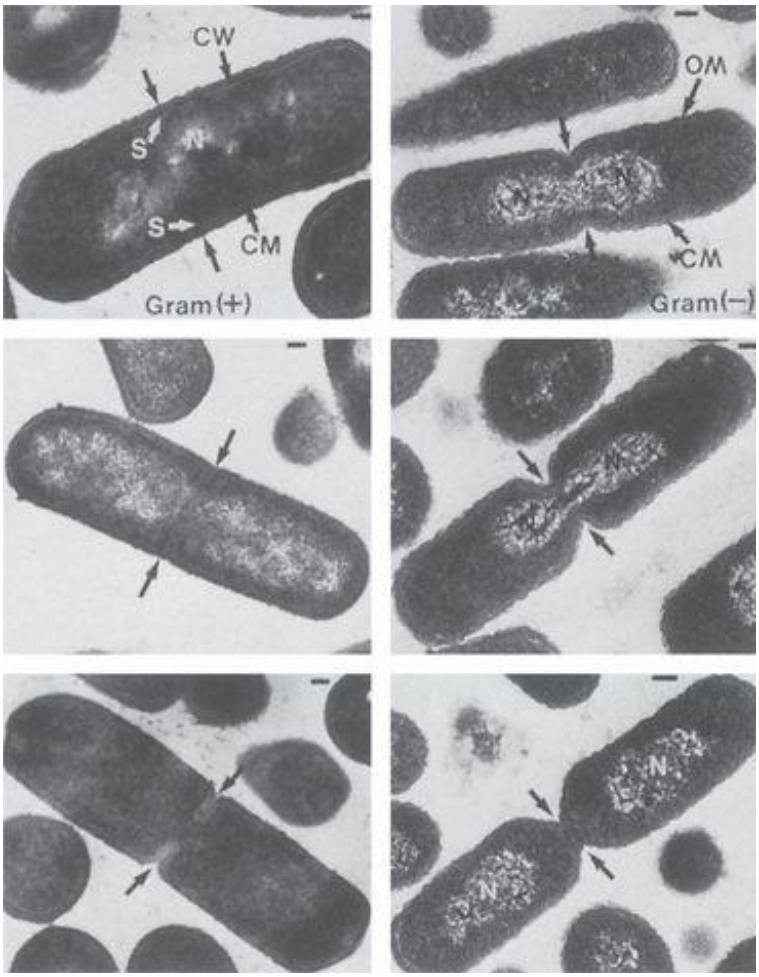


Figura 2-10 Eletrofotomicrografias da divisão de célula Gram positiva (*Bacillus subtilis*) (*esquerda*) e divisão de célula Gram negativa (*Escherichia coli*) (*direita*). Progressão da divisão celular de cima para baixo. CM, membrana citoplasmática; CW, parede celular, N, nucleoide; OM, membrana externa; S, septo. Bar = 0,2µm.

(A partir de Slats J, Taubman MA: Contemporary Oral Biology and Immunology. St Louis, Mosby, 1992.)

Esporos

Algumas bactérias Gram positivas, mas nunca bactérias Gram negativas, como o gênero *Bacillus* (p. ex., *Bacillus anthracis*) e *Clostridium* (p. ex., *Clostridium tetani* ou *botulinum*) (bactérias do solo), são produtoras de esporos. Sob condições ambientais inóspitas, como a privação nutricional, essas bactérias podem se converter do **estado vegetativo** para o **estado de dormência** ou **esporo**. A localização do esporo dentro da célula é característica das bactérias e pode ser útil na sua identificação.

O esporo é uma estrutura de múltiplas capas, desidratada que protege e permite que a bactéria exista em "estado de animação suspenso" (Fig. 2-11). Este contém uma cópia completa do cromossomo, as concentrações mínimas essenciais de proteínas e ribossomos e uma alta concentração de **cálcio ligado a ácido dipicolínico**. O esporo tem 1 membrana interna, 2 camadas de peptidoglicano e 1 revestimento proteico externo semelhante à queratina. O esporo parece refrator (brilhante) à microscopia. A estrutura do esporo protege o DNA genômico do calor intenso, radiação, e do ataque por muitas enzimas e agentes químicos. De fato, os esporos são tão resistentes a fatores ambientais que estes podem existir por séculos como esporos viáveis. É, também, difícil a descontaminação de esporos com o uso de desinfetantes padrão.

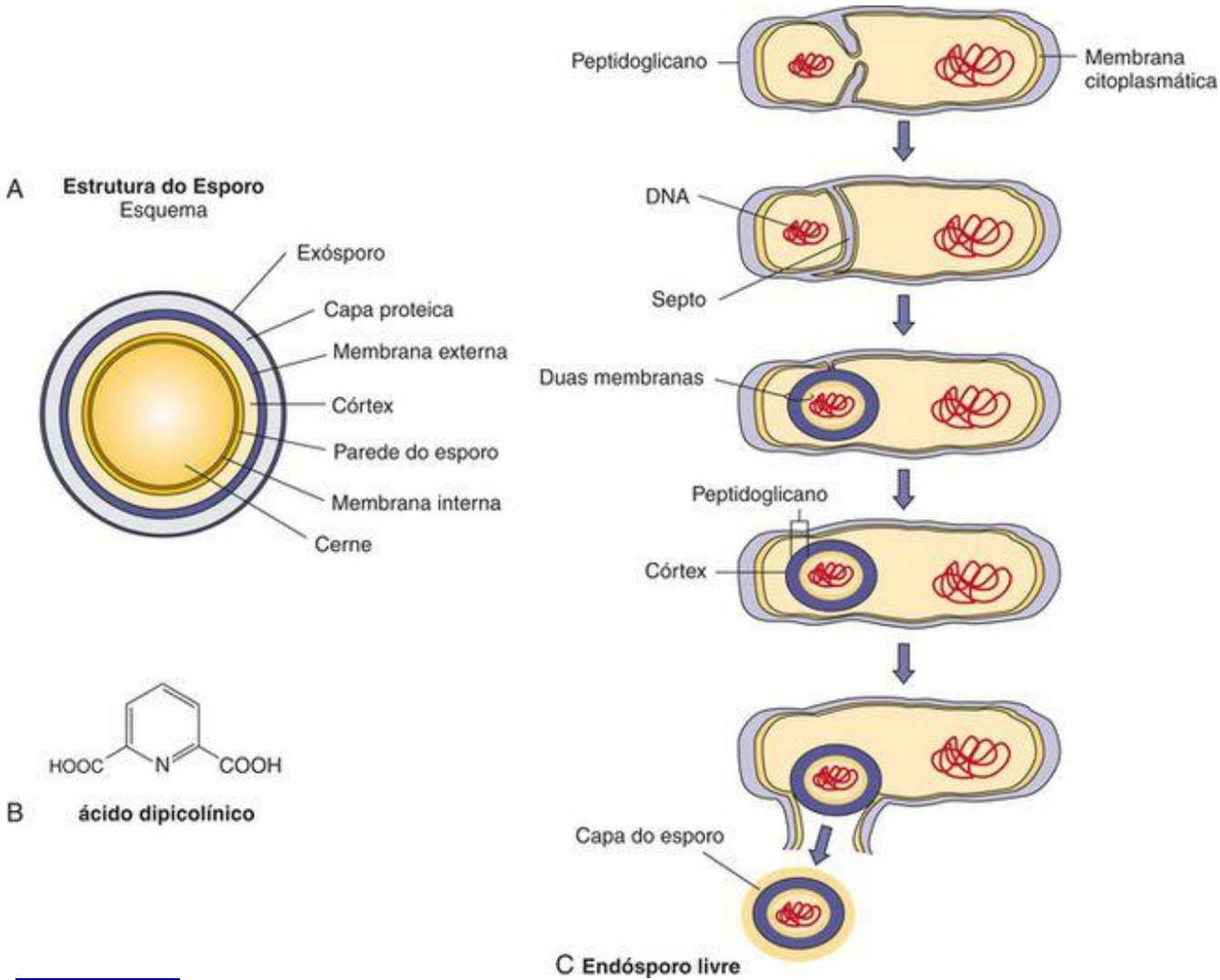


Figura 2-11 **A**, Estrutura de um esporo. **B**, As altas concentrações de ácido dipicolínico, no esporo, ligam cálcio e estabilizam seus conteúdos. **C**, Esporogênese, o processo da formação de endósporo.

A depleção de nutrientes específicos (p. ex., a alanina) do meio de cultura dispara uma cascata de eventos genéticos (comparáveis à diferenciação celular) determinando a produção de esporos. Os mRNA de esporo são transcritos e a transcrição dos outros é interrompida. O ácido dipicolínico é produzido e antibióticos e toxinas são frequentemente secretadas. Após a duplicação do cromossomo, uma cópia do DNA e conteúdo citoplasmático (**cerne**) são circundados pela membrana citoplasmática, pelo peptidoglicano e pela membrana do septo. Isto envolve o DNA nas duas camadas de membrana e no peptidoglicano que, normalmente, dividiriam a célula. Essas duas camadas são sobrepostas pelo **córtex** que é feito a partir de uma fina camada interna de um peptidoglicano estreitado por ligações cruzadas se sobrepondo a uma membrana (que habitualmente é a membrana citoplasmática) e uma frouxa camada externa de peptidoglicano. O córtex é sobreposto pelo suposto **revestimento proteico semelhante à queratina** que protege o esporo. Este processo requer 6 a 8 horas para ser concluído.

A germinação dos esporos para o estado vegetativo é estimulada pela ruptura do revestimento externo por estresse mecânico, pH, calor ou outro estressor e requer água e um nutriente desencadeador (p. ex., a alanina). O processo dura aproximadamente 90 minutos. Depois que o processo de germinação começa, o esporo absorverá água, inchará, dispersará seus envoltórios e produzirá uma nova célula vegetativa idêntica à célula vegetativa original, completando-se o ciclo inteiro. Uma vez iniciada a germinação o revestimento do esporo fica comprometido, o esporo é enfraquecido e pode ser inativado como outras bactérias.

Questões

1. Como cada uma das diferenças entre procariontes e eucariontes influencia a infecção bacteriana e seu tratamento (Tab. 2-1)?

1. Tamanho: como os procariontes têm tamanho muito menor, eles têm capacidade de penetrar em espaços muito pequenos. Isto também significa que as células dos procariontes têm um cromossomo muito menor que as células dos eucariontes.

Estrutura nuclear: devido a não existir membrana nuclear nos procariontes, os processos de replicação, transcrição e translação ocorrem conjuntamente. Inibição de algum destes processos de forma individual afeta todos os outros processos de forma significativa.

Cromossomo: o cromossomo bacteriano se constitui de um genoma circular único. Devido à estrutura circular do cromossomo, as topoisomerases são enzimas muito importantes na redução do estresse molecular para que suas funções sejam mantidas. Como resultado, estas enzimas (topoisomerases) são excelentes alvos moleculares para a ação de drogas antibacterianas, como, por exemplo, as quinolonas. Como existe apenas uma cópia de cada gene (genoma haploide) nos procariontes, ao invés de genomas diploides, uma única mutação irá inativar a função proteica, pois não existe “cópia de reserva”.

Estruturas citoplasmáticas: procariontes não possuem organelas como nos eucariontes, mas isso não influencia significativamente nos processos de infecção e tratamento.

Ribossomas: a estrutura 70S (50S + 30S) do ribossomo dos procariontes possibilita que seja um excelente alvo para drogas antibacterianas devido ao fato de que estas moléculas diferem significativamente da estrutura 80S dos ribossomos das células eucariontes.

Membrana citoplasmática: a membrana dos procariontes contém diferentes fosfolipídios, o que as torna mais suscetíveis à ação das polimixinas.

Parede celular: a célula bacteriana é uma estrutura complexa que contém proteínas, lipídios e peptidoglicano (estrutura exclusiva da célula bacteriana). A parede celular funciona como uma barreira osmótica permitindo que a bactéria sobreviva em água destilada; ela contém estruturas que promovem a interação com tecidos e outras células do hospedeiro, o

que determina os tipos de doenças infecciosas causadas pelas bactérias; as enzimas que sintetizam a parede celular são exclusivas de células bacterianas o que as torna um excelente alvo para drogas antibacterianas (beta-lactmâmicos, vancomicina e bacitracina). Os pili (ou fímbrias) são estruturas muito importantes no processo de adesão, pois permitem que as bactérias se liguem e se mantenham unidas a determinadas estruturas do corpo humano (como, p. ex., na bexiga).

2. Como as diferenças entre paredes celulares de Gram positivas e Gram negativas influenciam o comportamento clínico das células, a detecção e o tratamento?

2. A espessura da parede celular de bactérias Gram positivas facilita sua identificação na coloração de Gram, pois retém o corante principal (violeta de genciana) em contraste com as bactérias Gram negativas, que possuem uma estrutura mais simples e delgada de peptidoglicano, as quais não têm a capacidade de reter o corante principal durante o processo de lavagem e necessitam de um contracorante (corante de fundo) para serem visualizadas. O LPS na membrana externa é a estrutura ativadora mais potente das respostas imune e inata, podendo induzir à febre e sepse. Bactérias Gram negativas têm maior potencial de induzir febre e sepse. A presença da membrana externa em bactérias Gram negativas funciona como uma barreira importante contra a ação do complemento e entrada de moléculas grandes e hidrofóbicas, incluindo algumas drogas antibacterianas, evitando acesso ao peptidoglicano e outras estruturas internas.

3. Liste os componentes da parede celular que contribuem para a virulência, protegendo a bactéria das respostas imunológicas. Liste aqueles que contribuem para elucidar a virulência da resposta tóxica no hospedeiro humano.

3. **Proteção contra a resposta imune:**

LPS funciona como estrutura protetora contra a ação do complemento.

Cápsulas protegem contra a ação de anticorpos, complemento e fagocitose.

Proteínas podem inibir funções específicas, por exemplo, a proteína A de estafilococos liga-se à porção Fc das IgG; a proteína M de estreptococos é antifagocítica.

Proteção contra as respostas tóxicas:

O LPS possui atividade de endotoxina e é um potente ativador de receptores como o “Toll Like”

Outros componentes da parede celular como o ácido teicoico e o peptidoglicano também são ativadores, embora fracos, de receptores “Toll Like”.

4. Quando a síntese de peptidoglicano é inibida, que processos matam a bactéria? Liste os precursores que podem ser construídos dentro da bactéria se a reciclagem do bactoprenol fosse inibida por penicilina, vancomicina ou bacitracina.

4. A inibição da produção de peptidoglicano evita a síntese da parede celular e o crescimento bacteriano. O peptidoglicano é constantemente degradado, ressintetizado e formatado. A inibição da síntese de peptidoglicano fará com que a constante degradação do mesmo, numa CÉLULA EM CRESCIMENTO, torne-o frágil, o que levará a célula à lise.

Devido à inibição da síntese e extensão do peptidoglicano (por antibióticos beta-lactâmicos, vancomicina ou bacitracina), o pentapeptídio N-acetil-glicosamina/N-acetil-murâmico (NAG-NAM), molécula precursora do peptidoglicano com um terminal D-ala-D-ala, se acumulará no citoplasma, pois a cadeia não sofrerá extensão. A translocação do bactoprenol também é inibida.

5. Por que os esporos são mais resistentes aos estresses ambientais?

5. Esporos são mais resistentes, porque são células dormentes (ou seja, não estão em fase de crescimento), estão dessecados e cobertos com múltiplas camadas de estruturas tipo peptidoglicano, bem como com uma cobertura externa tipo queratina.

6. O laboratório gostaria de eliminar seletivamente bactérias Gram positivas de uma mistura de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Quais dos procedimentos poderiam ser mais apropriados e por que ou por que não?

a. Tratamento com ácido etilenodiaminatetracético (um quelante de cátions divalentes)

b. Tratamento com um detergente fraco

c. Tratamento com lisozima

d. Tratamento com transpeptidase

e. Tratamento com ampicilina (um antibiótico β-lactâmico hidrofílico)
6.

a. O EDTA irá desestabilizar a membrana externa das bactérias Gram negativas mas tem efeito mínimo em bactérias Gram positivas.

b. Detergentes fracos irão afetar bactérias Gram positivas de forma mais significativa do que bactérias Gram negativas, visto que a membrana externa (que é exclusiva de Gram negativos) fornece uma etapa a mais de proteção.

c. Lisozima degrada o peptiglicano de bactérias Gram positivas causando lise quando em água; a membrana externa dos Gram negativos é uma barreira de proteção contra a ação da lisozima.

d. Transpeptidases não apresentam atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas.

e. Ampicilina inibe a síntese de peptidoglicano de ambas as bactérias Gram positivas e negativas, pois a mesma é capaz de atravessar os canais de porina da membrana externa das bactérias Gram negativas.

Bibliografia

Bower S, Rosenthal KS. Bacterial cell walls: The armor, artillery and Achilles heel. *Infect Dis Clin Practice*. 2006;14:309-317.

Daniel RA, Errington J. Control of cell morphogenesis in bacteria: Two distinct ways to make a rod-shaped cell. *Cell*. 2003;113:767-776.

Lutkenhaus J. The regulation of bacterial cell division: A time and place for it. *Curr Opin Microbiol*. 1998;1:210-215.
Meroueh SO, et al. Three-dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(12):4404-4409.
Nanninga N. Morphogenesis of Escherichia coli. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62:110-129.
Talaro K. Foundations inMicrobiology, 6th ed. NewYork: McGraw-Hill, 2008.
Willey J, Sherwood L, Woolverton C. Prescott/Harley/Klein's Microbiology, 7th ed. New York: McGraw-Hill, 2007.

3 Metabolismo e Genética Bacterianos

Metabolismo Bacteriano

Exigências Metabólicas

O crescimento bacteriano requer uma fonte de energia e a matéria-prima para a construção de proteínas, estruturas e membranas que compõem e fornecem energia às células. As bactérias precisam obter ou sintetizar aminoácidos, carboidratos e lipídios utilizáveis como blocos de construção celular.

A exigência mínima para o crescimento é uma fonte de carbono e nitrogênio, uma fonte de energia, água e vários íons. Os elementos essenciais incluem componentes de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (C, O, H, N, S, P), íons importantes (K, Na, Mg, Ca, Cl) e componentes de enzimas (Fe, Zn, Mn, Mo, Se, Co, Cu, Ni). O **ferro** é tão importante que muitas bactérias secretam proteínas especializadas (sideróforos) para concentrar ferro a partir de soluções diluídas e, por outro lado, nossos organismos sequestram ferro para reduzir sua disponibilidade, como um meio de proteção.

O oxigênio (gás O_2), embora seja essencial para o hospedeiro humano, é realmente um veneno para muitas bactérias. Alguns organismos como *Clostridium perfringens*, que causam a gangrena gasosa, não podem crescer na presença do oxigênio. Tais bactérias são considerados **anaeróbios obrigatórios**. Outros organismos como *Mycobacterium tuberculosis*, que causa a tuberculose, exigem a presença de oxigênio molecular para seu metabolismo e crescimento e são considerados **aeróbios obrigatórios**. A maioria das bactérias, no entanto, cresce tanto na presença como ausência de oxigênio. Estas bactérias são denominadas **anaeróbios facultativos**. As bactérias aeróbicas produzem as enzimas superóxido dismutase e catalase que podem desintoxicar o peróxido de hidrogênio e os radicais superóxidos que são subprodutos do metabolismo aeróbico.

As exigências para o crescimento e os subprodutos do metabolismo podem ser utilizados como meios adequados para a classificação de bactérias. Algumas bactérias, como certas cepas de *Escherichia coli* (um componente da flora intestinal), podem sintetizar aminoácidos, nucleotídeos, lipídios e carboidratos necessários para o crescimento e divisão celular, enquanto as exigências para o crescimento do agente causal da sífilis, o *Treponema pallidum*, são tão complexas que não se conseguiu, ainda, o desenvolvimento de um meio laboratorial definido capaz de permitir seu crescimento. As bactérias que dependem exclusivamente de substâncias químicas inorgânicas como suas fontes de energia e de carbono (CO_2) são consideradas autotróficas (litotróficas), enquanto muitas bactérias e animais que exigem fontes de carbono orgânicas são considerados heterotróficos (organotróficos). Os laboratórios de microbiologia clínica diferenciam as bactérias pela capacidade de as mesmas crescerem em fontes específicas de carbono (p. ex., lactose) e pelos seus produtos metabólicos finais (p. ex., etanol, ácido lático, ácido succínico).

Metabolismo, Energia e Biossíntese

Todas as células exigem um suprimento constante de energia para sobreviverem. Esta energia, normalmente na forma de trifosfato de adenosina (ATP), é obtida a partir da quebra controlada de vários substratos orgânicos (carboidratos, lipídios e proteínas). Este processo de quebra de substrato e conversão em energia utilizável é conhecido como **catabolismo**. A energia produzida pode, então, ser utilizada na síntese de componentes celulares (parede celular, proteínas, ácidos graxos e ácidos nucleicos), um processo conhecido como **anabolismo**. Estes dois processos, em conjunto, que são interrelacionados e estreitamente integrados, são considerados como o **metabolismo intermediário**.

O processo metabólico geralmente começa com a hidrólise de grandes macromoléculas no ambiente exterior à célula, por enzimas específicas (Fig. 3-1). As moléculas menores que são produzidas (p. ex., monossacarídeos, peptídeos curtos e ácidos graxos) são transportadas através da membrana para o citoplasma, por mecanismos de transporte ativos ou passivos, específicos para o metabólito. Estes mecanismos podem empregar carreadores ou proteínas transportadoras específicas para contribuir para a concentração de metabólitos provenientes do meio externo. Os metabólitos são convertidos por uma ou mais vias para um intermediário comum, universal, o **ácido pirúvico**. A partir do ácido pirúvico os carbonos podem ser conduzidos para a produção de energia ou para a síntese de novos carboidratos, aminoácidos, lipídios e ácidos nucleicos.

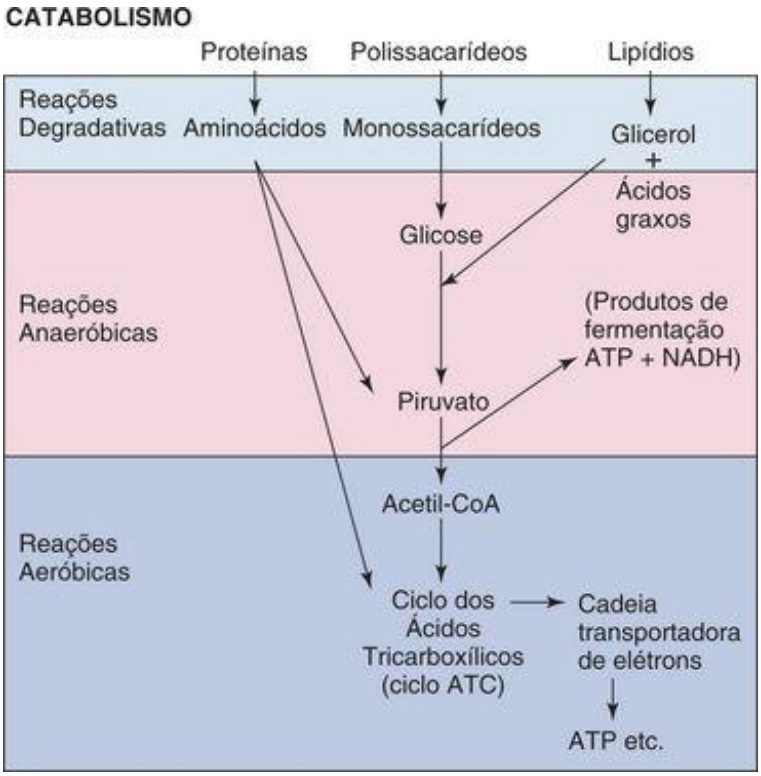


Figura 3-1 O catabolismo de proteínas, polissacarídeos e lipídios produz glicose, piruvato ou intermediários do ciclo de ácidos tricarboxílicos (ATC) e, finalmente, a energia na forma de adenosina trifosfato (ATP) ou de forma reduzida da nicotinamina adenina dinucleotídeo (NADH).

Metabolismo da Glicose

Visando a simplificação, esta seção apresenta uma visão geral das vias pelas quais a glicose é metabolizada para produzir energia ou outros substratos úteis. Ao invés de liberar

toda a energia das moléculas como calor (pela queima), as bactérias quebram a glicose em diferentes etapas para permitir que a energia seja captada em forma utilizável. *As bactérias podem produzir energia a partir da glicose por — e em ordem de aumento de eficiência — fermentação, respiração anaeróbica (ambas ocorrendo na ausência de oxigênio) ou por respiração aeróbica*. A respiração aeróbica pode converter completamente os seis carbonos da glicose em CO_2 e H_2O, mais energia, enquanto os produtos da fermentação são compostos de dois ou três carbonos. Para uma discussão mais completa sobre o metabolismo é conveniente consultar um livro-texto de bioquímica.

Via Embden-Meyerhof-Parnas

As bactérias utilizam três principais vias de catabolismo da glicose. A mais comum entre estas é a **glicolítica** ou via de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) (Fig. 3-2) para a conversão de glicose em piruvato. Estas reações que ocorrem tanto em condições **aeróbicas** quanto **anaeróbicas** começam com a ativação da glicose para a formação de glicose-6-fosfato. Esta reação, assim como a terceira reação da série, na qual a frutose-6-fosfato é convertida em frutose-1,6-difosfato, exige 1 mol de ATP por mol de glicose e representa um investimento inicial das reservas de energia da célula.

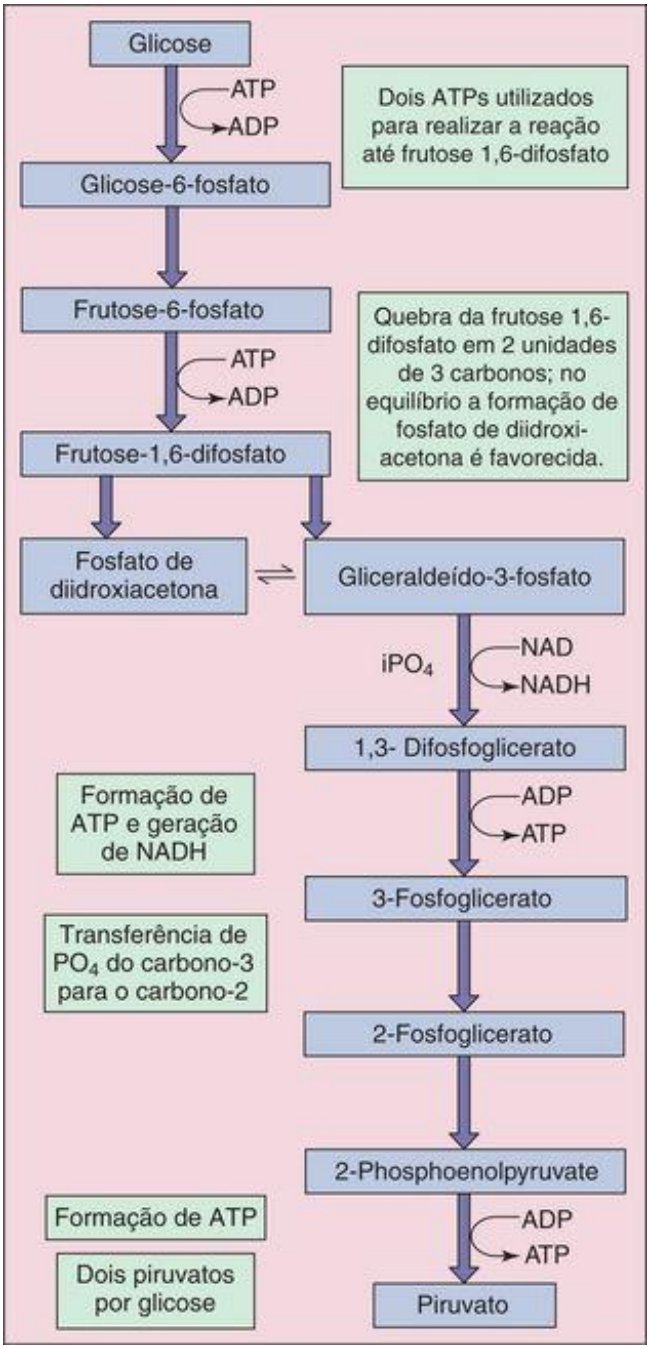


Figura 3-2 Via glicolítica de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) determina a conversão da glicose em piruvato. ADP, difosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina; PO_4i, fosfato inorgânico; NAD, nicotinamida-dinucleotídeo de adenina; NADH, forma reduzida de NAD.

A energia é produzida durante a glicólise por duas formas diferentes, química e eletroquímica. Na primeira, os grupos de fosfato de alta energia de um dos intermediários na via são utilizados sob a direção de uma enzima apropriada (uma **quinase**) para gerar **ATP** a partir da adenosina difosfato (ADP). Este tipo de reação, denominado **fosforilação ao nível de substrato**, ocorre em dois pontos diferentes da via glicolítica (*i.e.*, conversão de 3-fosfoglicerol fosfato para 3-fosfoglicerato e do ácido enolpirúvico-2-fosfato para piruvato). São produzidas, desta forma, quatro moléculas de ATP por molécula de glicose, mas duas moléculas de ATP foram utilizadas na conversão glicolítica inicial da glicose em duas moléculas de ácido pirúvico, resultando em uma produção líquida de duas moléculas de ATP. A forma reduzida de **nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH)** que é produzida representa a segunda forma de energia que pode, então, ser convertida em ATP por uma série de reações de oxidação.

Na ausência de oxigênio, a fosforilação ao nível de substrato representa o modo fundamental de produção de energia. O ácido pirúvico produzido pela glicólise é convertido a vários produtos finais, dependendo das espécies bacterianas, em um processo conhecido

como **fermentação**. Muitas bactérias são identificadas com base em seus produtos finais da fermentação (Fig. 3-3). Estas moléculas orgânicas são utilizadas como aceptores de elétrons, ao invés do oxigênio, para a reciclagem do NADH, que foi produzido durante a glicólise, em NAD. Em leveduras, o metabolismo fermentativo resulta na conversão do piruvato em etanol mais dióxido de carbono. A fermentação alcoólica não é comum em bactérias que mais frequentemente utilizam a conversão em uma etapa do ácido pirúvico em ácido lático. Este processo é responsável pela conversão de leite em iogurte e de repolho em chucrute. Outras bactérias utilizam vias fermentativas mais complexas, produzindo vários ácidos, álcoois e, frequentemente, gases (vários com odores desagradáveis). Estes produtos conferem sabor a vários queijos e vinhos e odores a feridas e a outras infecções.

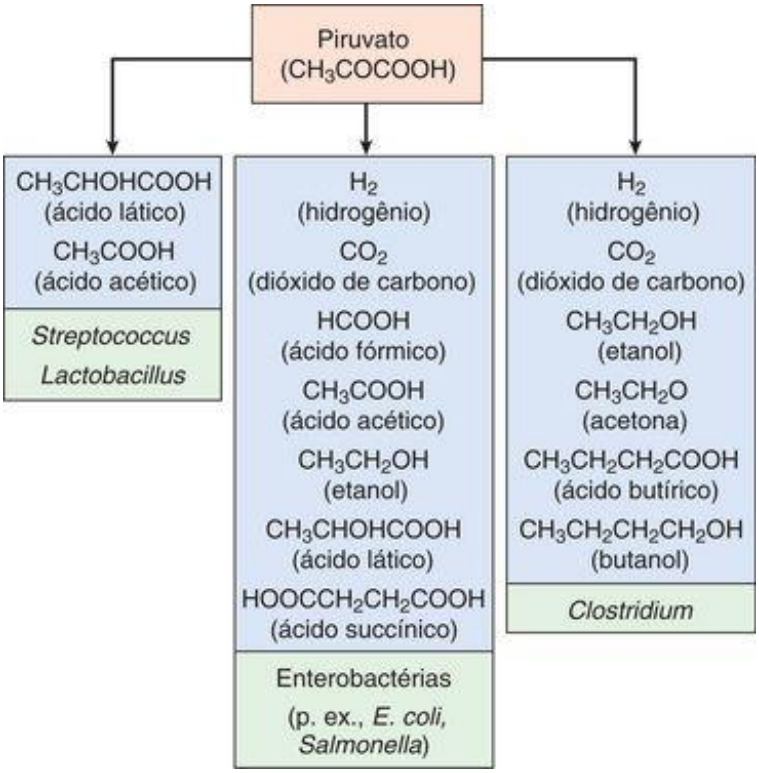


Figura 3-3 Fermentação do piruvato por diversos microrganismos resulta em diferentes produtos finais. O laboratório clínico utiliza essas vias e produtos finais como meios de distinguir diferentes bactérias.

Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos

Na presença de oxigênio, o ácido pirúvico produzido pela glicólise e a partir do metabolismo de outros substratos pode ser completamente oxidado (queima controlada) a água e CO_2, utilizando o ciclo de ácidos tricarboxílicos (ATC) (Fig. 3-4), que resulta na produção de energia adicional. O processo começa com a descarboxilação oxidativa (liberação de CO_2) do piruvato para o intermediário de alta energia, acetilcoenzima A (acetil-CoA); esta reação também produz duas moléculas de NADH. Os dois carbonos restantes, derivados do piruvato, entram no ciclo ATC na forma de acetil-CoA pela condensação com oxaloacetato, com a formação de molécula de citrato com seis carbonos. Em uma série de reações oxidativas em escala, o citrato é reconvertido em oxaloacetato. A produção teórica para cada piruvato é de 2 moles de CO_2, 3 moles de NADH, 1 mol de flavina adenina dinucleotídeo ($FADH_2$) e 1 mol de guanosina trifosfato (GTP).

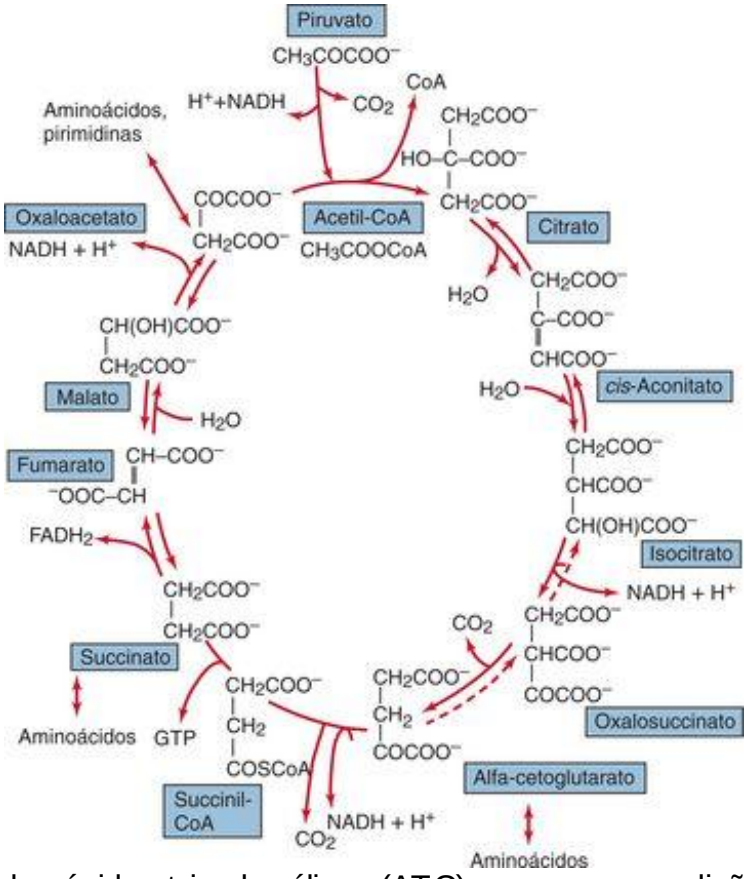


Figura 3-4 O ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ATC) ocorre em condições aeróbicas e é um ciclo anfibólico. São também mostrados os precursores para a síntese de aminoácidos e de nucleotídeos. CoA, coenzime A; FADH2, flavin adenine dinucleotide; GTP, guanosine triphosphate.

O ciclo ATC permite ao organismo gerar substancialmente mais energia por mol de glicose do que simplesmente pela glicólise. Em adição ao GTP (um equivalente de ATP) produzido por fosforilação ao nível de substrato, o NADH e o $FADH_2$ produzem ATP a partir de uma cadeia de transporte de elétrons. Nesta cadeia os elétrons transportados pelo NADH (ou $FADH_2$) são transferidos gradualmente através de uma série de pares doadores-aceptores e, finalmente, ao oxigênio (**respiração aeróbica**) ou outro aceptor terminal de elétrons (nitrato, sulfato, dióxido de carbono, íon férrico) (**respiração anaeróbica**).

Os organismos anaeróbicos são menos eficientes na produção de energia do que os organismos aeróbicos. A fermentação produz somente duas moléculas de ATP por glicose, enquanto o metabolismo aeróbico com transporte de elétrons e com um ciclo ATC completo pode chegar a gerar 19 vezes mais energia (38 moléculas de ATP) a partir do mesmo material inicial (e com um odor muito menos desagradável) (Fig. 3-5). A respiração anaeróbica utiliza moléculas orgânicas como aceptores de elétrons o que produz menos ATP por cada NADH.

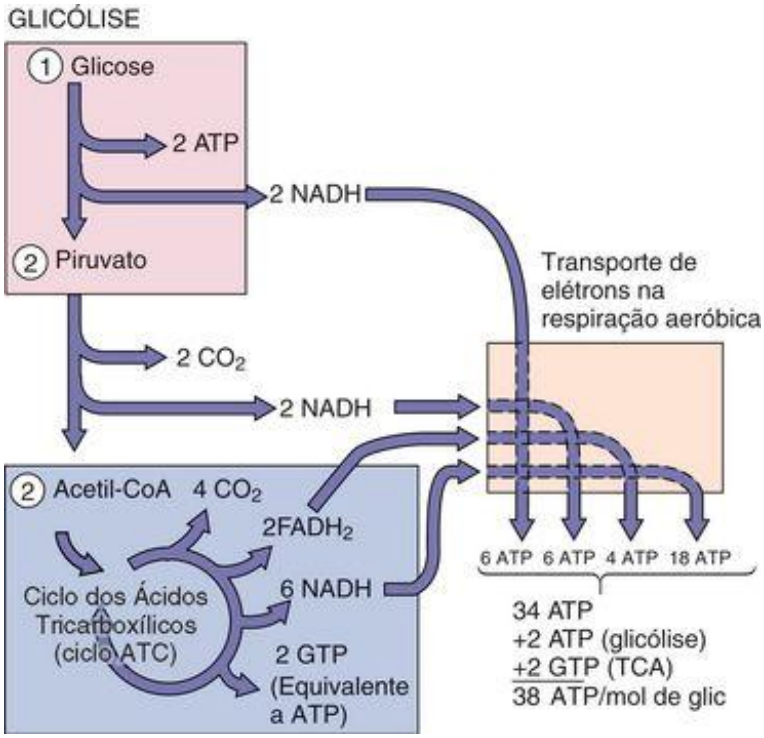


Figura 3-5 Metabolismo aeróbico da glicose. A quantidade teórica máxima de ATP obtida a partir de uma molécula de glicose é 38, mas a produção real depende do organismo e de outras condições.

Além da eficiente geração de ATP a partir da glicose (e de outros carboidratos) o ciclo ATC fornece um meio a partir do qual os carbonos derivados de **lipídios** (na forma de acetil-CoA) podem ser desviados tanto para a produção de energia quanto para a geração de precursores biossintéticos. De forma similar, o ciclo inclui vários pontos em que **aminoácidos desaminados** podem entrar (Fig. 3-4). Por exemplo, a desaminação do ácido glutâmico produz α-cetoglutarato, enquanto a desaminação do ácido aspártico produz oxaloacetato, ambos são intermediários do ciclo ATC. O ciclo ATC desta forma desempenha as seguintes funções:

1. É o mais eficiente mecanismo de geração de ATP.

2. Funciona como uma via comum para a oxidação completa de aminoácidos, ácidos graxos e carboidratos.

3. Fornece produtos intermediários-chave (*i.e.*, α-cetoglutarato, piruvato, oxaloacetato) para a síntese final de aminoácidos, lipídios, purinas e pirimidinas.

As duas últimas funções realizadas pelo ciclo ATC o torna um **ciclo anfibólico** (*i.e.*, pode atuar nas funções anabólicas e catabólicas da célula).

Via da Pentose Fosfato

Aqui consideramos a via final de metabolismo da glicose conhecida como **via da pentose-fosfato** ou o **desvio da hexose-monofosfato**. A função desta via é fornecer precursores de ácidos nucleicos e poder redutor na forma de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato **(NADPH)** para ser utilizada na biossíntese. Na primeira metade da via, a glicose é convertida em ribulose-5-fosfato com o consumo de 1 mol de ATP e a geração de 2 moles de NADPH por mol de glicose. A ribulose-5-fosfato pode ser convertida em ribose-5-fosfato (um precursor da biossíntese de nucleotídeos) ou, alternativamente, em xilulose-5-fosfato. As reações restantes na via empregam enzimas conhecidas como **transcetolases** e **transaldolases** para gerar vários açúcares que podem funcionar como precursores biossintéticos ou podem ser desviados retrogradamente para a via glicolítica no uso em geração de energia.

Genes Bacterianos e Expressão

O genoma bacteriano é a coleção total de genes portados por uma bactéria, tanto no seu cromossomo como em elementos genéticos extracromossômicos, eventualmente presentes. Os genes são sequências de nucleotídeos que têm uma função biológica; exemplos são os genes de proteínas estruturais (**cístrons**, que são genes codificadores), genes de ácido ribonucleico ribossomal (RNA) e sítios de reconhecimento e ligação para outras moléculas (promotores e operons). Cada genoma contem vários **operons**, que são compostos por **genes**. Os eucariontes comumente possuem duas cópias de cada cromossomo (são, desta forma, diploides). As bactérias comumente possuem somente uma cópia de seus cromossomos (são, deste modo, **haploides**). Por conterem um só cromossomo, a alteração em um gene (mutação) acarretará um efeito mais marcante na célula. Adicionalmente, a estrutura do cromossomo bacteriano é mantida por poliaminas, como espermina e espermidina, ao invés de histonas.

As bactérias podem conter, também, **elementos genéticos extracromossômicos** como **plasmídios** ou **bacteriófagos** (vírus de bactérias). São elementos independentes do cromossomo bacteriano e em muitos casos podem ser transferidos de uma célula para outra.

Transcrição

A informação presente na memória genética do DNA é transcrita em um **RNA mensageiro (mRNA)** utilizável para a tradução em proteínas. A síntese de RNA é executada por uma **RNA-polimerase dependente de DNA**.

O processo se inicia quando o **fator sigma** reconhece uma sequência específica do DNA (o **promotor**) e se liga firmemente a esse sítio. As sequências do promotor se localizam imediatamente antes do início do DNA que efetivamente codifica para proteína. Os fatores sigma se ligam a esses promotores propiciando um sítio de encaixe para a **RNA-polimerase**. Algumas bactérias codificam vários fatores sigma para favorecer a transcrição de grupos de genes sob determinadas condições, como o choque térmico, a privação de nutrientes, o metabolismo particular do nitrogênio e a esporulação. Uma vez que a polimerase está ligada ao sítio apropriado no DNA, se processa a síntese de RNA com a adição sequencial de ribonucleotídeos complementares à sequência no DNA. Uma vez que um gene inteiro ou um grupo de genes (**operon**) tenha sido transcrito, a RNA-polimerase se dissocia do DNA, em um processo mediado por sinais contidos no DNA. A RNA-polimerase dependente de DNA, de bactérias, é inibida pela rifampicina, um antibiótico frequentemente utilizado no tratamento da tuberculose. O **RNA transportador** (**tRNA**), que é usado na síntese proteica, e o **RNA ribossomal** (**rRNA**), um componente de ribossomos, são, também, transcritos a partir do DNA.

O s **promotores** e os **operons** controlam a expressão de um determinando gene estabelecendo quais sequências serão transcritas em RNA mensageiro (mRNA). Os **operons** são grupos de 1 ou mais genes estruturais expressos a partir de um promotor específico e que terminam na parte final da sequência terminadora de transcrição. Assim, todos os genes codificando para as enzimas de uma via específica podem ser coordenadamente regulados. Os operons com vários genes estruturais são denominados **policistrônicos**. O operon *lac* de *E. coli* inclui todos os genes necessários para o metabolismo da lactose, como os mecanismos para a interrupção (na presença de glicose) ou iniciação (na presença de galactose ou de um indutor) da transcrição desses genes quando os mesmos são necessários. O operon *lac* inclui uma sequência repressora, uma sequência promotora e genes estruturais para a enzima β-galactosidase, para a permease e para uma acetilase (Fig. 3-6). O operon *lac* é discutido mais adiante, neste Capítulo.

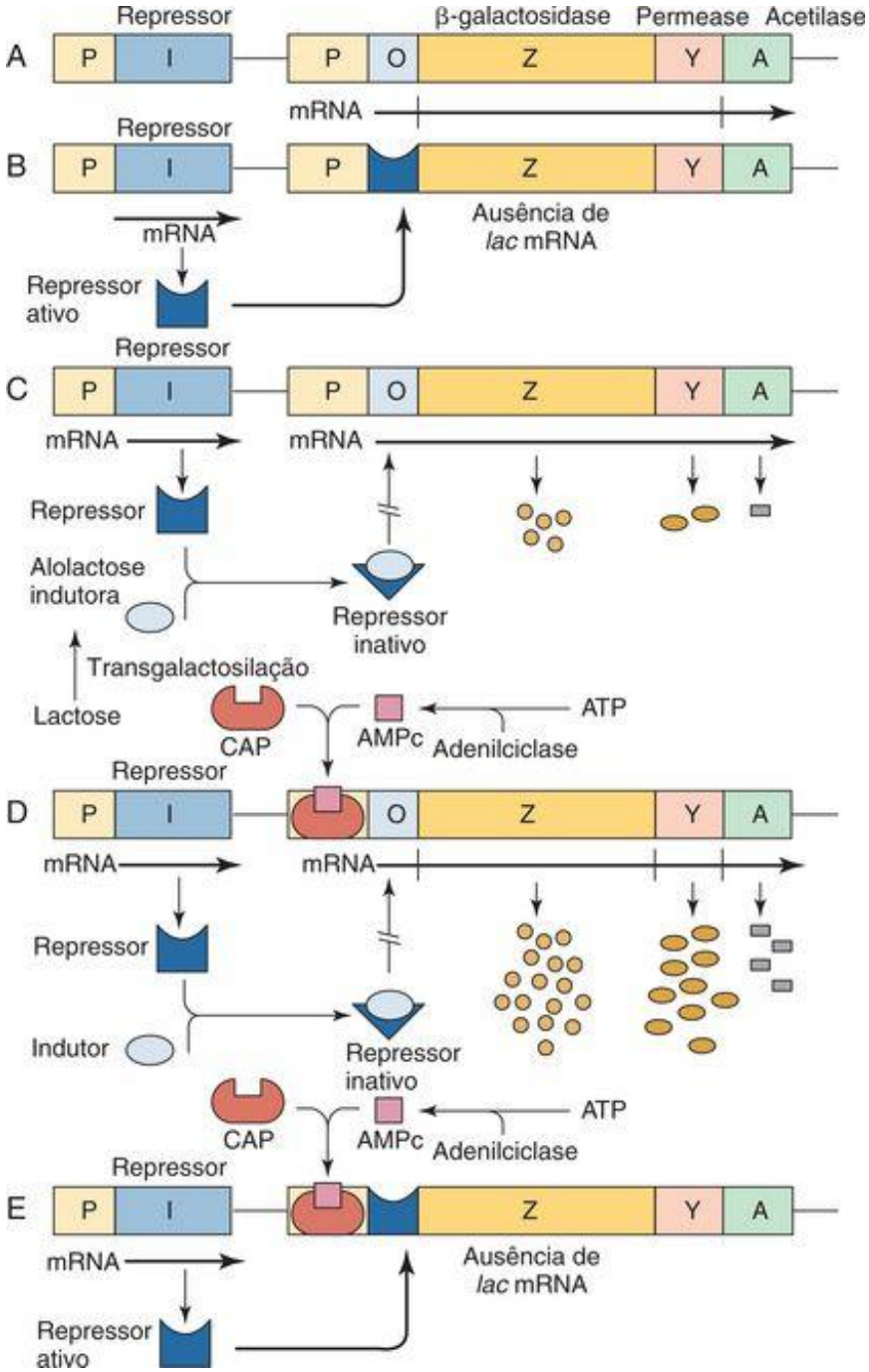


Figura 3-6 **A**, O operon da lactose é transcrito como um RNA mensageiro policistrônico (mRNA) a partir do promotor (P) e traduzido em três proteínas: β-galactosidase (Z), permease (Y) e acetilase (A). O gene *lac* I codifica a proteína repressora. **B**, O operon da lactose não é transcrito na ausência da alolactose indutora, porque o repressor compete com a RNA-polimerase no sítio operador (O). **C**, O repressor, complexado com o indutor, não reconhece o operador por conta de alteração de conformação do repressor. O operon *lac* é, então, transcrito em nível baixo. **D**, *Escherichia coli* cresce em um meio pobre na presença de lactose como a fonte de carbono. Tanto o indutor quanto o complexo CAP-AMPc são ligados ao promotor, que é inteiramente ativado e um alto nível de mRNA de *lac* é transcrito e traduzido. **E**, O crescimento de *E. coli* em um meio sem lactose resulta na ligação do complexo CAP-AMPc à região promotora e na ligação do repressor ativo à sequência operadora, porque não há disponibilidade de indutor. Isto resultará em não transcrição do operon *lac*. O ATP, trifosfato de adenosina; CAP, proteína ativadora de gene por catabólitos; AMPc, monofosfato de adenosina cíclico.

Tradução

A tradução é um processo pelo qual a linguagem do **código genético**, na forma de mRNA, é convertida (traduzida) em uma sequência de aminoácidos, o produto proteico. Cada nome de aminoácido e a pontuação do código genético é definido a partir de um conjunto de 3 nucleotídeos (triplete), conhecidos como **códon**. Há 64 diferentes combinações de códons codificando 20 aminoácidos; mais os códons de iniciação e de terminação. Alguns aminoácidos são codificados por mais de um códon triplete. Esta característica é conhecida como *degeneração do código genético* e teria como função proteger a célula dos efeitos de mínimas mutações no DNA ou no mRNA. Cada molécula de tRNA contém uma sequência de 3 nucleotídeos complementar a 1 das sequências de códon. Esta sequência complementar do tRNA é conhecida como o **anticódon**, permitindo o pareamento de bases e a ligação à sequência códon do mRNA. Preso à terminação oposta do tRNA está o aminoácido que corresponde ao par códon-anticódon específico.

O processo de síntese de proteína (Fig. 3-7) começa com a ligação da subunidade ribossomal 30S a um tRNA iniciador especial para formil metionina (fmet) no códon de iniciação para metionina (AUG), para formar o **complexo de iniciação**. A subunidade ribossomal 50S se liga ao complexo para iniciar a síntese de proteína. O ribossomo contém dois sítios de ligação para tRNA, o **sítio A (aminoacil)** e o **sítio P (peptidil)**, cada um permitindo o pareamento entre o tRNA ligado e a sequência códon no mRNA. O tRNA correspondente ao segundo códon ocupa o sítio A. O grupamento de aminoácidos preso ao sítio A forma uma ligação peptídica com o grupamento carboxila do aminoácido no sítio P numa reação conhecida como **transpeptidação** e o tRNA vazio no sítio P (RNA não carregado) é liberado do ribossomo. O ribossomo, então, se move ao longo do mRNA, exatamente a cada três nucleotídeos, desta forma, trasferindo o tRNA ligado ao peptídeo nascente para o sítio P e trazendo o próximo códon para o sítio A. O tRNA apropriado carregado é trazido para dentro do sítio A e o processo é repetido. A tradução continua até que o novo códon no sítio A seja um dos três códons de terminação para os quais não há tRNA correspondente. Neste ponto a nova proteína é liberada para o citoplasma e o complexo de tradução pode ser desmontado ou o ribossomo desliza para o próximo códon de iniciação e inicia uma nova proteína. A habilidade de deslizar ao longo do mRNA para iniciar uma nova proteína é uma característica do ribossomo 70S bacteriano mas não do ribossomo 80S eucariótico. Isto tem implicações para a síntese de proteínas de alguns vírus.

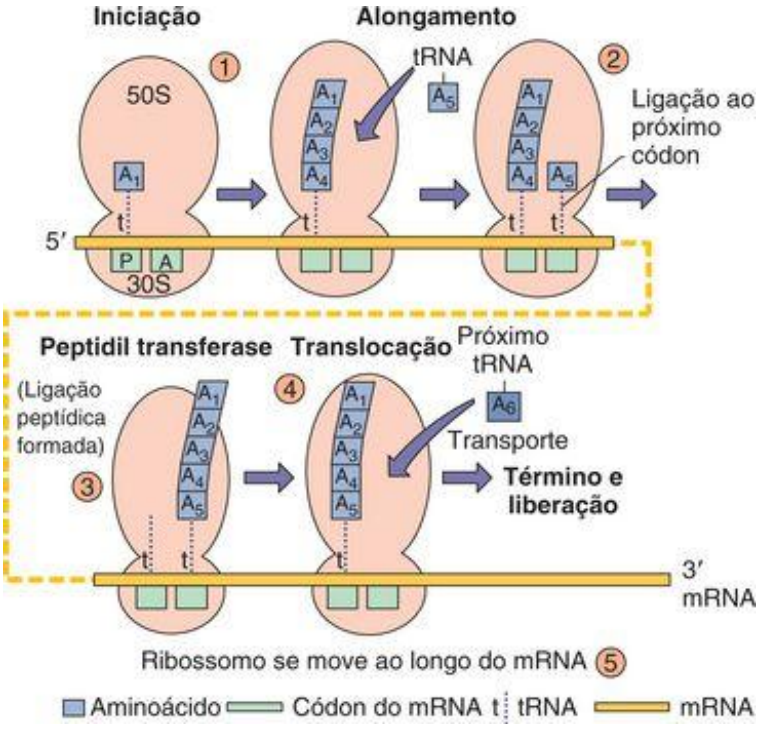


Figura 3-7 Síntese de proteínas bacterianas. *1*, Ligação da subunidade 30S ao RNA mensageiro (mRNA) com o RNA transportador de formilmetionina (fmet-tRNA) no códon de

iniciação AUG permite a montagem do ribossomo 70S. O fmet-tRNA se liga ao sítio de peptil (P). *2*, O próximo tRNA se liga ao seu códon no sítio A e “aceita” a cadeia peptídica nascente. *3, 4*, Antes da translocação para o sítio do peptidil. *5*, O processo é repetido até a ocorrência de um códon de terminação, sendo liberada a proteína.

O processo de síntese de proteína pelo ribossomo 70S representa um importante alvo para a atividade antimicrobiana. Os aminoglicosídeos (p. ex., estreptomocina e gentamicina) e as tetraciclinas agem pela ligação à subunidade ribossomal menor e inibem a função normal do ribossomo. Similarmente, os grupos de antibióticos macrolídeos (p. ex., eritromicina) e das lincomicinas (p. ex., clindamicina) agem se ligando à maior subunidade ribossomal.

Controle da Expressão Gênica

As bactérias desenvolveram mecanismos para se adaptar rápida e eficientemente às mudanças e desafios do ambiente. Isto lhes permite coordenar e regular a expressão de genes para estruturas com múltiplos componentes ou para as enzimas de 1 ou mais etapas metabólicas. Por exemplo, as mudanças de temperatura podem significar entrada no hospedeiro humano e indicar a necessidade de uma mudança global no metabolismo e um aumento da expressão de genes importantes para o parasitismo ou para a virulência. Muitos dos genes bacterianos são controlados em múltiplos níveis e por múltiplos mecanismos.

Uma mudança coordenada na expressão de vários genes, como seria necessário para a esporulação, ocorre através do uso de diferentes **fatores sigma** para a RNA-polimerase. Isto poderia mudar a especificidade da RNA-polimerase permitindo a síntese de mRNA para os genes necessários enquanto que ignoraria aqueles não necessários. As bactérias podem produzir mais do que seis diferentes fatores sigma para prover uma regulação global em resposta ao estresse, choque, privação de nutrientes ou para coordenar a produção de estruturas complexas como os flagelos.

A coordenação de um grande número de processos em um nível global pode, também, ser mediada por pequenas moléculas ativadoras, como monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Níveis elevados de AMPc indicam baixos níveis de glicose e a necessidade de utilizar vias metabólicas alternativas. De forma similar, concentração aumentada de pequenas moléculas específicas produzidas por bactérias individuais é utilizada para ativar genes de virulência quando um número suficiente de bactérias estão presentes e próximas. Este processo é chamado de ***quorum sensing***. O disparo para a produção de biofilme por *Pseudomonas* spp. é determinado por uma concentração crítica de *N*-acil homoserina lactona (AHL) produzida quando um número suficiente de bactérias (um *quorum*) estão presentes. A ativação da produção de toxinas e de comportamento mais virulento por *S. aureus* acompanha o aumento na concentração de peptídeo cíclico.

Para coordenar a expressão de um limitado grupo de genes, como para um processo metabólico específico, os genes para as enzimas necessárias devem estar organizados em um **operon**. O operon deve estar sob o controle de um promotor ou de uma sequência de DNA repressora que pode ativar ou desativar a expressão de um gene ou de um grupo de genes para coordenar a produção das enzimas necessárias e permitir que as bactérias reajam às mudanças nas concentrações de nutrientes. Os genes para alguns mecanismos de virulência são organizados em **ilhas de patogenicidade** sob o controle de promotores únicos para permitir a expressão sob condições apropriadas (às bactérias). Muitos dos dispositivos do Sistema de Secreção do Tipo III de *E. coli* e de *Salmonella* ou *Yersinia* são mantidos juntos em ilhas de patogenicidade.

A transcrição pode, também, ser regulada pelos processos de tradução. Diferentemente dos eucariontes, a ausência de uma membrana nuclear em procariontes permite ao ribossomo se ligar ao mRNA à medida que este vai sendo transcrito a partir do DNA. Tanto a posição quanto a velocidade do ribossomo na sua movimentação ao longo do mRNA podem afetar a presença de alças no mRNA e a capacidade da polimerase de transcrever novo mRNA. Isto permite o controle da expressão gênica nos níveis tanto da transcrição quanto da tradução.

A iniciação da transcrição pode estar sob controle positivo ou negativo. Os genes sob **controle negativo** são expressos desde que não sejam inibidos por uma **proteína repressora**. Estas proteínas repressoras previnem a expressão gênica pela ligação a uma sequência específica do DNA chamada de **operon**, bloqueando a iniciação da transcrição pela RNA-polimerase na sequência promotora. Inversamente, genes cuja expressão esteja sob **controle positivo** não são transcritos senão pela presença de uma proteína reguladora ativa chamada de **apoindutora**. O apoindutor se liga a uma sequência específica do DNA e auxilia a RNA-polimerase nas etapas de iniciação por um mecanismo desconhecido.

Os operons podem ser **induzidos ou reprimidos**. A introdução de um substrato **(indutor)** no meio de crescimento pode induzir um operon a aumentar a expressão de uma enzima necessária para o metabolismo do mesmo. Abundantes produtos finais

(**correpressores**) de uma via podem sinalizar que a via deve ser desviada ou reprimida pela redução da síntese de suas enzimas.

O operon da lactose (*lac*), responsável pela degradação do açúcar lactose, é um operon induzível sob regulações positiva e negativa (Fig. 3-6). Normalmente, as bactérias utilizam a glicose e não a lactose. Na ausência de lactose o operon é reprimido pela ligação da proteína repressora à sequência do operador, impedindo a função da DNA-polimerase. Na ausência de glicose, entretanto, a adição de lactose reverte esta repressão. A expressão plena do operon *lac* também requer um mecanismo positivo de controle, mediado por proteína. Em *E. coli* a proteína chamada de **proteína ativadora de gene por catabólitos** (CAP) forma um complexo com a adenosina monofosfato cíclico (AMPc), adquirindo a capacidade de se ligar a sequências específicas do DNA, presentes no promotor. Quando a concentração de glicose diminui na célula, o AMPc aumenta para promover a utilização de outros açúcares no metabolismo. O complexo CAP-AMPc estimula a ligação da RNA-polimerase ao promotor, permitindo um aumento na frequência de iniciação de transcrição.

O operon do triptofânio (**operon trp**) contém os genes estruturais necessários para a biossíntese do triptofânio e está sob um mecanismo de controle de transcrição duplo (Fig. 3-8). Embora o triptofânio seja essencial para a síntese de proteínas, o excesso de triptofânio na célula pode ser tóxico; desta forma, a síntese do mesmo deve ser *regulada*. Ao nível de DNA a proteína repressora é ativada por uma elevada concentração intracelular de triptofânio, para evitar a transcrição. Ao nível da síntese de proteínas, a rápida tradução de um “peptídeo teste” no início do mRNA, na presença de triptofânio promove a formação de uma alça de dupla fita no RNA que termina a transcrição. A mesma alça é formada se não está ocorrendo a síntese de proteínas, uma situação na qual a síntese de mRNA é, prematuramente, encerrada.

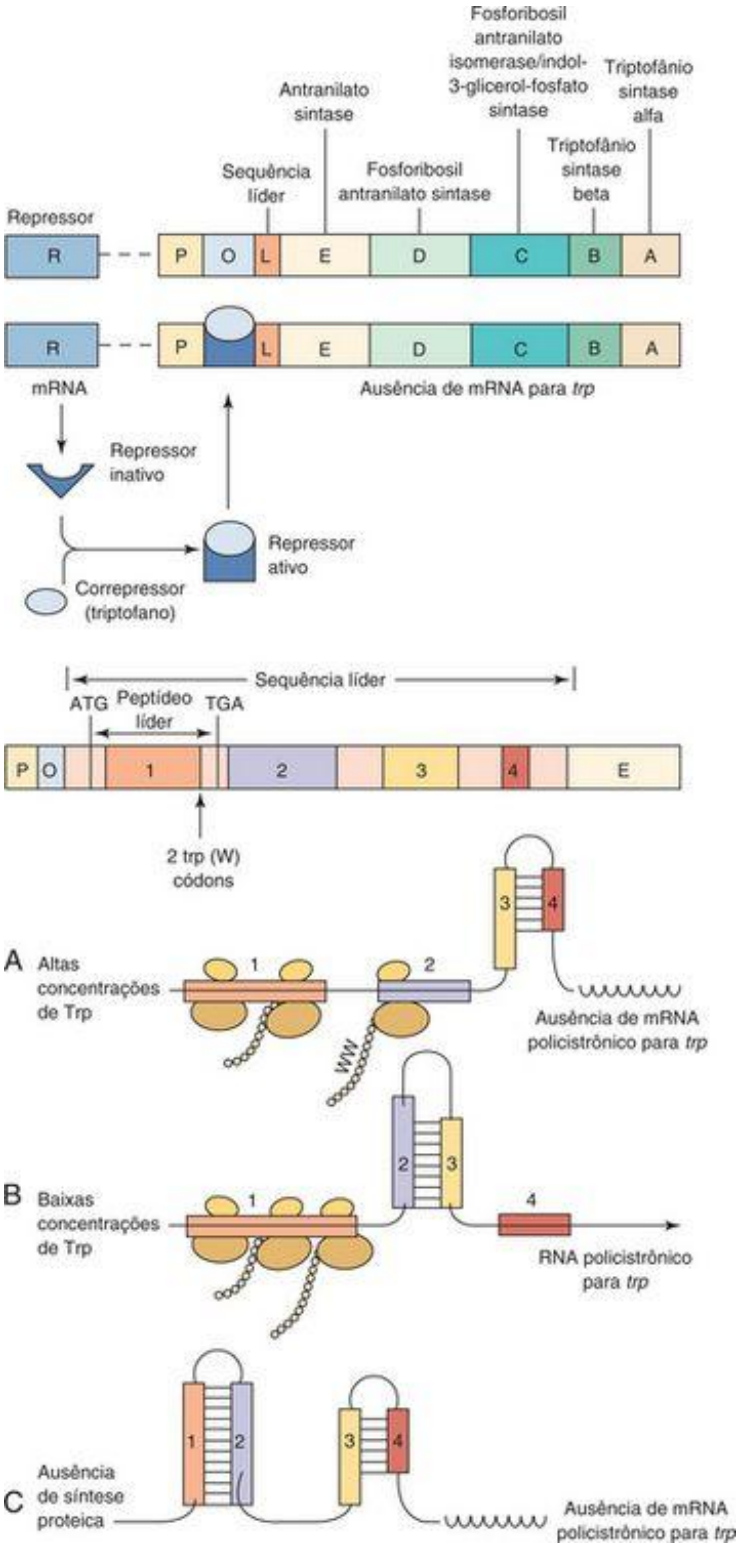


Figura 3-8 A regulação do operon do triptofânio (*trp*). **A**, O operon *trp* codifica as cinco enzimas necessárias para a biossíntese do triptofânio. O operon *trp* está sob um controle dual. **B**, A conformação da proteína repressora inativa é modificada quando da sua ligação com o correpressor, triptofânio. O repressor ativo resultante se liga ao operador (O), bloqueando a transcrição do mRNA pela RNA-polimerase. **C**, O operon *trp* está, também, sob o controle de um mecanismo de atenuação-antiterminação. Imediatamente anterior (*upstream*) aos genes estruturais estão o promotor (P), o operador e a sequência líder (L), que pode ser transcrita em um peptídeo curto contendo dois triptofânios (W), próximo à sua extremidade distal. A sequência líder de mRNA possui quatro triptofânios (W) repetidos (1, 2, 3 e 4) que podem parear, diferentemente, de acordo com a disponibilidade de triptofânio, determinando um término precoce da transcrição do operon *trp* ou à sua plena transcrição. Na presença de altas concentrações de triptofânio, as regiões 3 e 4 da sequência líder do mRNA podem parear, formando um grampo terminador, não ocorrendo transcrição do operon *trp*. Entretanto, na presença de pouco ou nenhum triptofânio, o ribossomo para na região 1, quando traduzindo a sequência líder, por conta da sequência de códons para o triptofânio. Então, as regiões 2 e 3

podem parear, formando um grampo antiterminador, promovendo a transcrição dos genes *trp*. Finalmente, as regiões 1:2 e 3:4 da sequência iniciadora livre de mRNA podem parear, também determinando o término da transcrição antes do primeiro gene estrutural *trp*E. A, adenina; G, guanina, T, timidina.

A expressão de mecanismos de virulência é, também, regulado coordenadamente por um operon. Estímulos simples como temperatura, osmolaridade, pH, disponibilidade de nutrientes ou a concentração de pequenas moléculas específicas, como o oxigênio ou o ferro, podem ativar ou desativar a transcrição de genes individuais ou de grupos de genes. Os genes de invasão de *Salmonella* dentro de uma ilha de patogenicidade são ativados pela alta osmolaridade e baixa concentração de oxigênio, condições presentes no trato gastrointestinal. A *E. coli* percebe a saída do intestino de um hospedeiro pela queda de temperatura e inativa seus genes de aderência. Baixas concentrações de ferro podem ativar a expressão de hemolisina em *E. coli* ou de toxina diftérica por *Corynebacterium diphtheriae*, viabilizando a morte de células do hospedeiro e aumentar a disponibilidade de ferro. O *quorum sensing* para os fatores de virulência de *S. aureus* e de produção de biofilmes por *Pseudomonas* spp. foi discutido anteriormente.

Replicação do DNA

O cromossomo bacteriano é um depositório de informação pelo qual as características das células são definidas e todos os processos celulares são conduzidos. É essencial que essas moléculas sejam replicadas sem erros. A replicação do genoma bacteriano é estabelecida por uma cascata de eventos relacionados à velocidade de crescimento da célula. A replicação do DNA bacteriano é iniciada em uma sequência específica do cromossomo denominada *OriC*. O processo de replicação requer muitas enzimas, incluindo uma enzima (**helicase**) para desenrolar o cromossomo na origem para expor o DNA, uma enzima (**primase**) para sintetizar iniciadores e iniciar o processo e a enzima ou enzimas (**RNA-polimerase dependendente de DNA**) que sintetizam uma cópia do DNA, mas somente se há uma sequência iniciadora (primer) para ser adicionada especificamente na direção de 5′ para 3′.

O novo DNA é sintetizado **semiconservativamente**, empregando como moldes ambas as fitas do DNA parental. A síntese do novo DNA ocorre em **forquilhas de replicação** e prossegue **bidirecionalmente**. Uma fita (a fita contínua) é copiada continuamente na direção 5′ para 3′, enquanto a outra fita (a fita descontínua) deve ser sintetizada em várias peças de DNA se empregando primers (fragmentos de Okazaki). A sequência mais lenta deve ser alongada na direção 5′ para 3′, à medida que o molde vai se tornando disponível. Então, as sequências são interligadas pela enzima DNA ligase (Fig. 3-9). Para manter a alta acurácia exigida para a duplicação a DNA-polimerase possui funções de “revisão de leitura”, que permitem à enzima confirmar que o nucleotídeo adequado foi inserido e corrigir quaisquer erros que tenham sido cometidos. Durante a fase exponencial de crescimento em meio rico, muitas iniciações de duplicação do cromossomo podem ocorrer antes da divisão celular. Este processo produz séries de bolhas agrupadas de novos cromossomos filhos, cada uma com seu par da forquilha de crescimento do novo DNA sintetizado. A polimerase se move ao longo da fita de DNA, incorporando o nucleotídeo apropriado (complementar) em cada posição. A duplicação se completa quando as duas forquilhas de replicação se encontram a 180 graus a partir da origem. O processo de duplicação determina grandes forças de torção no círculo de DNA cromossômico; a intensidade destas torções é diminuída pelas **topoisomerases** (p. ex., girases) que determinam um **superenrolamento** do DNA. As topoisomerases são essenciais para as bactérias e são alvos para as quinolonas.

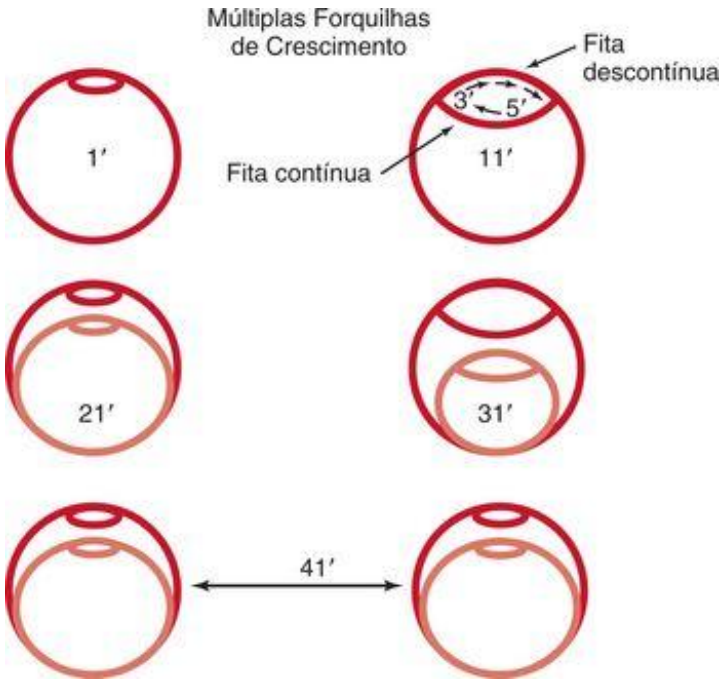


Figura 3-9 Replicação do DNA bacteriano. Nova síntese de DNA ocorre nas forquilhas de replicação e prossegue bidirecionalmente. A síntese de DNA progride na direção 5′ para 3′, continuamente (fita contínua) ou em partes (fita descontínua). São necessários 40 minutos

para se completar um ciclo de duplicação e que uma nova iniciação ocorre a cada 20 minutos, a iniciação da síntese de DNA antecede a divisão celular. Múltiplas forquilhas de replicação podem se iniciar em uma célula antes da formação completa de septo e da divisão celular. As células-filhas são “gestantes recém-nascidas”.

Crescimento Bacteriano

A duplicação bacteriana é um processo coordenado no qual duas células-filhas equivalentes são produzidas. Para que o crescimento ocorra deve haver metabólitos suficientes para permitir a síntese dos componentes bacterianos e, especialmente, os nucleotídeos para a síntese de DNA. A cascata de eventos regulatórios, é muito semelhante à contagem regressiva do Centro Espacial Kennedy, nos EUA, deve ocorrer de forma programada para iniciar o ciclo de duplicação celular. *Entretanto, uma vez iniciado o ciclo, a síntese de DNA deve caminhar para a conclusão, mesmo que todos os nutrientes sejam retirados do meio*.

A duplicação do cromossomo é iniciada na membrana e o cromossomo de cada célula-filha é ancorado em uma parte diferente da membrana. A membrana bacteriana, a síntese de peptidoglicano e a divisão celular estão interligadas de tal forma que a inibição da síntese de peptidoglicano também vai inibir a divisão celular. À medida que a membrana cresce, os cromossomos filhos são separados. O começo da duplicação cromossômica também inicia o processo de divisão celular, que pode ser visualizado pelo princípio da formação do septo entre as duas células-filhas (Fig. 3-10; Cap. 2). Novos eventos de iniciação podem ocorrer mesmo antes do término da duplicação do cromossomo e da divisão celular.

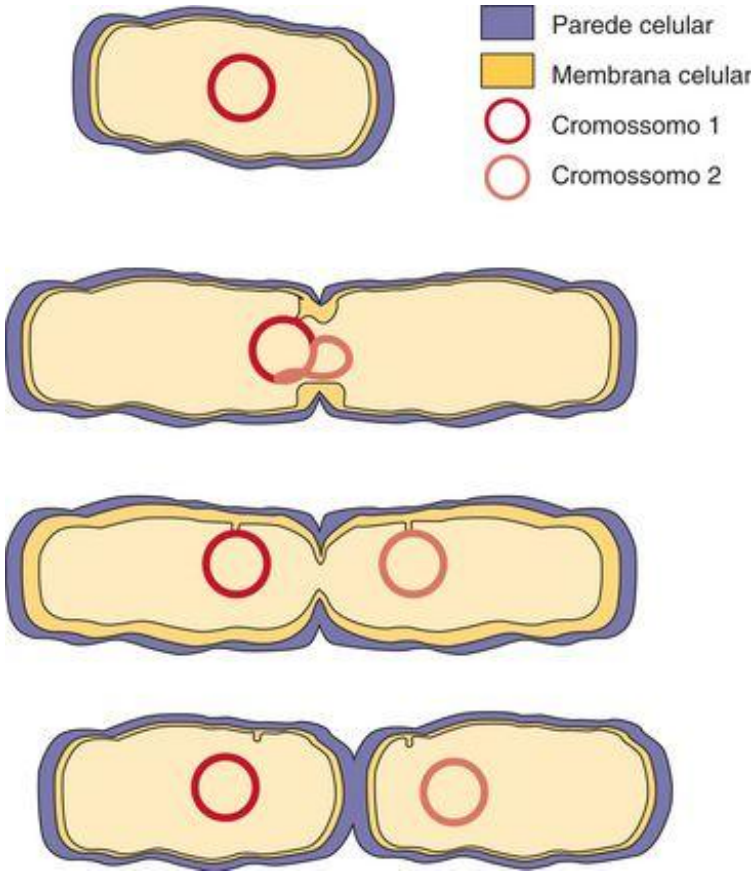


Figura 3-10 Divisão da célula bacteriana. A duplicação requer o alongamento da parede celular, a duplicação do cromossomo e a formação do septo. A ligação do DNA puxa cada fita filha para uma das novas células.

A depleção de metabólitos (privação de nutrientes) ou a produção de subprodutos tóxicos (p. ex., etanol) aciona a produção de **alarmônios**, que levam a síntese a ser interrompida, mas o processo degradativo continua. A síntese de DNA continua até que todos os cromossomos iniciados estejam completos, apesar do efeito prejudicial para a célula. Os ribossomos são canibalizados para a produção de precursores de desoxirribonucleotídeos, peptidoglicano e proteínas são degradados para produção de metabólitos e a célula se retrai. A formação do

septo pode iniciar, mas a divisão celular não pode ocorrer. Muitas células morrem. Sinais semelhantes podem iniciar a **esporulação** em espécies capazes desse processo (Cap. 2)

Dinâmica Populacional

Quando as bactérias são adicionadas a um meio, necessitam de tempo para se adaptar ao novo ambiente antes de começarem a se dividir (Fig. 3-11). Este hiato é conhecido como **fase lag** do crescimento. Durante a **fase log ou exponencial**, as bactérias crescerão e se dividirão com um **tempo de duplicação** característico de cada estirpe e determinado pelas condições. O número de bactérias crescerá para 2^n, no qual *n* é o número de gerações (duplicações). O desenvolvimento da cultura, eventualmente, esgota os metabólitos ou leva a produção de substâncias tóxicas; as bactérias param de crescer e entram em uma **fase estacionária**.

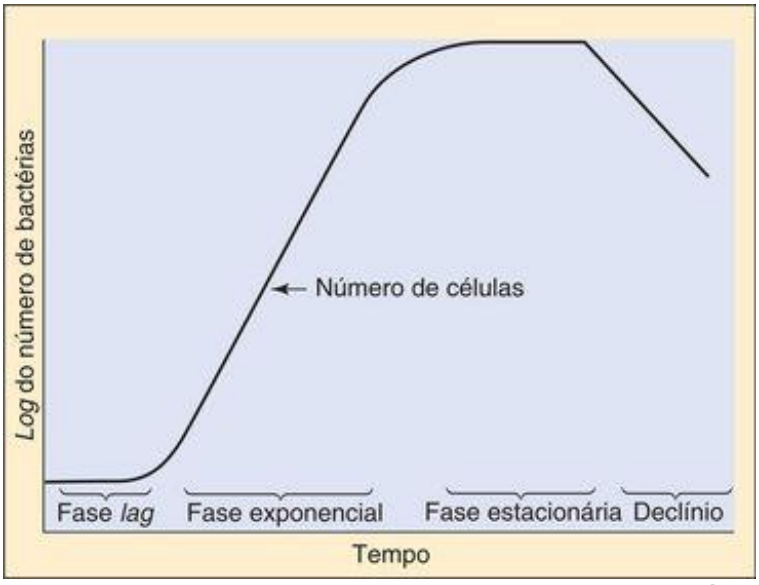


Figura 3-11 Fases do crescimento bacteriano, iniciando com um inóculo de células na fase estacionária.

Genética Bacteriana

Mutação, Reparo e Recombinação

A duplicação acurada do DNA é importante para a sobrevivência da bactéria, mas podem ocorrer erros e lesões acidentais ao DNA. Apesar da eficiência dos sistemas de reparo, podem ocorrer mutações e alterações do DNA. A maioria dessas mutações tem pequenos efeitos na bactéria ou é prejudicial, mas algumas mutações podem aumentar as chances de sobrevivência da bactéria quando são oriundas por influência do ambiente, do hospedeiro ou tratamento.

As Mutações e suas Consequências

A mutação é qualquer alteração na sequência de bases do DNA. Uma única mudança de base pode resultar em **transição**, na qual uma purina é substituída por outra purina, ou uma pirimidina é substituída por outra pirimidina. Pode ocorrer, também, uma **transversão**, em que uma purina é substituída por uma pirimidina ou *vice-versa*. Uma **mutação silenciosa** é uma mudança no DNA que não resulta em nenhuma alteração de aminoácido na proteína codificada. Este tipo de mutação ocorre porque mais de um códon pode codificar um aminoácido. Uma **mutação "missense" (de sentido trocado)** resulta na inserção de um aminoácido diferente na proteína, mas esta pode ser uma **mutação conservativa** se o novo aminoácido tem propriedades semelhantes (p. ex., valina substituindo alanina). Uma **mutação "nonsense" (sem sentido)** muda um códon que codifica um aminoácido para um código de terminação (p. ex., TAG [timidina-adenina-guanina]), fazendo o ribossomo se desprender do mRNA e terminar, prematuramente, a proteína. As **mutações condicionais**, como as **mutações de sensibilidade à temperatura**, podem resultar de mutações conservativas que alteram a estrutura e a função de uma proteína importante a temperaturas elevadas.

Mudanças mais drásticas podem ocorrer quando numerosas bases são envolvidas. Pequenas deleções ou inserções que *não sejam em múltiplos de 3* produzem uma **mutação "frameshift" (troca de quadro de leitura)**. Isto resulta em uma mudança do quadro de leitura, comumente, levando a peptídeos não utilizáveis e ao truncamento prematuro da proteína. **Mutações nulas**, que destroem completamente a função do gene, surgem quando ocorrem inserções ou deleções extensas, ou rearranjos grosseiros na estrutura do cromossomo. A inserção de longas sequências de DNA (muitos milhares de pares de base) por recombinação, por transposição ou durante a realização de técnicas de engenharia genética pode produzir mutações nulas pela separação de partes de um gene, levando à inativação do gene.

Muitas mutações ocorrem espontaneamente na natureza (p. ex., por erros da polimerase); entretanto, agentes físicos e químicos podem, também, induzir mutações. Entre os agentes empregados para produzir mutações em bactérias estão o calor, que resulta em desaminação de nucleotídeos; luz ultravioleta, que causa a formação de dímeros de pirimidina; e radiações ionizantes, como os raios X, que produzem vários radicais hidroxila reativos podendo ser responsáveis pela abertura de anéis de uma base ou causar quebras de fitas simples ou duplas do DNA. Os mutagênicos químicos podem ser agrupados em três classes. Os **análogos de bases de nucleotídeos** levam ao pareamento incorreto e a frequentes erros na duplicação do DNA. Por exemplo, a incorporação no DNA de 5-bromouracil ao invés de timidina favorece o pareamento da base com guanina ao invés da adenina, mudando um par de bases de T-A para um par de bases G-C. Os **mutagênicos que levam à mudança de quadro de leitura**, como moléculas policíclicas planas como o brometo de etídio ou os derivados da acridina, se inserem (ou se intercalam) entre as bases na dupla hélice. Estes agentes intercalantes aumentam o espaçamento dos pares de bases sucessivas, destruindo o esqueleto regular de açúcar-fosfato e diminuindo o intervalo da hélice. Estas mudanças causam a adição ou a deleção de uma única base e levam a erros frequentes durante a replicação do DNA. Os **agentes químicos que reagem com o DNA** atuam diretamente no

DNA mudando a estrutura química da base. Estes incluem o ácido nitroso (HNO_2) e agentes alquilantes, incluindo a nitrosoguanidina e o etil-metano-sulfonato, que adiciona grupos metil ou etil aos anéis das bases do DNA. As bases modificadas podem parear anormalmente ou, simplesmente, não parear. O dano pode, também, causar a remoção da base do esqueleto de DNA.

Mecanismos de Reparo do DNA

Diversos mecanismos de reparo foram desenvolvidos pelas células bacterianas, minimizando as lesões ao DNA. Estes mecanismos de reparo podem ser divididos nos cinco seguintes grupos:

1. **Reparo direto do DNA** é a remoção enzimática de lesões, como os dímeros de pirimidina e bases alquiladas.

2. **Reparo por excisão** é a excisão de um segmento do DNA contendo a alteração, seguida de síntese de nova fita de DNA. Existem dois tipos de mecanismos de reparo por excisão, generalizado e especializado.

3. **Reparo recombinacional** ou **pós-duplicacão** é a recuperação de informação perdida por recombinação genética quando ambas as fitas de DNA são lesadas.

4. **A resposta SOS** é a indução de muitos genes (aproximadamente 15) após a lesão do DNA ou a interrupção da duplicação do DNA.

5. **Reparo sujeito a erro** é o último recurso da bactéria antes de morrer. É utilizado para preencher falhas com uma sequência randômica quando o molde de DNA não está disponível para permitir um reparo acurado.

Transferência de Genes em Células Procarióticas

Muitas bactérias, especialmente muitas espécies bacterianas patogênicas, são promíscuas com seus DNAs. A troca de DNA entre as células permite a transferência de genes e de características entre as células, produzindo novas estirpes de bactérias. Esta troca pode ser vantajosa para a célula receptora, especialmente se o DNA transferido codifica resistência a antibióticos. O DNA transferido pode ser integrado no cromossomo da receptora ou se manter estável como um elemento extracromossômico (**plasmídio**) ou como um vírus bacteriano (**bacteriófago**) e passado adiante para as bactérias-filhas como uma unidade de duplicação autônoma.

Os **plasmídios** são elementos genéticos, normalmente pequenos, que se replicam de forma independente do cromossomo bacteriano. Muitos plasmídios são moléculas circulares, de dupla fita, variando de 1.500 a 400.000 pares de base. Entretanto, *Borrelia burgdorferi*, o agente da Doença de Lyme, e a *Borrelia hermsii* são especiais entre as eubactérias por possuírem plasmídios lineares. Assim como o DNA cromossômico, os plasmídios podem se replicar autonomamente sendo considerados **replicons**. Alguns plasmídios, como o plasmídio F de *E. coli*, são **episssomos**, significando que podem se integrar no cromossomo bacteriano.

Os plasmídios transportam informação genética, que pode não ser essencial, mas proporcionar vantagem seletiva para a bactéria. Por exemplo, os plasmídios podem codificar a produção de mecanismos de resistência a antibióticos, bacteriocinas, toxinas, determinantes de virulência e outros genes que podem prover a bactéria de vantagens exclusivas de crescimento em relação a outros micróbios ou no interior do hospedeiro (Fig. 3-12). O número de cópias de plasmídios produzidos por célula é determinado pelo próprio plasmídio. O número de cópias é calculado pela razão entre o número de plasmídios para o número de cromossomos. Este número pode ser tão pequeno quanto um, no caso de grandes plasmídios, ou tão grande quanto 50, nos pequenos plasmídios.

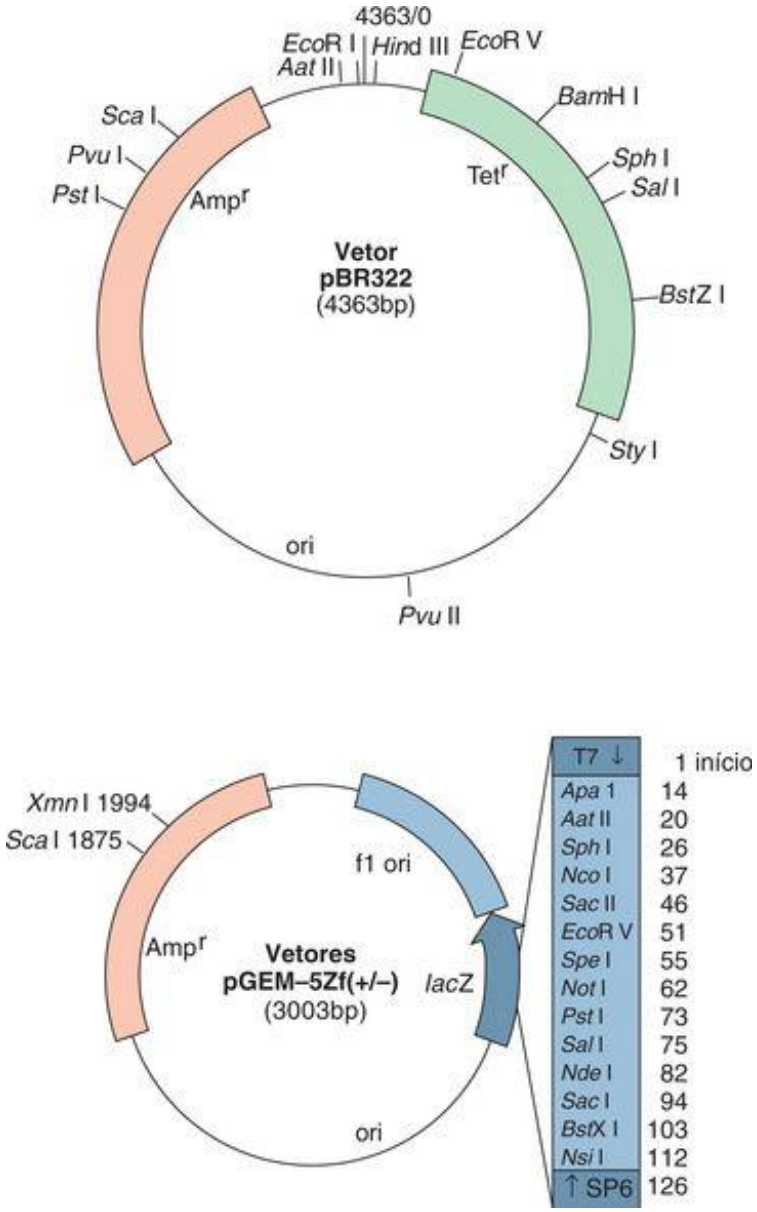


Figura 3-12 Plasmídios. O plasmídio pBR322 é um dos plasmídios utilizados para a clonagem de DNA. Este plasmídio codifica para resistência à ampicilina (Amp), à tetraciclina (Tet) e para uma origem de replicação (Ori). Os múltiplos sítios de clonagem no plasmídio pGEM permitem corte por diferentes enzimas de restrição para a inserção de DNA no gene da β-galactosidase (*lacZ*). A inserção é flanqueada por promotores do bacteriófago para permitir a expressão do RNA mensageiro da sequência clonada.

Os grandes plasmídios (20 a 120 kb), como os **fatores de fertilidade F** encontrados em *E. coli* ou os fatores de transferência de resistência (80 kb), podem frequentemente mediar a própria transferência de uma célula para outra por um processo chamado de **conjugação** (veja a seção sobre conjugação mais adiante neste Capítulo). Os plasmídios conjugativos codificam todos os fatores necessários para suas transferências. Outros plasmídios podem ser transferidos para o interior de uma célula bacteriana por outras formas diferentes da conjugação, como transformação ou transdução. Estes termos são discutidos adiante no Capítulo.

O s **bacteriófagos** são vírus de bactérias. Esses elementos genéticos extracromossômicos podem sobreviver fora de uma célula hospedeira, porque possuem uma capa proteica que pode proteger o ácido nucleico genômico (que pode ser DNA ou RNA). Os bacteriófagos infectam as células bacterianas ou podem se replicar em grandes números e causar a lise da célula (**infecção lítica**) ou, em alguns casos, se **integrar** no genoma do hospedeiro sem matá-lo (o **estado lisogênico**), como o bacteriófago lâmbda de *E. coli*. Alguns bacteriófagos lisogênicos podem transportar genes de toxinas (p. ex., o corinefago beta transporta o gene para a toxina diftérica). O bacteriófago lambda permanece lisogênico

enquanto uma proteína repressora é sintetizada, impedindo o fago de sair do estado integrado na direção de se replicar e abandonar a célula. A reação pode ser iniciada se o DNA da célula hospedeira é lesado por radiação, ou por outro meio; ou se a célula perder a capacidade de produzir a proteína repressora, um sinal de que a célula hospedeira está instável e não é mais um bom lugar para "exploração".

Os **transposons** (genes "saltadores") são elementos genéticos móveis (Fig. 3-13) que podem transferir DNA no interior da célula, de uma posição do genoma para outra ou entre diferentes moléculas de DNA (p. ex., de plasmídio para outro plasmídio ou de plasmídio para o cromossomo). Os transposons estão presentes em procariontes e em eucariontes. Os mais simples transposons são chamados de *sequências de inserção* e variam em tamanho de 150 a 1.500 pares de base, com repetições invertidas de 15 a 40 pares de bases em suas extremidades e contendo a informação genética mínima necessária para sua própria transferência (*i.e.*, o gene codificando a transposase). Os transposons compostos transportam outros genes, como genes que conferem resistência a antibióticos. Os transposons, algumas vezes, se inserem em genes, inativando-os. Se ocorrer inserção e inativação de um gene que codifica uma proteína essencial, a célula morre.

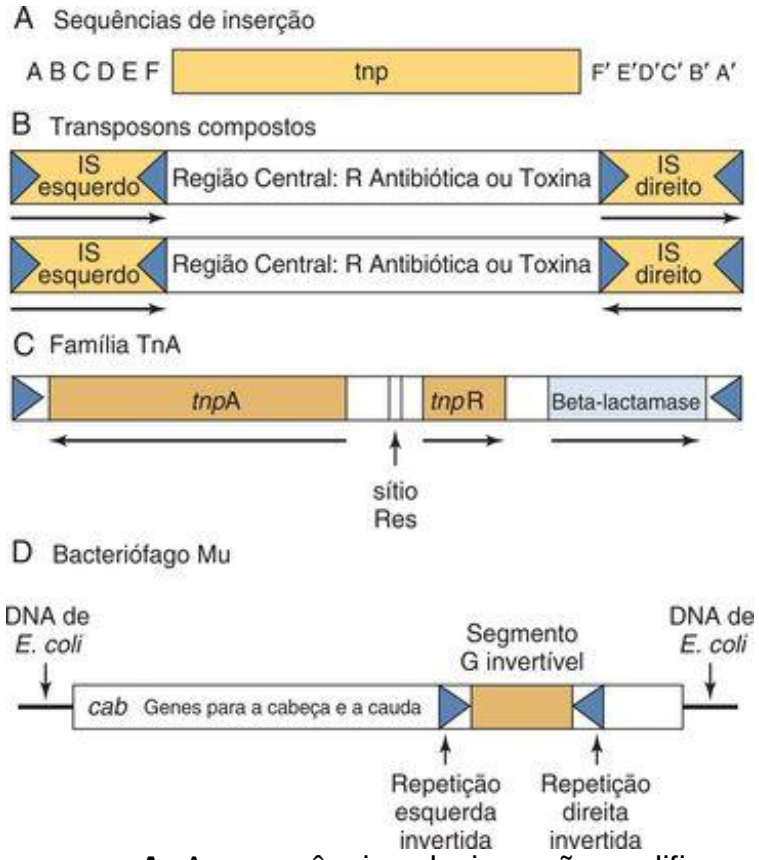


Figura 3-13 Transposons. **A**, As sequências de inserção codificam somente para uma transposase (*tnp*) e possuem repetições invertidas (15 a 40 pares de bases) em cada extremidade. **B**, Os transposons compostos contêm uma região central codificando genes de resistência ou de toxinas, flanqueados por duas sequências de inserção (IS) que podem ser tanto repetições diretas quanto invertidas. **C**, Tn3, um membro da família de transposons TnA. A região central codifica três genes: uma transposase (tnpA), uma resolvase (tnpR) e uma β-lactamase, conferindo resistência à ampicilina. Um sítio de resolução (sítio Res) é utilizado durante o processo replicativo de transposição. Esta região central é flanqueada, em ambas extremidades, por repetições diretas de 38 pares de base. **D**, Um fago associado à transposição é exemplificado pelo bacteriófago mu.

Algumas bactérias patogênicas se utilizam de mecanismos semelhantes aos de transposons para coordenar a expressão de sistemas de fatores de virulência. Os genes para a atividade podem estar agrupados em uma **ilha de patogenicidade ou virulência**, que é ladeada por elementos móveis semelhantes a transposons, permitindo que se movam no

cromossomo ou para outras bactérias. A unidade genética inteira pode ser acionada por um estímulo ambiental (p. ex., pH, calor, contato com a superfície de célula do hospedeiro) como um modo de coordenar a expressão dos processos complexos. Por exemplo, a ilha SPI-1 de *Salmonella* codifica 25 genes que permitem à bactéria entrar em células não fagocíticas.

Mecanismos de Transferência Genética entre Células

A transferência de material genético entre células bacterianas pode ocorrer por um dos três mecanismos (Fig. 3-14): (1) **conjugação**, que é a transferência por contato direto ou transferência quase sexual de informação genética de uma bactéria (a doadora) para outra bactéria (a receptora); (2) **transformação**, que resulta na aquisição de novos marcadores genéticos pela incorporação de DNA exógeno ou estranho; (3) **transdução**, que é a transferência de informação genética de uma bactéria para outra por um bacteriófago. Estando no interior de uma célula, um **transposon** pode ser transferido ("saltar") entre moléculas diferentes de DNA (p. ex., de um plasmídio para outro plasmídio ou de um plasmídio para o cromossomo).

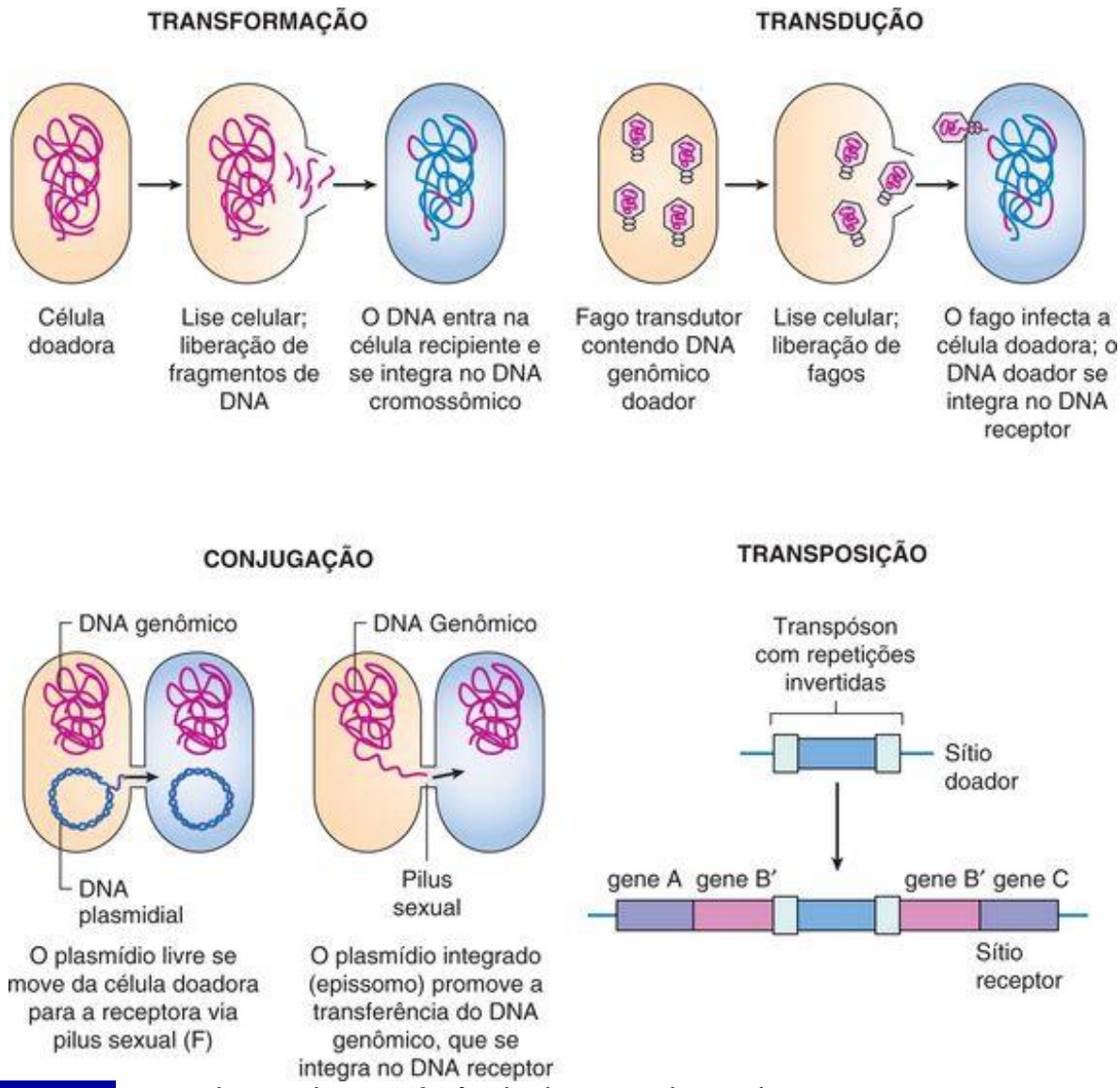


Figura 3-14 Mecanismos de transferência de genes bacterianos.

(De Rosenthal KS, Tan J: Rapid Reviews Microbiology and Immunology. St. Louis, Mosby, 2002.)

Transformação

A **transformação** é um processo em que as bactérias podem capturar fragmentos de DNA livre e incorporá-los em seus genomas. A transformação foi o primeiro mecanismo de transferência descoberto em bactérias. Em 1928, Griffith observou que a virulência de

pneumococos estava relacionada à presença de uma cápsula polissacarídica ao redor da célula e que extratos das bactérias encapsuladas produtoras de colônias mucoides (devido à cápsula) podiam transmitir essa característica para bactérias não encapsuladas. Os estudos de Griffith levaram Avery, MacLeod e McCarty, cerca de 15 anos mais tarde, à identificação do DNA como o princípio de transformação.

As bactérias Gram positivas e Gram negativas podem capturar e manter estável o DNA exógeno. Certas espécies são naturalmente capazes de capturar DNA exógeno (essas espécies são, então, denominadas competentes), se incluindo espécies de *Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Bacillus* e *Neisseria*. A competência tende a se desenvolver no fim do crescimento exponencial, algumas vezes antes da população entrar na fase estacionária. A maioria das bactérias não exibe uma capacidade natural de capturar DNA. Métodos químicos ou eletroporação (a utilização de pulsos elétricos de alta voltagem) podem ser empregados para introduzir plasmídios e outros DNAs em *E. coli* ou outras bactérias.

Conjugação

A **conjugação** ocorre com a maioria, se não em todas, as eubactérias. A conjugação comumente ocorre entre membros da mesma espécie ou entre espécies relacionadas, mas sua ocorrência foi, também, demonstrada entre procariontes e células de plantas, animais e fungos. A conjugação ocorre para *E. coli*, bacteroides, enterococos, estreptococos, estreptomicetos e clostrídios. A maioria dos grandes plasmídios conjugativos codifica colicinas ou enzimas que conferem a resistência a antibióticos.

A transferência genética em *E. coli* foi descrita pela primeira vez por Lederberg e Tatum em 1946, quando observaram uma transferência semelhante à sexual entre duas estirpes mutantes de *E. coli* K12. A conjugação consiste em uma transferência unidirecional de DNA de uma célula doadora (ou macho) para uma célula receptora (ou fêmea) através de **pilus sexual**. Plasmídios R conjugativos (que carregam genes de resistência a antibióticos) de bactérias como Gram positivas, como estreptococos, estreptomicetos e clostrídios, são unidos pela presença de moléculas aderentes, ao invés de pili, na superfície da célula doadora.

A classificação do tipo célula na conjugação depende da presença (macho) ou ausência (fêmea) de um plasmídio conjugativo, como o **plasmídio F** de *E. coli*. O plasmídio é definido como conjugativo porque transporta todos os genes necessários para sua própria transferência, se incluindo a capacidade de produzir os pili sexuais e iniciar a síntese de DNA na origem de transferência (OriT) do plasmídio. O plasmídio F se autotransfere, convertendo as células receptoras em células macho (F+). Se um fragmento do DNA cromossômico foi incorporado no plasmídio, este é denominado um plasmídio F primo (F′). Quando este é introduzido na célula receptora, carrega consigo aquele fragmento e converte a receptora em célula macho F′. Se a sequência do plasmídio F é integrada no cromossomo bacteriano a célula é designada como célula Hfr (do inglês “high frequence of recombination” — alta frequência de recombinação).

O DNA que é transferido por conjugação não é uma dupla-hélice, mas uma molécula de fita simples. A mobilização começa quando uma proteína codificada pelo plasmídio produz uma quebra em sítio específico de uma fita simples no sítio OriT. O corte inicia a duplicação por círculo rolante, e a fita linear deslocada é direcionada para a célula receptora. A fita simples do DNA transferido é recircularizado e sua fita complementar é sintetizada. A integração de um plasmídio F no cromossomo bacteriano gera uma célula Hfr. A conjugação resulta na transferência de uma parte da sequência do plasmídio e de alguma porção do DNA cromossômico bacteriano. Devido à frágil conexão entre o contato direto das duas células, a transferência é comumente abortada antes de se completar de tal forma que somente são transferidas as sequências adjacentes ao F integrado. A interrupção artificial da conjugação da Hfr e da célula F^- foi muito útil na construção do mapa consistente do DNA cromosssômico de *E. coli*. Em tais mapas a posição de cada gene é dada em minutos (baseando-se nos 100 minutos necessários para a completa transferência a 37°C), de acordo com seu tempo de

entrada na célula receptora em relação a uma origem fixa.

Transdução

A transferência genética por transdução é mediada por vírus bacterianos (bacteriófagos), que capturam fragmentos de DNA e os colocam, de forma condensada (“empacotamento”), em partículas de bacteriófago. O DNA é liberado para a célula infectada e se torna incorporado nos genomas bacterianos. A transdução pode ser classificada como **especializada** se os fagos em questão transferem genes particulares (comumente aqueles adjacentes aos sítios de integração no genoma) ou **generalizada** se a seleção de sequências é randômica por conta de um empacotamento acidental de DNA do hospedeiro no capsídeo do fago.

As partículas de fago na transdução generalizada devem conter principalmente DNA bacteriano e pouco ou nenhum DNA do fago. Por exemplo, o fago P1 de *E. coli* codifica uma nuclease que degrada o DNA cromossômico da *E. coli* hospedeira. Uma pequena percentagem das partículas de fagos empacotam fragmentos de DNA em seus capsídeos. O DNA empacotado, ao invés do DNA do fago, é injetado em uma nova célula hospedeira, onde pode se recombinar com o DNA homólogo do hospedeiro. As partículas promotoras de transdução generalizada são muito úteis no estudo de **mapeamento genético** de cromossomos bacterianos. Quanto mais próximos estão dois genes no cromossomo bacteriano, é mais provável que estes sejam cotransduzidos no mesmo fragmento de DNA.

Recombinação

A incorporação de DNA extracromossômico (exógeno) no cromossomo ocorre por recombinação. Existem dois tipos de recombinação, homóloga e não homóloga. A **recombinação homóloga (legítima)** ocorre entre sequências de DNA estreitamente relacionadas e geralmente substituem uma sequência pela outra. O processo requer um conjunto de enzimas produzidas (em *E. coli*) pelos genes *rec*. A **recombinação não homóloga (ilegítima)** ocorre entre sequências não similares de DNA e geralmente produz inserções, deleções, ou ambos. Este processo normalmente requer enzimas de recombinação (algumas vezes, sítio-específicas), como aquelas produzidas por vários transposons e bacteriófagos lisogênicos.

Geração de *Staphylococcus aureus* Resistentes à Vancomicina por Manipulações Genéticas Múltiplas

Até pouco tempo, a vancomicina era o último recurso para o tratamento de estirpes de *S. aureus* resistentes aos beta-lactâmicos (p. ex., *S. aureus* resistentes à meticilina [MRSA]). Os *S. aureus* adquiriram o gene de resistência à vancomicina durante uma infecção mista com *Enterococcus faecalis* (Fig. 3-15). O gene para a resistência à vancomicina estava contido em um **transposon** (TN1546) em um plasmídio de multirresistência, conjugativo. O plasmídio foi transferido, provavelmente, por **conjugação** entre *E. faecalis* e *S. aureus*. Outra possibilidade é que, após lise da célula do *E. faecalis*, o *S. aureus* tenha adquirido o DNA por **transformação**. O transposon, foi transferido do plasmídio de *E. faecalis*, sendo **recombinado** e **integrado** no plasmídio de multirresistência do *S.aureus* e o DNA de *E. faecalis* foi degradado. O plasmídio de *S.aureus* resultante codifica resistência para antibióticos beta-lactâmicos, vancomicina, trimetoprim e gentamicina/kanamicina/tobramicina e para desinfetantes como amônio quaternário podendo ser trasferido por **conjugação** para outras estirpes de *S.aureus*. (Para mais informações, recorra a Weigel na bibliografia no fim do Capítulo.)

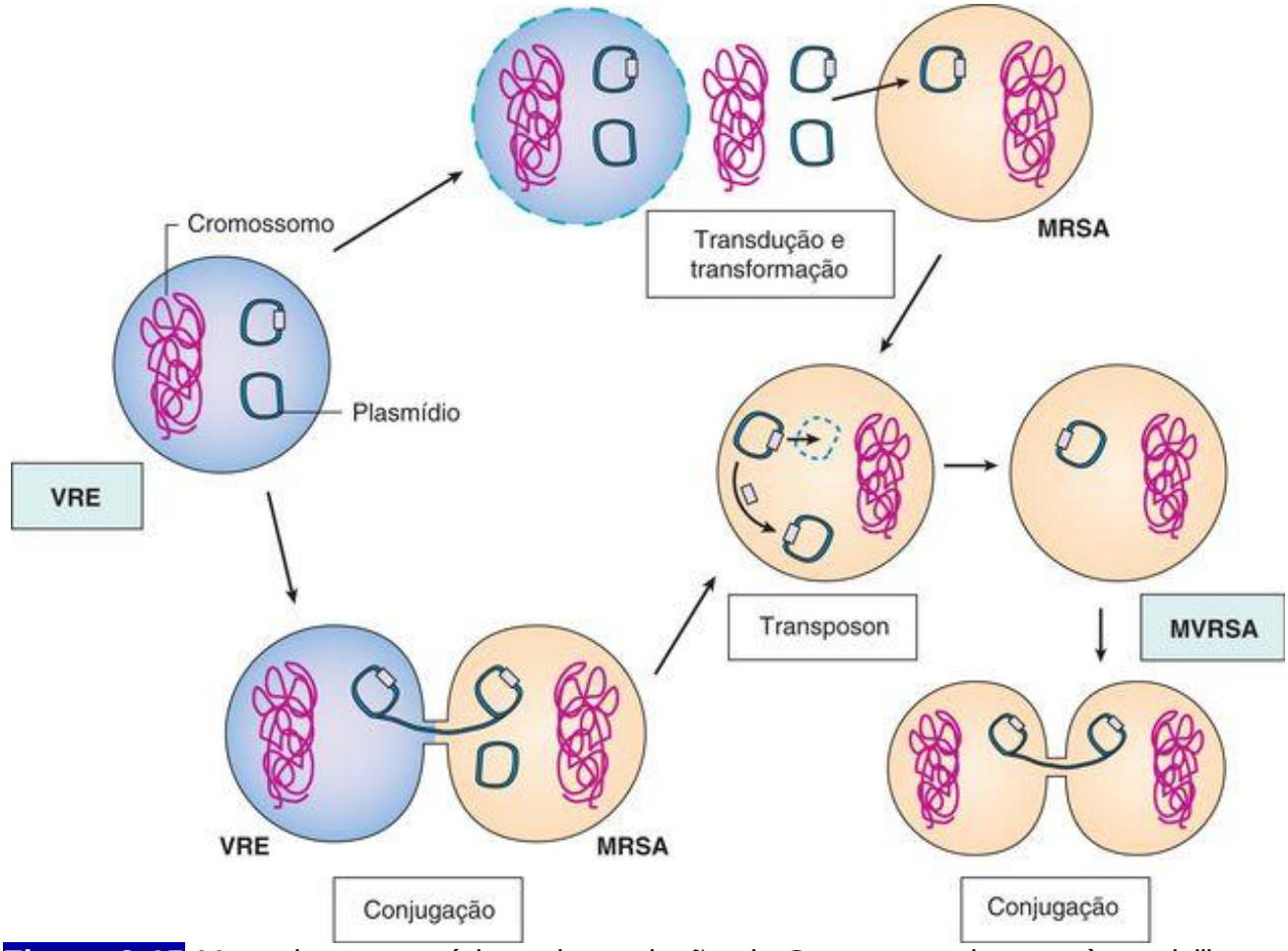
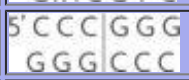


Figura 3-15 Mecanismos genéticos da evolução de *S.aureus* resitentes à meticilina e à vancomicina. Os enterococos resistentes à vancomicina (VRE) (célula azul) contêm plasmídios com múltiplos fatores de resistência a antibióticos e de virulência. Durante a coinfecção, um *Staphylococcus aureus* (MRSA) pode ter adquirido um plasmídio de resistência de enterococo (e-plasmídio) por transformação (após a lise de célula de enterococo e a liberação de seu DNA) ou, mais provavelmente, por conjugação. Um transposon no e-plasmídio contendo o gene de resistência à vancomicina se excindiu e se inseriu no plasmídio de múltipla resistência a antibióticos do MRSA. O novo plasmídio é prontamente disseminado para outros *S. aureus* por conjugação.

Engenharia Genética

A engenharia genética, também conhecida como tecnologia do DNA recombinante, emprega técnicas desenvolvidas pelos geneticistas bacterianos para purificar, amplificar, modificar e expressar sequências gênicas específicas. O uso da engenharia genética e da "clonagem" revolucionou a biologia e a medicina. Os componentes básicos da engenharia genética são: (1) **vetores de expressão e clonagem**, que podem ser utilizados para levar as sequências de DNA ao interior de bactérias receptoras e amplificar as sequências desejadas; (2) a **sequência de DNA** para ser amplificada e expressada; e (3) as **enzimas**, como as **enzimas de restrição**, que são utilizadas para clivar o DNA em sequências definidas e de forma reprodutível (Tab. 3-1) e a **DNA ligase**, a enzima que liga o fragmento de DNA ao vetor de clonagem.

Tabela 3-1 Enzimas de Restrição Comuns Utilizadas em Biologia Molecular

Microrganismo	Enzima	Sítio de Reconhecimento
Acinetobacter calcoaceticus	*Acc*I	
Bacillus amyloliquefaciens H	*Bam*HI	
Escherichia coli RY13	*Eco*RI	
Haemophilus influenzae Rd	*Hind*III	
H. influenzae sorotipo c, 1160	*Hin*cII	
Providencia stuartii 164	*Pst*I	
Serratia marcescens	*Sma*I	
Staphylococcus aureus 3A	*Sau*3AI	
Xanthomonas malvacearum	*Xma*I	

O s **vetores de clonagem e de expressão** devem permitir que o DNA exógeno seja inserido neles, mas ainda devem ser capazes de se duplicarem normalmente em hospedeiros bacterianos ou eucarióticos. Muitos tipos de vetores são de uso corrente. Os plasmídios vetores, como o pUC, pBR322 e pGEM (Fig. 3-16), são utilizados para fragmentos de DNA até 20kb. Os bacteriófagos, como o lambda, são utilizados para fragmentos maiores até 25kb. Mais recentemente, vetores **cosmídios** combinaram algumas vantagens dos plasmídios e dos fagos para fragmentos até 45kb.

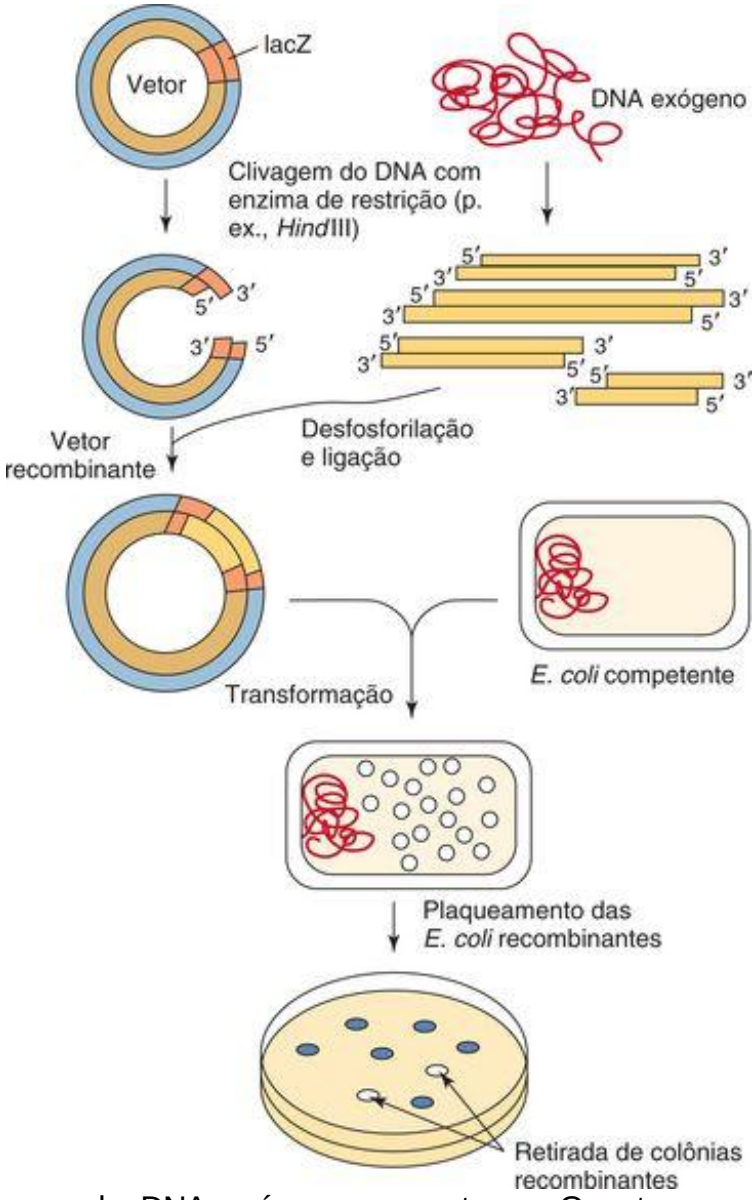


Figura 3-16 Clonagem de DNA exógeno em vetores. O vetor e o DNA exógeno são, inicialmente, digeridos por enzimas de restrição. A inserção do DNA exógeno na sequência do gene *lacZ* inativa o gene da β-galactosidase, permitindo a subsequente seleção. O vetor é ligado ao DNA exógeno, utilizando-se a DNA ligase de bacteriófago T4. Os vetores recombinantes são introduzidos, por transformação em células competentes de *E. coli*. As células de *E. coli* recombinantes são plaqueadas em agar contendo antibiótico, um indutor da operon *lac* e um substrato cromóforo que se torna azul em células contendo plasmídio mas sem inserto; as células contendo plasmídios com inserto permanecem brancas.

A maioria dos **vetores de clonagem** foi "engenheirados" para possuírem um sítio de inserção para DNA exógeno; uma forma de seleção das bactérias que incorporaram algum plasmídio (p. ex., resistência a antibiótico); e uma forma de distinguir as bactérias que incorporaram aqueles plasmídios que contêm DNA inserido. Os **vetores de expressão** têm sequências de DNA que facilitam sua replicação em células bacterianas e eucarióticas e, também, a transcrição do gene em mRNA.

O DNA para ser clonado pode ser obtido por purificação de DNA cromossômico de células, vírus ou de outros plasmídios; ou por amplificação seletiva de sequências de DNA por uma técnica conhecida como *reação em cadeia da polimerase* (PCR). (A PCR é explicada, mais adiante, no Capítulo 16). Tanto o vetor quanto o DNA exógeno são clivados por enzimas de restrição (Fig. 3-16.) As enzimas de restrição reconhecem sequências palindrômicas específicas e fazem um corte defasado, gerando extremidades coesivas (aderentes), ou um corte reto que gera extremidades "cegas" (não coesivas) (Tab. 3-1). A maioria dos vetores de clonagem possui sequências chamadas de **sítio de clonagem múltipla** ("polilinker") que

podem ser cortadas por várias enzimas de restrição. A ligação do vetor com os fragmentos de DNA gera uma molécula chamada de **DNA recombinante** que é capaz de replicar a sequência inserida. O número total de vetores recombinantes obtidos quando clonamos todos os fragmentos que resultam da clivagem do DNA cromossômico é conhecido como **biblioteca genômica**, porque deve haver, no mínimo, um representante de cada gene na biblioteca. Uma abordagem alternativa na clonagem de um gene para uma proteína é converter o mRNA (que codifica para a proteína) em DNA se utilizando uma enzima de retrovírus chamada de *transcriptase reversa* (DNA-polimerase dependente de RNA) para produzir um DNA complementar (cDNA). Uma **biblioteca de cDNA** representa os genes que são expressados como mRNA em uma determinada célula.

O DNA recombinante é, então, introduzido via transformação de hospedeiro bacteriano, comumente, *E. coli*, e as bactérias contendo o plasmídio são selecionadas pela resistência a antibióticos (por exemplo, resistência à ampicilina). A biblioteca pode ser vasculhada para se encontrar um clone de *E. coli* possuindo o fragmento de DNA pretendido. Várias técnicas de busca podem ser empregadas para identificar a bactéria contendo o DNA recombinante apropriado. O segmento com múltiplos sítios de clonagem utilizável para a inserção de DNA exógeno é frequentemente parte do gene *lac*Z do operon *lac*. A inserção de um DNA exógeno dentro da sequência do gene *lac*Z inativa o gene (agindo quase como um transposon) e impede, na célula receptora, a síntese de β-galactosidase dirigida pelo plasmídio, o que resulta em colônias brancas ao invés de colônias azuis, que apareceriam se a β-galactosidase pudesse clivar um cromóforo apropriado.

A engenharia genética tem sido utilizada para o isolamento e expressão de genes para proteínas úteis como a insulina, o interferon, hormônios do crescimento e interleucinas, em bactérias, leveduras ou mesmo em células de insetos. Grandes quantidades de imunógenos puros para vacinas podem ser preparados sem a necessidade de trabalhar com organismos íntegros.

O desenvolvimento de uma vacina contra o vírus da hepatite B representa o primeiro sucesso de vacinas por DNA recombinante aprovada para uso em humanos pela “U.S. Food and Drug Administration” (órgão público americano de controle de medicamentos e alimentos). O antígeno de superfície do vírus da hepatite B é produzido pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. No futuro pode ser que seja suficiente injetar um DNA plasmidial capaz de expressar o imunógeno pretendido (vacina de DNA) em um indivíduo para deixar as células do hospedeiro expressarem o imunógeno e gerarem a resposta imune. A tecnologia do DNA recombinante se tornou, também, essencial para o diagnóstico laboratorial, para a ciência forense, agricultura e muitas outras disciplinas.

Questões

1. Quantos moles de ATP são gerados por mol de glicose na glicólise, no ciclo ATC e no transporte de elétrons? Quais destes ocorrem em condições de anaerobiose e em condições de aerobiose? Qual é o mais eficiente?

1. Glicólise: Durante a fermentação são produzidos 2 moles de ATP e 2 NADH.

Ciclo ATC: são produzidos 2 moles de GTP (equivalente ao ATP) mais $FADH_2$ e 6NADH, os quais são utilizados no sistema de transporte de elétrons.

Transporte de elétrons: o $FADH_2$ e o 6NADH do ciclo ATC geram 24 moles de ATP; e os 2 NADH a partir da glicólise geram 8 moles de ATP totalizando 38 moles de ATP.

Condições anaeróbicas: a glicólise pode ocorrer em condições anaeróbicas em um processo denominado fermentação; o qual não é um processo eficiente.

Condições aeróbicas: a glicólise, o ciclo ATC e o transporte de elétrons ocorrem em condições aeróbicas. Este é o processo mais eficiente para conversão de glicose em energia.

2. Que produtos da fermentação anaeróbica podem ser prejudiciais para os tecidos do hospedeiro (humano) (p. ex., *C. perfringens*)?

2. A fermentação anaeróbica produz ácidos, dióxido de carbono e. algumas vezes, metano. A ação deletéria destes produtos pode ser observada na gangrena gasosa.

3. Se o número de bactérias durante a fase log de crescimento pode ser calculado pela seguinte equação:

$$N_t = N_0 \times 2^{t/d}$$

Na qual N_t é o número de bactérias após o tempo (t), t/d é o valor de tempo dividido pelo tempo de duplicação e N_0 é o número inicial de bactérias, quantas bactérias estarão na cultura após 4 horas se o tempo de duplicação é de 20 minutos e o inóculo de bactérias inicial continha 1.000 bactérias?

3. $N_t = N_0 \times 2^{t/d}$

onde N_t é o número de bactérias após determinado tempo (t), t/d é o tempo dividido pelo tempo de duplicação, e N_0 é o número inicial de bactérias; quantas bactérias existirão na cultura após 4 horas se o tempo de duplicação for 20 minutos e o inóculo bacteriano for de 1.000 bactérias?

$$N_t = 1.000 \times 2^{240\text{min}/\ 20\text{min}}$$
$$N_t = 1.000 \times 2^{12}$$
$$N_t = 1.000 \times 4.096$$
$$N_t = 4.096.000$$

4. Quais são as principais propriedades de um plasmídio?

4. Plasmídio é constituído de DNA extracromossomal, circular, que possui uma origem de replicação (permite replicação autônoma) e frequentemente contém genes que codificam para: resistência aos antibióticos, metabolismo de moléculas atípicas (p. ex., em Pseudomonas) e para virulência.

5. Forneça dois mecanismos de regulação da expressão de genes bacterianos. Use exemplos específicos.

5. Repressão: uma molécula repressora liga-se ao operon da lactose evitando a expressão gênica a menos que a lactose esteja presente no meio. A ligação da molécula de lactose ao repressor faz com que o mesmo se dissocie do DNA permitindo a expressão gênica.

Indução: a proteína catabólica ativadora de gene (CAP) liga-se ao AMPc formando um complexo de atividade aumentada. O AMPc é produzido quando os níveis de glicose estão diminuídos, o que indica algum problema metabólico. Isto aumentaria a expressão do operon da lactose na presença de galactose.

Atenuação: a translação de determinada proteína pode regular a transcrição do gene, visto que não existe membrana nuclear para separar estes processos. Um aumento de triptofânio dentro da célula determinará a taxa de síntese de um determinado mRNA e o peptídeo, os quais determinarão se o mRNA irá adquirir uma configuração de anel "hairpin". A configuração de anel "hairpin" irá parar a transcrição.

6. Que tipos de mutações afetam o DNA e que agentes são responsáveis por tais mutações?

6. Tipos de mutação:

Transição = troca de uma purina por outra purina

Transversão = troca de pirimidina por purina

"Missense": alteração em aminoácido da proteína.

"Nonsense": mudança de códon com a inserção de um códon de terminação.

"Frameshift": inserção ou deleção de 1 ou 2 nucleotídeos, o que irá alterar o quadro de leitura.

Nula: elimina a função proteica (assim como nas mutações "nonsense" e "frameshift").

Agentes:

Substâncias químicas ativas contra DNA: causam alteração na estrutura química das bases nuleotídicas.

Mutagênicos "frameshift": moléculas (como brometo de etídio) que se intercalam no DNA mudando a sequência como as bases pareiam dentro da dupla hélice.

Análogos das bases nucleotídicas: causam leitura errada do gene

Radiação: produz radicais livres que alteram a estrutura química das bases nucleotídicas

Luz ultravioleta (UV): causa a formação de dímeros de timidina

7. Que mecanismos podem ser utilizados pelas células bacterianas para a transferência de material genético. Explique, sumariamente, tais mecanismos.

7. Transformação: aquisição de DNA do espaço extracelular. O DNA adquirido se torna parte da cromatina.

Transdução: infecção por um bacteriófago o qual possui DNA adquirido de outra bactéria.

Conjugação: transferência de DNA diretamente entre células bacterianas via pili sexual.

Trasposição: aquisição de tranposon o qual se insere no coromossomo.

8. Discuta as aplicações da biotecnologia molecular para a medicina, incluindo usos no diagnóstico.

8. A engenharia genética tem sido utilizada como ferramenta para isolamento de genes de hormônios (p. ex., hormônio do crescimento e insulina), de genes virais para vacinas (vírus da hepatite B), de genes de citocinas (interferon alfa, interferon gama) etc. Estes genes podem ser clonados em plasmídeos e expressos em grandes quantidades para produzir proteínas como medicamentos. Além disso, vacinas de DNA têm sido produzidas de forma que os genes virais (ou outros genes) são introduzidos em plasmídeos, os quais podem ser expressos dentro de células de mamíferos. A expressão destes genes e suas proteínas na pessoa vacinada levará ao desenvolvimento da ativação da resposta imune.

Bibliografia

Alberts B. Molecular Biology of the Cell, 4th ed. New York: Garland, 2002.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemistry, 6th ed. New York: WH Freeman, 2006.

Lewin B. Genes IX. Sudbury, Mass: Jones and Bartlett, 2007.

Lodish H, et al. Molecular Cell Biology, 6th ed. New York: WH Freeman, 2007.

Nelson DL, Cox M. Lehninger Principles of Biochemistry, 4th ed. New York: Worth, 2004.

Patel SS, Rosenthal KS. Microbial adaptation: Putting the best team on the field. *Infect Dis Clin Pract*. 2007;15:330-334.

Watson JD, et al. Molecular Biology of the Gene, 4th ed. Menlo Park, Calif: Benjamin-Cummings, 1987.

Weigel LM, et al. Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of Staphylococcus aureus. *Science*. 2003;302:1569-1571.

4 Classificação, Estrutura e Replicação dos Vírus

Os vírus foram primeiramente descritos como “agentes filtráveis”. Seu pequeno tamanho permite sua passagem através de filtros projetados para reter bactérias. Diferente da maioria das bactérias, fungos e parasitas, **os vírus são parasitas intracelulares** obrigatórios, que dependem da maquinaria bioquímica da célula hospedeira para sua replicação. Além disso, *a reprodução dos vírus ocorre pela montagem de componentes individuais e não por fissão binária* (Quadros 4-1 e 4-2).

Quadro 4-1 Definição e Propriedades de um Vírus

Os vírus são agentes filtráveis.

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios.

Os vírus não podem produzir energia ou proteínas independentemente de uma célula hospedeira.

Os genomas virais podem ser RNA ou DNA, mas não ambos.

Os vírus possuem uma morfologia de capsídeo desnudo ou de envelope.

Os componentes virais são montados e não se replicam por “divisão”.

Quadro 4-2 Consequências das Propriedades Virais

Os vírus não são vivos.

Os vírus devem ser infecciosos para permanecerem na natureza.

Os vírus devem ser capazes de usar processos da célula hospedeira para produzir seus componentes (RNA mensageiro viral, proteína e cópias idênticas do genoma).

Os vírus devem codificar qualquer processo requerido não fornecido pela célula.

Os componentes virais devem montar a si próprios.

Os vírus mais simples consistem em um genoma de ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA) empacotado em um envoltório protetor de proteínas e, em alguns vírus, uma membrana (Fig. 4-1). Os vírus não são capazes de produzir energia ou substratos, não podem sintetizar suas próprias proteínas e não conseguem replicar seu genoma independentemente da célula hospedeira. Para usar a maquinaria de biossíntese celular, os vírus devem estar adaptados às regras bioquímicas da célula.

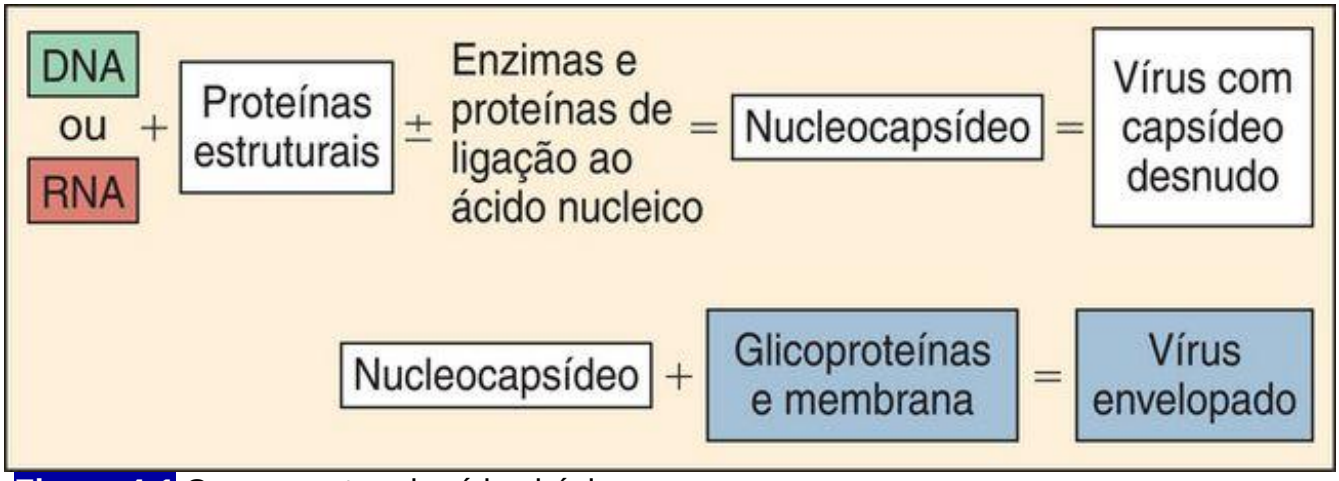


Figura 4-1 Componentes do vírion básico.

A estrutura física e genética dos vírus foram otimizadas por mutação e seleção para infectar seres humanos e outros hospedeiros. Para fazer isto, os vírus devem ser capazes de realizar sua transmissão através de condições ambientais potencialmente severas, devem atravessar a pele ou outras barreiras protetoras do hospedeiro, devem estar adaptados à maquinaria bioquímica da célula hospedeira para a sua replicação, e devem escapar da eliminação pela resposta imune hospedeira.

O conhecimento das características estruturais (tamanho e morfologia) e genéticas (tipo e estrutura do ácido nucleico) de um vírus fornece uma compreensão de como ele se replica, dissemina e causa doença. Os conceitos apresentados neste capítulo são repetidos com mais detalhes nas discussões de vírus específicos em capítulos à frente.

Classificação

Os vírus variam de pequenos e estruturalmente simples, parvovírus e picornavírus, até os grandes e complexos poxvírus e herpesvírus. Seus nomes podem descrever as características virais, as doenças às quais estão associados ou mesmo o tecido ou a localização geográfica onde foram identificados pela primeira vez. Nomes como **picornavírus** (*pico*, "pequeno"; *rna*, "ácido ribonucleico") ou **togavírus** (*toga*, que significa "manto" em grego, referindo-se ao envelope de membrana que envolve o vírus) descrevem a estrutura do vírus. O nome **retrovírus** (*retro*, "reverso") refere-se à síntese de DNA a partir de um molde de RNA dirigida pelo vírus, enquanto os *poxvírus* têm o nome da doença (*smallpox*, varíola), causada por um de seus membros. Os **adenovírus** (*adeno*ides) e os **reovírus** (*r*espiratório, *e*ntérico, *ó*rfão) são denominados pela parte do corpo onde eles foram isolados pela primeira vez. O reovírus foi descoberto antes da sua associação a uma doença específica, sendo então designado como vírus "órfão". O vírus Norwalk leva o nome de Norwalk, Ohio; o coxsackievírus leva o nome de Coxsackie, Nova York; e muitos dos togavírus, arenavírus e bunyavírus são denominados de acordo com os lugares da África em que foram isolados pela primeira vez.

Os vírus podem ser agrupados por características como a doença (p. ex., hepatite), o tecido-alvo, o meio de transmissão (p. ex., entérico, respiratório) ou pelo vetor (p. ex., arbovírus; vírus transportado por artrópode) (Quadro 4-3). *A forma de classificação mais consistente e atual é baseada em características bioquímicas e físicas, tais como tamanho, morfologia (p. ex., presença ou ausência de envelope de membrana), tipo de genoma e formas de replicação* (Figs. 4-2 e 4-3). Os vírus DNA associados a doenças humanas são divididos em sete famílias (Tabs. 4-1 e 4-2). Os vírus RNA podem ser divididos em pelo menos 13 famílias (Tabs. 4-3 e 4-4).

Quadro 4-3 Formas de Classificação e Denominação dos Vírus

Estrutura: tamanho, morfologia e ácido nucleico (p. ex., picornavírus [pequeno RNA], togavírus)

Características bioquímicas: estrutura e forma de replicação*

Doença: vírus da encefalite e da hepatite, por exemplo

Formas de transmissão: disseminação de arbovírus por insetos, por exemplo

Célula hospedeira (espectro de hospedeiro): animal (ser humano, camundongo, ave), planta, bactéria

Tecido ou órgão (tropismo): adenovírus e enterovírus, por exemplo

* *Esta é a forma corrente da classificação taxonômica dos vírus.*

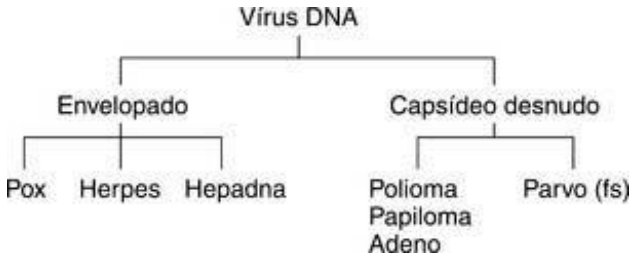


Figura 4-2 Os vírus DNA e sua morfologia. As famílias virais são determinadas pela estrutura do genoma e pela morfologia do vírion.

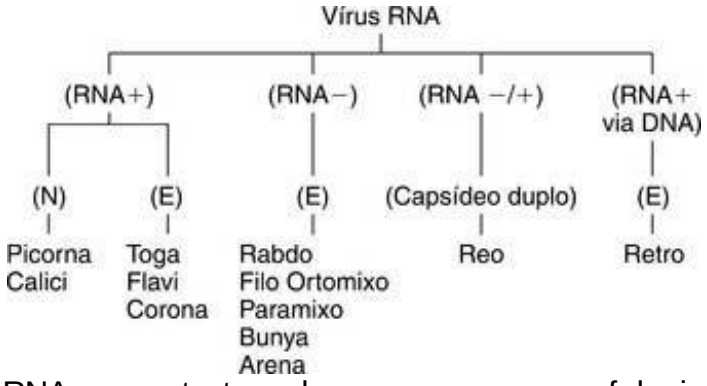


Figura 4-3 Os vírus RNA, sua estrutura de genoma e sua morfologia. As famílias virais são determinadas pela estrutura do genoma e pela morfologia do vírion. E, envelopado; N, capsídeo desnudo.

Tabela 4-1 Famílias de Vírus DNA e Alguns Membros Importantes

Família	Membros*
POXVIRIDAE†	*Vírus da varíola*, vírus da vacínia, vírus da varíola do macaco, molusco contagioso
Herpesviridae	*Vírus herpes simples* tipos 1 e 2, vírus varicela-zóster, vírus Epstein-Barr, citomegalovírus, herpesvírus humanos 6, 7 e 8.
Adenoviridae	Adenovírus
Papilloma viridae	Papilomavírus
Polyoma viridae	*Vírus JC*, vírus BK, SV40
Hepadnaviridae	Vírus da hepatite B
Parvoviridae	*Parvovírus B19*, vírus adeno-associado

* *O vírus em itálico é o vírus importante ou protótipo da família*.

† *O tamanho da fonte é indicativo do tamanho relativo do vírus*.

Tabela 4-2 Propriedades dos Vírions de Vírus DNA Humanos

Tabela 4-2. Propriedades dos Vírions de Vírus DNA Humanos

	Genoma*			Vírion	
Família	**Massa Molecular × 10^6 Daltons**	**Natureza**	**Forma**	**Tamanho (nm)**	**DNA Polimerase†**
Poxviridae	85-140	fd, linear	Forma de tijolo, envelopado	300 × 240 × 100	+‡
Herpesviridae	100-150	fd, linear	Icosaédrico, envelopado	Capsídeo, 100-110 Envelope, 120-200	+
Adenoviridae	20-25	fd, linear	Icosaédrico	70-90	+
Hepadnaviridae	1,8	fd, circular§	Esférico, envelopado	42	+‖
Polyoma e papillomaviridae	3-5	fd, circular	Icosaédrico	45-55	–
Parvoviridae	1,5-2,0	fs, linear	Icosaédrico	18-26	–

fd, Fita dupla; fs, fita simples.
**O genoma é invariavelmente uma única molécula.*
†Polimerase codificada pelo vírus.
‡Polimerase carreada no vírion.
§A molécula circular é fita dupla na maior parte da sua extensão, mas contém uma região de fita simples.
‖Transcriptase reversa.

Tabela 4-3 Famílias de Vírus RNA e Alguns Membros Importantes

Família†	Membros*
PARAMYXOVIRIDAE	Vírus parainfluenza, vírus Sendai, *vírus do sarampo*, vírus da caxumba, vírus sincicial respiratório, metapneumovírus
ORTHOMYXOVIRIDAE	*Vírus influenza* tipos A, B e C
CORONAVIRIDAE	*Coronavírus*, SARS (síndrome respiratória aguda severa)
Arenaviridae	*Vírus da febre de Lassa*, complexo de vírus Tacaribe (vírus Junino e Machupo), vírus da coriomeningite linfocítica
Rhabdoviridae	*Vírus da raiva*, vírus da estomatite vesicular
Filoviridae	*Vírus Ebola*, vírus Marburg
Bunyaviridae	*Vírus da encefalite da Califórnia*, vírus La Crosse, vírus da febre do mosquito pólvora, vírus da febre hemorrágica, hantavírus
Retroviridae	Vírus da leucemia de célula T humana tipos I e II, *vírus da imunodeficiência humana*, oncovírus animais
Reoviridae	*Rotavírus*, vírus da febre do carrapato do Colorado
Picornaviridae	Rinovírus, *poliovírus*, ecovírus, coxsackievírus, vírus da hepatite A
Togaviridae	*Vírus da rubéola*, vírus da encefalite equina do oeste, do leste e venezuelana, vírus do Rio Ross, vírus Sindbis, vírus da Floresta Semliki
Flaviviridae	*Vírus da febre amarela*, vírus da dengue, vírus da encefalite de Saint Louis, vírus do oeste do Nilo, vírus da hepatite C
Caliciviridae	*Vírus Norwalk*, calicivírus
Delta	Agente Delta

***** *O vírus em itálico é o vírus importante, ou protótipo, da família.*

† *O tamanho da fonte é indicativo do tamanho relativo do vírus.*

Tabela 4-4 Propriedades dos Vírions de Vírus RNA Humanos

Tabela 4-4. Propriedades dos Vírions de Vírus RNA Humanos

	Genoma*			Vírion		
Família	**Massa Molecular × 10^6 Daltons**	**Natureza**	**Forma***	**Tamanho (nm)**	**Polimerase no Vírion**	**Envelope**
Paramyxoviridae	5-7	fs, −	Esférico	150-300	+	+
Orthomyxoviridae	5-7	fs, −, seg	Esférico	80-120	+	+
Coronaviridae	6-7	fs, +	Esférico	80-130	−	+[†]
Arenaviridae	3-5	fs, −, seg	Esférico	50-300	+	+[†]
Rhabdoviridae	4-7	fs, −	Forma de bala	180 x 75	+	+
Filoviridae	4-7	fs, −	Filamentoso	800 x 80	+	+
Bunyaviridae	4-7	fs, −	Esférico	90-100	+	+[†]
Retroviridae	2 × (2-3)[‡]	fs, +	Esférico	80-110	+[§]	+
Reoviridae	11-15	fd, seg	Icosaédrico	60-80	+	−
Picornaviridae	2,5	fs, +	Icosaédrico	25-30	−	−
Togaviridae	4-5	fs, +	Icosaédrico	60-70	−	+
Flaviviridae	4-7	fs, +	Esférico	40-50	−	+
Caliciviridae	2,6	fs, +	Icosaédrico	35-40	−	−

fd, Fita dupla; seg, segmentado; fs, fita simples; + ou −, polaridade do ácido nucleico de fita simples.
**Alguns vírus envelopados são muito pleomórficos (às vezes, filamentosos).*
[†]Sem proteína de matriz.
[‡]O genoma possui duas moléculas de RNA de fita simples idênticas.
[§]Transcriptase reversa.

Estrutura do Vírion

As unidades de medida para o tamanho de um vírion são os nanômetros (nm). Os vírus clinicamente importantes variam de 18 nm (parvovírus) a 300 nm (poxvírus) (Fig. 4-4). Os últimos são quase visíveis em um microscópio óptico e têm aproximadamente um quarto do tamanho da bactéria *Staphylococcus*. *Os vírions maiores podem abrigar um genoma maior, que pode codificar mais proteínas, e geralmente são mais complexos*.

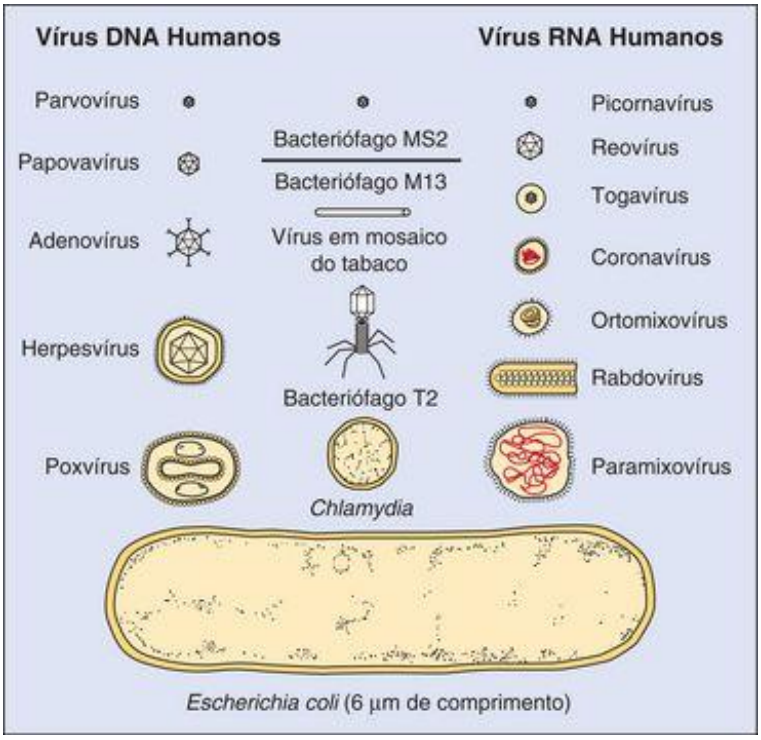


Figura 4-4 Tamanhos relativos de vírus e bactérias.

(Cortesia de Upjohn Company, Kalamazoo, Mich.)

O **vírion** (partícula do vírus) consiste em um **genoma** de ácido nucleico empacotado em um envoltório proteico (**capsídeo**) ou uma membrana (**envelope**) (Fig. 4-5). O vírion também deve conter algumas enzimas essenciais ou acessórias ou outras proteínas para facilitar a replicação inicial dentro da célula. Proteínas do capsídeo ou ligadas ao ácido nucleico associam-se ao genoma para formar um nucleocapsídeo, que pode ser o mesmo que o vírion ou envolto por um envelope.

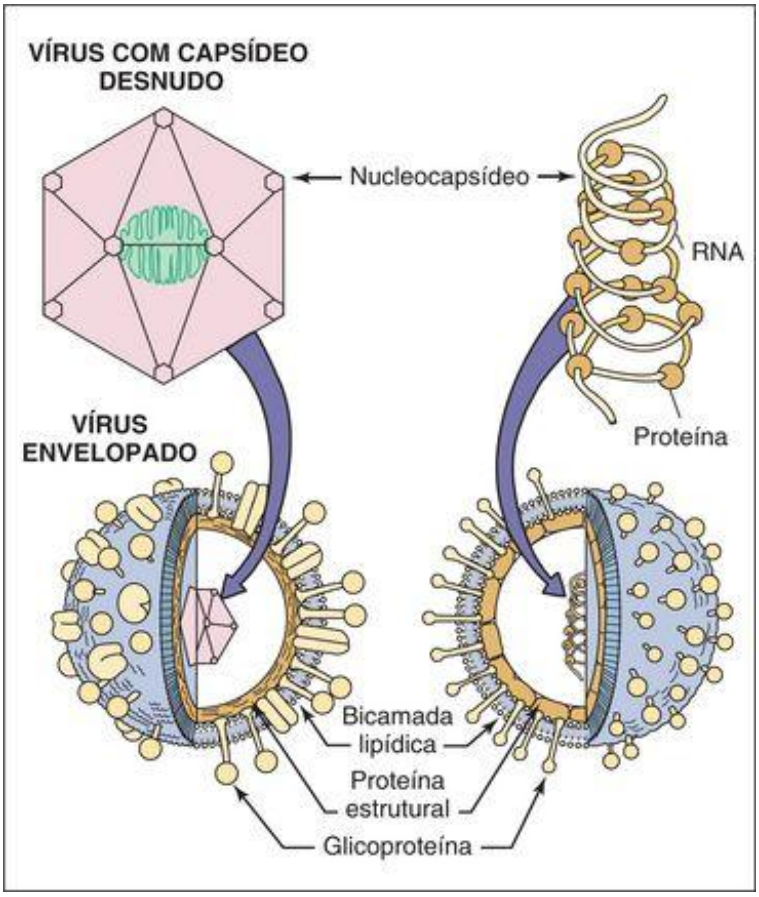


Figura 4-5 As estruturas de um vírus com capsídeo desnudo (*acima, à esquerda*) e de vírus envelopados com um nucleocapsídeo icosaédrico (*esquerda*) ou um ribonucleocapsídeo helicoidal (*direita*). O ribonucleocapsídeo helicoidal é formado por proteínas virais associadas a um genoma de RNA.

O genoma do vírus consiste em DNA ou RNA. O DNA pode ser de fita simples ou dupla, linear ou circular. O RNA pode ser de sentido positivo (+) (como RNA mensageiro [mRNA]) ou negativo (−) (análogo a um negativo fotográfico), fita dupla (+/−) ou de duplo sentido (contendo regiões de RNA + e − ligadas pela extremidade). O genoma de RNA também pode ser segmentado em fragmentos, com cada fragmento codificando um ou mais genes. Assim como há muitos tipos diferentes de dispositivos de memória para computador, todas estas formas de ácido nucleico podem manter e transmitir a informação genética do vírus. Similarmente, quanto maior o genoma, mais informação (genes) pode ser carreada e maior é a estrutura do capsídeo ou do envelope necessária para conter o genoma.

A camada externa do vírion é o **capsídeo** ou o **envelope**. Estas estruturas são o pacote, a proteção e o veículo de liberação durante a transmissão do vírus de um hospedeiro para outro e para disseminação para a célula-alvo dentro do hospedeiro. As estruturas de superfície do capsídeo e do envelope medeiam a interação do vírus com a célula-alvo através da estrutura ou **proteína de fixação viral (VAP)**. A remoção ou o rompimento da camada externa inativa o vírus. Os anticorpos gerados contra os componentes destas estruturas impedem a infecção viral.

O **capsídeo** é uma estrutura rígida capaz de resistir a severas condições ambientais. Os vírus com capsídeos sem cobertura são geralmente resistentes ao ressecamento, ao ácido e a detergentes, incluindo o ácido e a bile do trato entérico. Muitos destes vírus são transmitidos por via fecal-oral e podem preservar a capacidade de transmissão mesmo no esgoto.

O **envelope** é uma membrana composta de lipídeos, proteínas e glicoproteínas. A estrutura membranosa do envelope pode ser mantida apenas em soluções aquosas. É prontamente rompida por ressecamento, condições ácidas, detergentes e solventes como o éter, resultando na inativação do vírus. Como consequência, os vírus envelopados devem permanecer úmidos e são geralmente transmitidos através de fluidos, perdigotos, sangue e tecidos. A maioria não consegue sobreviver nas condições adversas do trato gastrointestinal. A influência da estrutura do vírion nas propriedades virais está resumida nos Quadros 4-4 e 4-

5.

Quadro 4-4 Estrutura do Vírion: Capsídeo Desnudo

Componente

Proteína

Propriedades*

É ambientalmente estável a:

- Temperatura
- Ácido
- Proteases
- Detergentes
- Ressecamento

É liberado da célula por lise

Consequências*

Pode ser facilmente disseminado (por fômites, contato manual, poeira ou gotículas)

Pode ressecar e manter a infectividade

Pode sobreviver às condições adversas do intestino

Pode ser resistente a detergentes e tratamento pobre de detritos

Os anticorpos podem ser suficientes para a imunoproteção

* *Existem exceções*.

Quadro 4-5 Estrutura do Vírion: Envelope

Componentes

Membrana

Lipídeos

Proteínas

Glicoproteínas

Propriedades*

É ambientalmente instável – é rompido por:

- Ácido
- Detergentes
- Ressecamento
- Calor

Modifica a membrana celular durante a replicação

É liberado por brotamento e lise celular

Consequências*

Deve permanecer úmido

Não consegue sobreviver no trato gastrointestinal

É disseminado em grandes gotas, secreções, transplantes de órgãos e transfusões sanguíneas

Não precisa matar a célula para se disseminar

Pode necessitar de resposta imune mediada por células e anticorpos para proteção e controle

Desencadeia hipersensibilidade e inflamação para causar imunopatogênese

* *Existem exceções.*

Vírus com Capsídeo

O capsídeo viral é montado a partir de proteínas individuais associadas em unidades progressivamente maiores. Todos os componentes do capsídeo possuem propriedades químicas que permitem seu encaixe e montagem em uma unidade maior. Proteínas estruturais individuais se associam em **subunidades**, as quais se associam em **protômeros, capsômeros** (distinguíveis em eletromicrografias) e, finalmente, um **procapsídeo** ou **capsídeo** reconhecível (Fig. 4-6). Um procapsídeo requer um processamento adicional para tornar-se o capsídeo final e transmissível. Para alguns vírus, o capsídeo se forma em volta do genoma; para outros, o capsídeo se forma como uma concha vazia (procapsídeo) a ser preenchida pelo genoma.

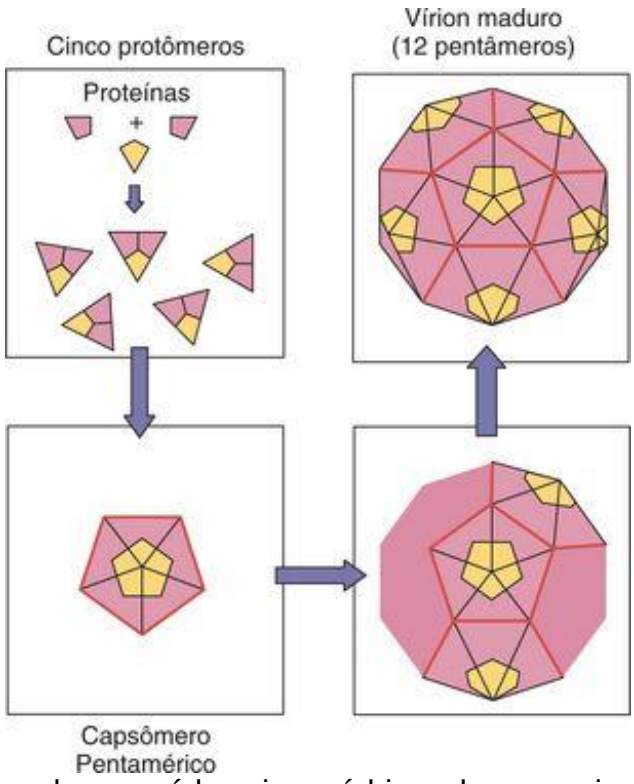


Figura 4-6 Montagem do capsídeo icosaédrico de um picornavírus. As proteínas individuais associam-se em subunidades, que se associam em protômeros, capsômeros, e em um procapsídeo vazio. A inclusão do genoma RNA (+) leva à sua conversão para a forma final do capsídeo.

As estruturas virais mais simples que podem ser construídas passo a passo são simétricas e incluem estruturas helicoidais e icosaédricas. As estruturas helicoidais aparecem como bastões, enquanto o icosaedro é uma aproximação de uma esfera montada a partir de subunidades simétricas (Fig. 4-7). Os capsídeos assimétricos são formas complexas e estão associados a alguns vírus bacterianos (fagos).

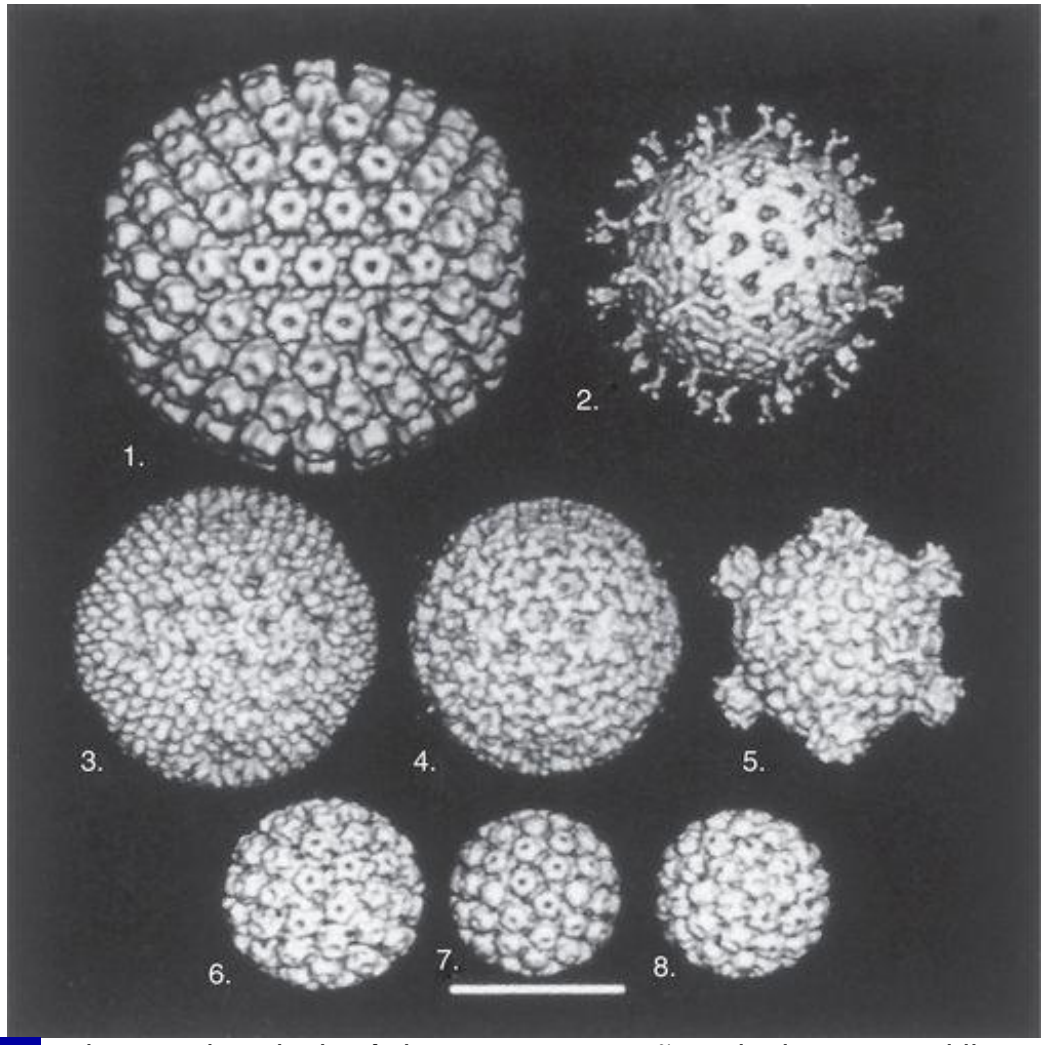


Figura 4-7 Microscopia crioeletrônica e reconstruções de imagens tridimensionais de vários capsídeos icosaédricos, geradas por computador. Estas imagens mostram a simetria dos capsídeos e dos capsômeros individuais. Durante a montagem, o genoma deve preencher o capsídeo através dos orifícios dos capsômeros do herpesvírus e papovavírus. *1*, Nucleocapsídeo de herpesvírus equino; *2*, rotavírus símio; *3*, vírion de reovírus tipo 1 (Lang); *4*, partícula subviral intermediária (reovírus); *5*, partícula (reovírus) do cerne (capsídeo interno); *6*, papilomavírus humano tipo 19; *7*, poliomavírus de camundongo; *8*, vírus em mosaico da couve-flor. Barra = 50 nm.

(Cortesia do Dr. Tim Baker, Purdue University, West Lafayette, Ind.)

O exemplo clássico de um vírus com simetria helicoidal é o do mosaico da planta do tabaco. O vírus monta seus capsômeros no RNA em bastões que se estendem pelo comprimento do genoma. Os capsômeros envolvem e protegem o RNA. Os nucleocapsídeos helicoidais são observados dentro do envelope da maioria dos vírus RNA de fita negativa (Fig. 58-1).

Os **icosaedros** simples são utilizados por vírus pequenos, como os picornavírus e os parvovírus. O icosaedro é constituído de 12 capsômeros, cada qual com simetria de cinco lados (**pentâmero** ou **penton**). Nos picornavírus, todo pentâmero é constituído de cinco protômeros, cada um composto de três subunidades de quatro proteínas separadas (Fig. 4-6). A cristalografia por raios X e a análise de imagem da microscopia crioeletrônica definiram a estrutura do capsídeo do picornavírus em nível molecular. Estes estudos mostraram uma fenda similar a um cânion, que é um "sítio de ancoragem" para se ligar ao receptor na superfície da célula-alvo (Fig. 56-2).

Os vírions com capsídeos maiores são construídos pela inserção de capsômeros estruturalmente distintos entre os pentons nos vértices. Estes capsômeros possuem seis vizinhos próximos (**hexons**). Isto aumenta o icosaedro e é chamado de **icosadeltaedro**, e seu tamanho é determinado pelo número de hexons inseridos ao longo das bordas e dentro das

superfícies entre os pentons. *Uma bola de futebol é um icosadeltaedro*. Por exemplo, o nucleocapsídeo do herpesvírus tem 12 pentons e 150 hexons. O nucleocapsídeo do herpesvírus também é envolto por um envelope. O capsídeo do adenovírus é composto de 252 capsômeros, com 12 pentons e 240 hexons. Uma fibra longa ligada a cada penton do adenovírus serve como proteína de fixação viral (VAP), para ligar as células-alvo, e também contém o antígeno tipo-específico (Fig. 52-1). Os reovírus têm um capsídeo icosaédrico duplo com proteínas semelhantes a fibras parcialmente estendidas a partir de cada vértice. O capsídeo externo protege o vírus e promove sua captação através do trato gastrointestinal e para dentro das células-alvo, enquanto o capsídeo interno contém enzimas para a síntese do RNA (Figs. 4-7 e 61-2).

Vírus Envelopados

O envelope do vírion é composto de lipídeos, proteínas e glicoproteínas (Fig. 4-5 e Quadro 4-5). Possui uma estrutura de membrana similar às membranas celulares. As proteínas celulares são raramente encontradas no envelope viral, mesmo que este tenha sido obtido de membranas celulares. A maioria dos vírus envelopados é redonda ou pleomórfica (Figs. 4-2 e 4-3 para a listagem completa dos vírus envelopados). Duas exceções são o poxvírus, que possui uma estrutura interna complexa e uma estrutura externa parecida com um tijolo, e o rabdovírus, que tem o formato de uma bala.

A maioria das glicoproteínas virais possui carboidratos ligados a asparagina (*N*-ligados) e estende-se através do envelope e para fora da superfície do vírion. Em muitos vírus, aparecem como espículas (Fig. 4-8). A maioria das glicoproteínas age como **VAPs**, capazes de se ligar a estruturas nas células-alvo. As VAPs que também se ligam eritrócitos são chamadas **hemaglutininas (HAs)**. Algumas glicoproteínas possuem outras funções, como a neuraminidase dos ortomixovírus (influenza) e os receptores Fc e C3b associados às glicoproteínas do vírus herpes simples, ou as glicoproteínas de fusão dos paramixovírus. As glicoproteínas, especialmente a VAP, também são os principais antígenos que desencadeiam a imunidade protetora.

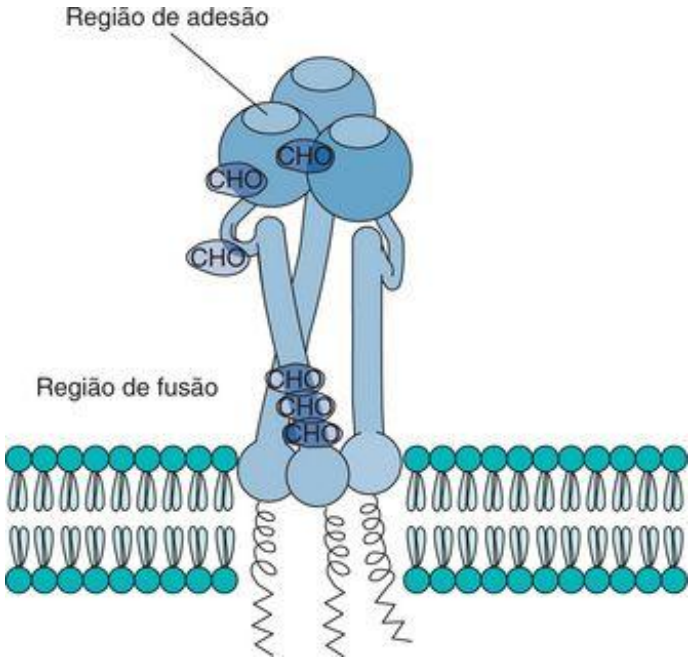


Figura 4-8 Diagrama do trímero da glicoproteína hemaglutinina do vírus influenza A, uma proteína representativa de espícula. A região de adesão ao receptor celular é exposta na superfície da proteína da espícula. Sob condições moderadamente ácidas, a hemaglutinina altera sua conformação para expor uma sequência hidrofóbica na "região de fusão". CHO, sítios de fixação de carboidrato ligado ao *N*.

(Modificado de Schlesinger MJ, Schlesinger S: Domains of virus glycoproteins. Adv Virus Res 33:1-44, 1987.)

O envelope dos togavírus envolve um nucleocapsídeo icosaédrico contendo um genoma RNA de fita positiva. O envelope contém espículas que consistem em duas ou três subunidades de glicoproteína ancoradas ao capsídeo icosaédrico do vírion. Isto permite ao envelope aderir firmemente e moldar-se (compactando e embrulhando) a uma estrutura icosaédrica discernível por microscopia crioeletrônica.

Todos os vírus RNA de fita negativa são envelopados. Os componentes da RNA polimerase viral RNA-dependente se associam ao genoma RNA (−) dos ortomixovírus, paramixovírus e rabdovírus para formar nucleocapsídeos helicoidais (Fig. 4-5). Estas enzimas são necessárias ao início da replicação viral, e sua associação ao genoma assegura sua

liberação dentro da célula. As proteínas de matriz que revestem o interior do envelope facilitam a montagem do ribonucleocapsídeo no vírion. O influenza A (ortomixovírus) é um exemplo de vírus RNA (−) com um genoma segmentado. Seu envelope é revestido por proteínas de matriz e tem duas glicoproteínas: a hemaglutinina, que é a VAP, e a neuraminidase (NA) (Fig. 59-1). Os bunyavírus não possuem proteínas de matriz.

O envelope dos herpesvírus é uma estrutura parecida com um saco que abriga o nucleocapsídeo icosadeltaédrico (Fig. 59-1). Dependendo do herpesvírus específico, o envelope pode conter até 11 glicoproteínas. O espaço intersticial entre o nucleocapsídeo e o envelope é chamado de **tegumento**, e contém enzimas, outras proteínas e até mRNA que facilita a infecção viral.

Os poxvírus são vírus envelopados grandes, complexos e em formato de tijolo (Fig. 54-1). O envelope abriga uma estrutura nucleoide em forma de halter, contendo DNA; corpos laterais; fibrilas; e diversas enzimas e proteínas, incluindo enzimas e fatores transcricionais necessários à síntese do mRNA.

Replicação Viral

As principais etapas da replicação viral são iguais para todos os vírus (Fig. 4-9 e Quadro 4-6). A célula age como uma fábrica, fornecendo os substratos, a energia e o maquinário necessários à síntese de proteínas virais e à replicação do genoma. Os processos não fornecidos pela célula devem ser codificados pelo genoma do vírus. A maneira pela qual cada vírus desempenha estas etapas e supera as limitações bioquímicas da célula é determinada pela estrutura do genoma e do vírion (se é envelopado ou se possui capsídeo desnudo). Isto é ilustrado nos exemplos das Figuras 4-12 a 4-14.

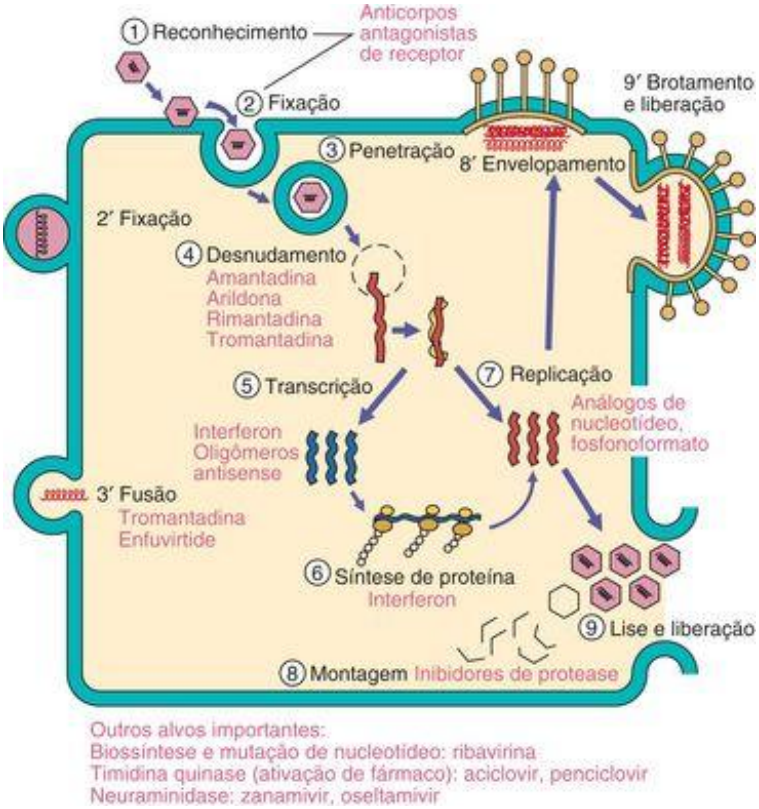


Figura 4-9 Um esquema geral da replicação viral. Os vírus envelopados possuem formas alternativas de entrada (3), montagem e saída da célula (8′ e 9′). Os fármacos antivirais para as etapas de replicação viral suscetíveis estão relacionados em magenta.

Quadro 4-6 Etapas da Replicação Viral

1. Reconhecimento da célula-alvo
2. Fixação
3. Penetração
4. Desnudamento
5. Síntese macromolecular
   a. Síntese de RNA mensageiro (mRNA) precoce e proteínas não estruturais: genes para enzimas e proteínas de ligação a ácido nucleico
   b. Replicação do genoma
   c. Síntese de mRNA tardio e proteínas estruturais
   d. Modificação pós-tradução da proteína

6. Montagem do vírus
7. Brotamento de vírus envelopados
8. Liberação do vírus

Uma única rodada do ciclo de replicação viral pode ser dividida em várias fases. Durante a **fase precoce** da infecção, o vírus deve reconhecer uma célula-alvo apropriada, fixar-se a ela, penetrar a membrana plasmática e ser captado por essa célula, liberar (desnudar) o seu genoma dentro do citoplasma e, se necessário, transportar o genoma até o núcleo. A **fase tardia** começa com o início da replicação do genoma e a síntese macromolecular viral, continuando na montagem e na liberação viral. O desnudamento do genoma que está no capsídeo ou no envelope, durante a fase precoce, abole sua capacidade infecciosa e sua estrutura identificável, iniciando assim o período de eclipse. O **período de eclipse**, como o eclipse solar, termina com o aparecimento de novos vírions após a montagem do vírus. O **período latente**, durante o qual um vírus infeccioso extracelular não é detectado, inclui o período de eclipse e termina com a liberação de novos vírus (Fig. 4-10). Cada célula infectada pode produzir até 100.000 partículas; entretanto, apenas 1% a 10% destas partículas podem ser infecciosas. As partículas não infecciosas (**partículas defeituosas**) resultam de mutações e erros na fabricação e montagem do vírion. A produção de vírus infecciosos por célula, ou ***burst size***, e o tempo necessário para um único ciclo de reprodução viral são determinados pelas propriedades desse vírus e da célula-alvo.

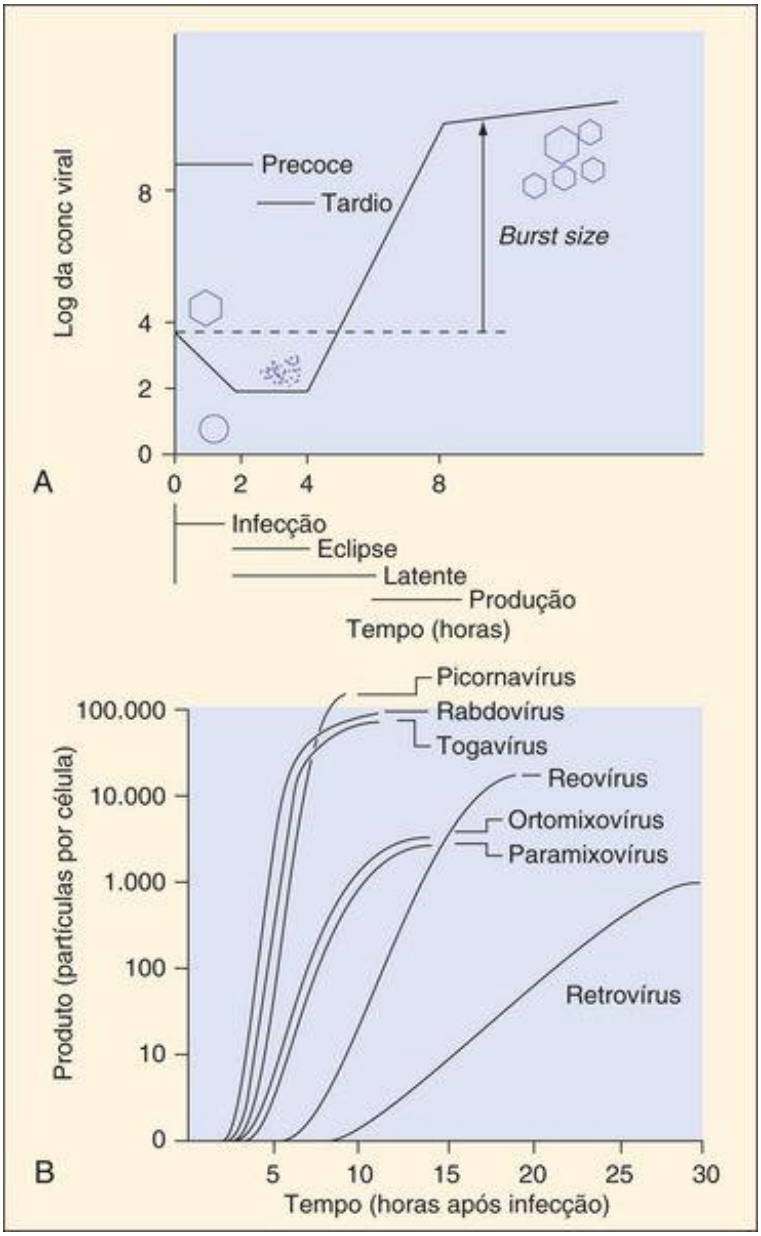


Figura 4-10 **A**, Curva de crescimento de ciclo único de um vírus liberado durante a lise celular. Os diferentes estágios são definidos pela presença ou ausência de componentes virais visíveis (período de eclipse), vírus infeccioso no meio (período latente) ou síntese macromolecular (fases precoce/tardia). **B**, Curva de crescimento e *burst size* de vírus representativos.

*(**A** modificado de Davis BD et al: Microbiology, 4th ed. Philadelphia, Lippincott, 1990; **B** modificado de White DO, Fenner F: Medical Virology, 3rd ed. New York, Academic, 1986.)*

Reconhecimento e Fixação à Célula-alvo

A ligação de **VAPs** ou estruturas na superfície do capsídeo do vírion (Tab. 4-5) a **receptores na célula** (Tab. 4-6) inicialmente determina quais células podem ser infectadas por um vírus. *Os receptores celulares para o vírus devem ser proteínas ou carboidratos em glicoproteínas ou glicolipídeos*. Os vírus que se ligam a receptores expressos em tipos celulares específicos podem ser restritos a algumas espécies (**espectro de hospedeiro**) (p. ex., ser humano, camundongo) ou a determinados tipos celulares. A célula-alvo suscetível define o **tropismo tecidual** (p. ex., neurotrópico, linfotrópico). O vírus Epstein-Barr, um herpesvírus, possui um espectro de hospedeiros e um tropismo muito limitado porque se liga ao receptor C3d (CR2) expresso em células B humanas. O parvovírus B19 se liga ao globosídeo (antígeno P de grupo sanguíneo) expresso em células precursoras eritroides.

Tabela 4-5 Exemplos de Proteínas de Fixação Viral

Família do Vírus	Vírus	VAP
Picornaviridae	Rinovírus	complexo VP1-VP2-VP3
Adenoviridae	Adenovírus	Proteína de fibra
Reoviridae	Reovírus	σ
	Rotavírus	VP7
Togaviridae	Vírus da Floresta Semliki	complexo gp E1-E2-E3
Rhabdoviridae	Vírus da raiva	gp proteína G
Orthomyxoviridae	Vírus Influenza A	gp HA
Paramyxoviridae	Vírus do sarampo	gp HA
Herpesviridae	Vírus Epstein-Barr	gp350 e gp220
Retroviridae	Vírus da leucemia murina	gp70
	Vírus da imunodeficiência humana	gp120

gp, glicoproteína; HA, hemaglutinina; VAP, proteína de adesão viral.

Tabela 4-6 Exemplos de Receptores Virais

Vírus	Célula-alvo	Receptor*
Vírus Epstein-Barr	Célula B	Receptor CR2 (CD21) do complemento C3d
Vírus da imunodeficiência humana	Célula T auxiliar	Molécula CD4 e correceptor de quimiocina
Rinovírus	Células epiteliais	ICAM-1 (proteína da superfamília de imunoglobulina)
Poliovírus	Células epiteliais	Proteína da superfamília de imunoglobulina
Vírus herpes simples	Muitas células	Mediador de entrada de herpesvírus (HVEA), nectina-1
Vírus da raiva	Neurônio	Receptor de acetilcolina, NCAM (molécula de adesão de célula neural)
Vírus Influenza A	Células epiteliais	Ácido siálico
Parvovírus B19	Precursores eritroides	Antígeno P de eritrócito (globosídeo)

Também podem existir outros receptores para estes vírus.

***** *ICAM-1, molécula de adesão intercelular*.

A estrutura de fixação viral para um vírus com capsídeo pode ser parte do capsídeo ou de uma proteína que se estende a partir do capsídeo. Um cânion na superfície dos picornavírus, como o rinovírus 14, serve como uma "fechadura" para a inserção de uma porção da molécula de adesão intercelular (ICAM-1) expressa na superfície celular. As fibras dos adenovírus e as proteínas σ-1 dos reovírus situadas nos vértices do capsídeo interagem com receptores expressos em células-alvo específicas.

As VAPs são glicoproteínas específicas de vírus envelopados. A HA do vírus influenza A liga-se ao ácido siálico expresso em muitas células diferentes e possui amplos espectro de hospedeiro e tropismo tecidual. Similarmente, os α-togavírus e os flavivírus são capazes de se ligar a receptores expressos em células de muitas espécies animais, incluindo artrópodes, répteis, anfíbios, aves e mamíferos. Isto permite que estes vírus infectem animais, mosquitos e outros insetos, e que sejam disseminados por eles.

Penetração

Diversas interações entre as VAPs e os receptores celulares iniciam a internalização do vírus na célula. O mecanismo de internalização depende da estrutura do vírion e do tipo celular. A maioria dos vírus não envelopados penetra na célula por endocitose mediada por receptor ou por viropexia. **Endocitose** é um processo normal usado pela célula para a captação de moléculas ligadas a receptor, como hormônios, lipoproteínas de baixa densidade e transferrina. Os picornavírus e papovavírus podem penetrar por **viropexia**. As estruturas hidrofóbicas das proteínas do capsídeo podem ficar expostas após a ligação dos vírus às células, e estas estruturas auxiliam o vírus ou o genoma viral a deslizar através da membrana (penetração direta).

Os vírus envelopados fundem suas membranas com as membranas celulares para transportar o nucleocapsídeo ou o genoma diretamente para dentro do citoplasma. O pH ótimo para fusão determina se a penetração ocorre na superfície celular em pH neutro, ou se o vírus precisa ser internalizado por endocitose, para que a fusão ocorra num endossomo em pH ácido. A atividade de fusão pode ser fornecida pela VAP ou outra proteína. A HA do vírus influenza A (Fig. 4-8) se liga a receptores de ácido siálico na célula-alvo. Sob as condições de acidez branda do endossomo, a HA sofre uma dramática alteração conformacional que expõe as porções hidrofóbicas capazes de promover a fusão da membrana. Os paramixovírus possuem uma proteína de fusão que é ativa em pH neutro para promover a fusão vírus-célula. Os paramixovírus também podem promover a fusão célula-célula para formar células gigantes multinucleadas (**sincício**). Alguns herpesvírus e retrovírus fundem-se com as células em pH neutro e induzem o sincício após a replicação.

Desnudamento

Uma vez internalizado, o nucleocapsídeo deve ser transportado até o sítio de replicação dentro da célula e o capsídeo ou envelope removido. O genoma dos vírus DNA, com exceção dos poxvírus, deve ser transportado até o núcleo, enquanto o da maioria dos vírus RNA permanece no citoplasma. O processo de desnudamento pode ser iniciado pela fixação ao receptor ou promovido pelo meio ácido ou por proteases presentes em um endossomo ou lisossomo. Os capsídeos dos picornavírus são enfraquecidos pela liberação da proteína de capsídeo VP4 para permitir o desnudamento. A VP4 é liberada pela inserção do receptor no sítio de fixação do capsídeo, um cânion em forma de fechadura. Os vírus envelopados são desnudados na fusão com as membranas celulares. A fusão do envelope do herpesvírus com a membrana plasmática libera seu nucleocapsídeo, que então se "ancora" na membrana nuclear para liberar seu genoma de DNA diretamente no sítio de replicação. A liberação do nucleocapsídeo do influenza da sua matriz e do envelope é facilitada pela passagem de prótons de dentro do endossomo através do poro de íon formado pela proteína de matriz M2 do influenza para acidificar o vírion.

Os reovírus e poxvírus são apenas parcialmente desnudados na penetração. O capsídeo externo do reovírus é removido, mas o genoma permanece em um capsídeo interno que contém as polimerases necessárias à síntese do RNA. O desnudamento inicial dos poxvírus expõe uma partícula subviral ao citoplasma, permitindo a síntese do mRNA por enzimas contidas no vírion. Uma enzima de desnudamento pode então ser sintetizada para liberar o cerne contendo o DNA no citoplasma.

Síntese Macromolecular

Uma vez dentro da célula, o genoma deve direcionar a síntese de mRNA e proteínas virais e gerar cópias idênticas de si mesmo. O genoma é inútil, a menos que possa ser transcrito em mRNAs funcionais capazes de se ligar aos ribossomos e ser traduzidos em proteínas. O modo pelo qual cada vírus cumpre estas etapas depende da estrutura do genoma (Fig. 4-11) e do sítio de replicação.

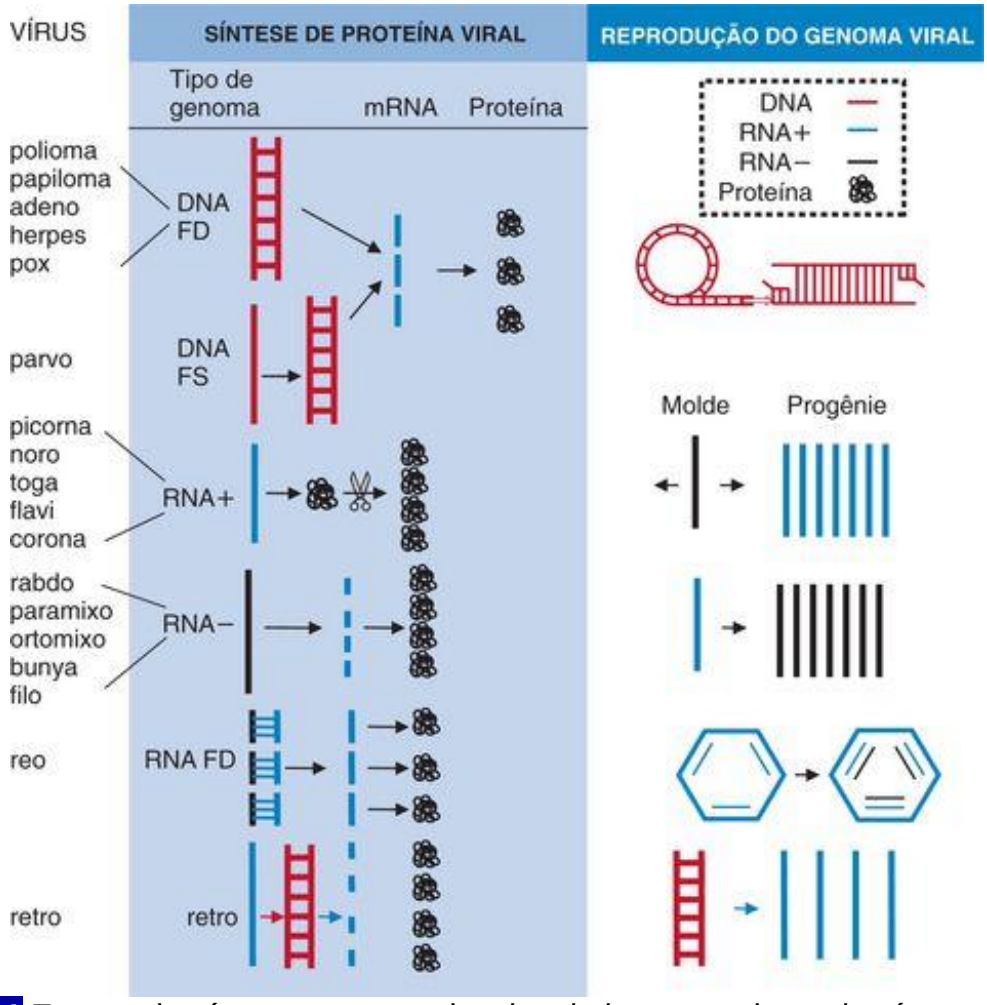


Figura 4-11 Etapas da síntese macromolecular viral: o mecanismo de síntese de mRNA e proteína viral e a replicação do genoma são determinados pela estrutura do genoma. *1*. O DNA de fita dupla (DNA FD) usa a maquinaria hospedeira no núcleo (exceto os poxvírus) para fazer mRNA, que é traduzido em proteínas pelos ribossomos da célula hospedeira. A replicação do DNA viral ocorre de modo semiconservativo, por círculo rolante, linear e de outras maneiras. *2*. O DNA de fita simples (DNA FS) é convertido em DNA FD e replica-se como DNA FD. *3*. ORNA (+) assemelha-se a um mRNA que se liga aos ribossomos para fazer uma poliproteína que é clivada em proteínas individuais. Uma das proteínas virais é uma RNA polimerase que faz um molde de RNA (−) e então mais progênie de genoma RNA (+) e mRNAs. *4*. O RNA (−) é transcrito em mRNAs e em um molde de RNA (+) de tamanho total pela RNA polimerase carreada no vírion. O molde de RNA (+) é usado para fazer a progênie de genoma RNA (−). *5*. O RNA FD age como um RNA (−). As fitas (−) são transcritas em mRNAs por uma RNA polimerase no capsídeo. Os RNAs (+) são transferidos para o capsídeo e os RNAs (−) são feitos no capsídeo. 6. Os retrovírus são RNA (+) que são convertidos em DNA complementar (cDNA) pela transcriptase reversa carreada no vírion. O cDNA integra-se ao cromossomo hospedeiro, e o hospedeiro sintetiza mRNAs, proteínas e cópias de genoma de RNA de tamanho total.

A maquinaria da célula para a transcrição e o processamento do mRNA reside no núcleo. *A maioria dos vírus DNA usa a RNA polimerase II DNA-dependente e outras enzimas celulares para sintetizar mRNA*. Por exemplo, os mRNAs eucarióticos adquirem uma cauda poliadenilada (poli A) na terminação 3′ e um *cap* metilado na terminação 5′ (para ligação ao ribossomo) e são processados para remover os íntrons antes de serem exportados para o citoplasma. Os vírus que se replicam no citoplasma devem fornecer estas funções ou uma alternativa. Embora os poxvírus sejam vírus DNA, eles se replicam no citoplasma e, assim, devem codificar enzimas para todas estas funções. *A maioria dos vírus RNA replica-se e produz mRNA no citoplasma*, com exceção dos ortomixovírus e retrovírus. *Os vírus RNA devem codificar as enzimas necessárias à transcrição e à replicação, já que a célula não possui meios para replicar RNA*. Os mRNAs dos vírus RNA podem ou não adquirir um *cap* 5′ ou uma cauda poli A.

O genoma desnudo dos vírus DNA (exceto dos poxvírus) e dos vírus RNA de sentido positivo (exceto dos retrovírus) são às vezes chamados de **ácidos nucléicos infecciosos**, pois são suficientes para iniciar a replicação ao serem injetados na célula. Estes genomas podem interagir diretamente com a maquinaria hospedeira para promover a síntese do mRNA ou de proteínas, ou de ambos.

Em geral, o mRNA para proteínas não estruturais é transcrito primeiro (Fig. 4-12). Os **produtos de genes precoces** (proteínas não estruturais) são geralmente proteínas de ligação ao DNA e enzimas, incluindo as polimerases codificadas pelo vírus. Estas proteínas são catalíticas e apenas algumas poucas são requeridas. *A replicação do genoma geralmente inicia a transição para a transcrição de produtos de genes tardios*. Os **genes virais tardios** codificam proteínas estruturais. Muitas cópias destas proteínas são requeridas para o empacotamento do vírus, mas geralmente não são requeridas antes que o genoma seja replicado. Os genomas recém-replicados também fornecem novos moldes para mais síntese de mRNA de genes tardios. Os diferentes vírus DNA e RNA controlam o tempo e a quantidade de gene viral e da síntese de proteínas de diferentes formas.

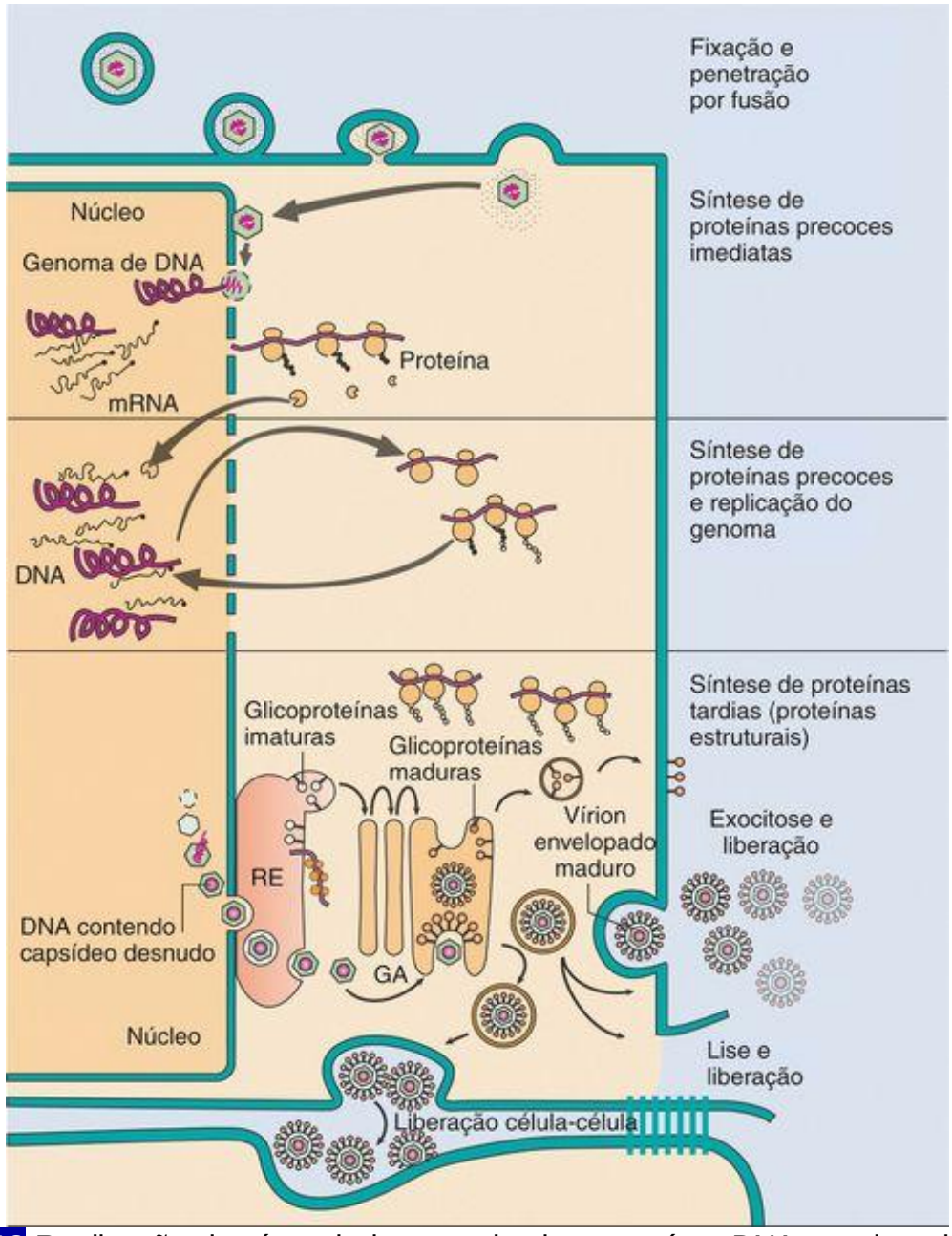


Figura 4-12 Replicação do vírus do herpes simples, um vírus DNA envelopado complexo. O vírus liga-se a receptores específicos e funde-se com a membrana plasmática. O nucleocapsídeo então libera o genoma de DNA no núcleo. A transcrição e a tradução ocorrem em três fases: precoce imediata, precoce e tardia. As proteínas precoces imediatas promovem a tomada da célula; as proteínas precoces consistem em enzimas, incluindo a DNA polimerase DNA-dependente; e as proteínas tardias são proteínas estruturais, incluindo o capsídeo viral e as glicoproteínas. O genoma é replicado antes da transcrição dos genes tardios. As proteínas do capsídeo migram para o núcleo, montam-se em capsídeos icosadeltaédricos e são preenchidas com o genoma de DNA. Os capsídeos preenchidos com os genomas brotam no citoplasma através das membranas do núcleo e do retículo endoplasmático, adquirem proteínas do tegumento e então adquirem seu envelope quando brotam através de membranas da rede trans-Golgi modificadas pela glicoproteína viral. O vírus é liberado por exocitose ou lise da célula.

Vírus DNA

A replicação do genoma de DNA requer uma DNA polimerase DNA-dependente, outras enzimas e desoxirribonucleotídeos trifosfatos, especialmente timidina (Quadro 4-7). A transcrição do genoma de vírus DNA (exceto nos poxvírus) ocorre no núcleo, usando polimerases da célula hospedeira e outras enzimas para a síntese do mRNA viral. A transcrição dos genes virais é regulada pela interação de proteínas de ligação ao DNA em sequências promotoras e intensificadoras (em inglês *enhancer)* do processo transcricional. O promotor e as regiões *enhancer* virais são similares em sequência àquelas da célula hospedeira para permitir a ligação de fatores de ativação transcricional e RNA polimerase DNA-dependente celulares. As células de alguns tecidos não expressam as proteínas de ligação ao DNA necessárias à ativação da transcrição de genes virais, e a replicação do vírus nestas células é então impedida ou limitada.

Quadro 4-7 Propriedades dos Vírus DNA

O DNA não é transitório ou instável.

Muitos vírus DNA estabelecem infecções persistentes (p. ex., latentes, imortalizados).

Os genomas DNA residem no núcleo (com exceção dos poxvírus).

O DNA viral se assemelha ao DNA hospedeiro na transcrição e replicação.

Os genes virais devem interagir com a maquinaria transcricional hospedeira (com exceção dos poxvírus).

A transcrição dos genes virais é temporariamente regulada.

Os genes precoces codificam proteínas de ligação ao DNA e enzimas.

Os genes tardios codificam proteínas estruturais e outras proteínas.

As DNA polimerases requerem um iniciador para replicar o genoma viral.

Os vírus DNA maiores codificam meios de promover a replicação eficiente dos seus genomas.

Parvovírus: requer células sintetizando DNA para replicar.

Papilomavírus: estimula o crescimento celular e a síntese de DNA.

Hepadnavírus: estimula o crescimento celular e codifica sua própria polimerase.

Adenovírus: estimula a síntese de DNA celular e codifica sua própria polimerase.

Herpesvírus: estimula o crescimento celular, codifica sua própria polimerase e enzimas para fornecer desoxirribonucleotídeos para a síntese de DNA, estabelece infecção latente no hospedeiro.

Poxvírus: codifica sua própria polimerase e enzimas para fornecer desoxirribonucleotídeos para a síntese de DNA, maquinaria de replicação e maquinaria de transcrição no citoplasma.

Diferentes vírus DNA controlam a duração, o tempo e a quantidade de gene viral e da síntese de proteínas de diferentes formas. Os vírus mais complexos codificam seus próprios ativadores transcricionais, que ativam ou regulam a expressão de genes virais. Por exemplo, o

vírus herpes simples codifica muitas proteínas que regulam a cinética da expressão gênica viral, incluindo a VMW 65 (proteína α-TIF, VP16). VMW 65 é carreada no vírion, liga-se ao complexo de ativação transcricional da célula hospedeira (Oct-1) e aumenta sua capacidade de estimular a transcrição de genes precoces imediatos do vírus.

Os genes podem ser transcritos de qualquer fita do DNA do genoma e em direções opostas. Por exemplo, os genes precoces e tardios do papovavírus SV40* estão em fitas de DNA opostas e não sobrepostas. Os genes virais podem ter íntrons que requerem o processamento pós-transcricional do mRNA pela maquinaria nuclear da célula (*splicing*). Os genes tardios do papovavírus e adenovírus são inicialmente transcritos como um grande RNA a partir de um único promotor e então processados para produzir muitos mRNAs diferentes após remoção de diferentes sequências intervenientes (íntrons).

A replicação do DNA viral segue as mesmas regras bioquímicas que o DNA celular. A replicação é iniciada em uma sequência de DNA única do genoma chamado de **origem** (**ori**). Este é um sítio reconhecido por fatores nucleares virais ou celulares e pela **DNA polimerase DNA-dependente**. A síntese de DNA viral é semiconservativa, e as *DNA polimerases celulares e virais requerem um iniciador* (*primer*) para iniciar a síntese da cadeia de DNA. Os parvovírus possuem sequências de DNA invertidas e repetidas para permitir que o DNA se dobre de volta e hibridize consigo mesmo para produzir um iniciador. A replicação do genoma dos adenovírus é iniciada pela deoxicitidina monofosfato ligada a uma proteína terminal. Uma enzima celular (primase) sintetiza um iniciador de RNA para iniciar a replicação do genoma dos papovavírus, enquanto os herpesvírus codificam uma primase.

A replicação do genoma de vírus DNA simples (p. ex., parvovírus, papovavírus) utiliza DNA polimerases DNA-dependentes do hospedeiro, enquanto vírus maiores e mais complexos (p. ex., adenovírus, herpesvírus, poxvírus) codificam suas próprias polimerases. As polimerases virais são geralmente mais rápidas, porém menos precisas do que as polimerases da célula hospedeira, levando a uma taxa de mutação mais alta nos vírus e fornecendo um alvo para análogos de nucleotídeos atuarem como fármacos antivirais.

A replicação dos hepadnavírus é única, já que um intermediário de RNA circular, de fita positiva, é primeiro sintetizado pela RNA polimerase DNA-dependente da célula. As proteínas virais envolvem o RNA, uma DNA polimerase RNA-dependente (transcriptase reversa) neste cerne de vírion produz um DNA de fita negativa e então o RNA é degradado. A síntese do DNA de fita positiva é iniciada, mas para quando o genoma e o cerne são envelopados, produzindo um genoma de DNA circular e parcialmente de fita dupla.

As principais limitações para a replicação de um vírus DNA incluem a disponibilidade de DNA polimerase e substratos desoxirribonucleotídeos. A maioria das células em fase de repouso do crescimento não realiza síntese de DNA porque as enzimas necessárias não estão presentes e os estoques de desoxitimidina são limitados. *Quanto menor o vírus DNA, mais ele é dependente da célula hospedeira* para prover estas funções (Quadro 4-7). Os parvovírus são os menores vírus DNA e se replicam apenas em células em crescimento, como as células precursoras eritroides ou o tecido fetal. O aumento da velocidade de crescimento da célula pode aumentar a síntese de DNA e mRNA virais. O antígeno T de SV40, o E6 e o E7 do papilomavírus e as proteínas E1a e E1b do adenovírus ligam-se a proteínas inibidoras de crescimento (p53 e o produto do gene retinoblastoma) e inibem sua função, resultando em crescimento celular, que também promove a replicação viral. Os vírus DNA maiores podem codificar uma DNA polimerase e outras proteínas para facilitar a síntese de DNA e são mais independentes. O vírus herpes simples codifica uma DNA polimerase e enzimas, como desoxirribonuclease, ribonucleotídeo redutase e timidina quinase, para gerar os substratos desoxirribonucleotídeos necessários para a replicação do seu genoma.

Vírus RNA

A replicação e a transcrição dos vírus RNA são processos similares porque os genomas virais são usualmente um mRNA (RNA de fita positiva) (Fig. 4-13) ou um molde para o mRNA (RNA de fita negativa) (Quadro 4-8; Fig. 4-14). Durante a replicação e a transcrição, é formado um intermediário replicativo de RNA de fita dupla, uma estrutura que normalmente não é encontrada em células não infectadas.

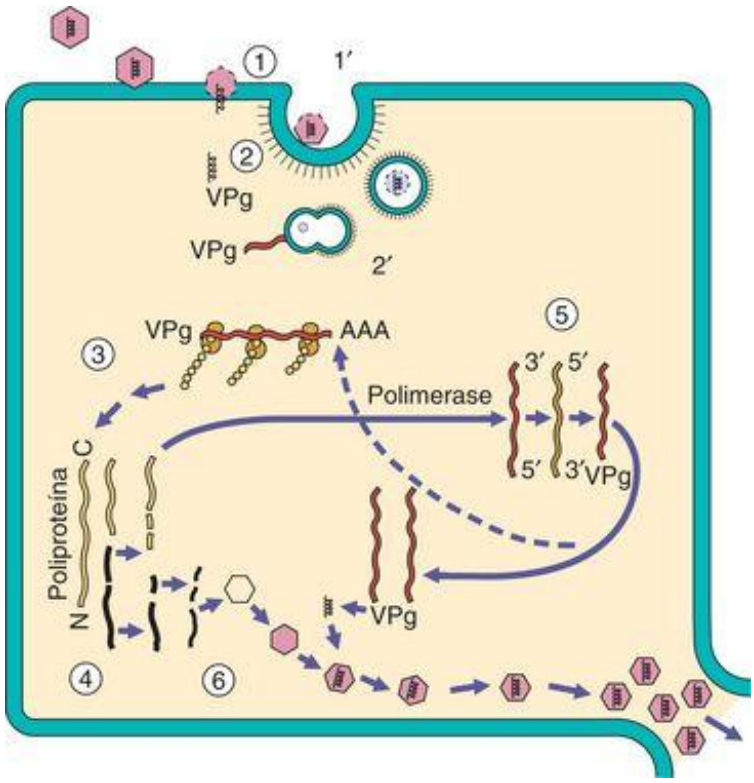


Figura 4-13 Replicação dos picornavírus: um vírus RNA (+) simples. *1*, A interação dos picornavírus com receptores na superfície celular define a célula-alvo e enfraquece o capsídeo. *2*, O genoma é injetado pelo vírion através da membrana celular. *2′*, O vírion sofre endocitose e então o genoma é liberado. *3*, Alternativamente, o genoma é usado como mRNA para a síntese de proteína. Uma grande poliproteína é traduzida a partir do genoma do vírion. *4*, Então, a poliproteína é proteoliticamente clivada em proteínas individuais, incluindo uma RNA polimerase RNA-dependente. *5*, A polimerase faz um molde de fita (−) do genoma e replica o genoma. Uma proteína (VPg) é covalentemente fixada à terminação 5′ do genoma viral. *6*, As proteínas estruturais associam-se na estrutura do capsídeo, o genoma é inserido e os vírions são liberados na lise celular.

Quadro 4-8 Propriedades dos Vírus RNA

O RNA é instável e transitório

A maioria dos vírus RNA replica-se no citoplasma.

As células não podem replicar RNA. Os vírus RNA devem codificar uma RNA polimerase RNA-dependente.

A estrutura do genoma determina o mecanismo de transcrição e replicação.

Os vírus RNA são propensos à mutação.

A estrutura e a polaridade do genoma determinam como o RNA mensageiro (mRNA) viral é gerado e as proteínas são processadas.

Os vírus RNA, exceto o genoma de RNA (+), devem carrear polimerases. Todos os vírus RNA (−) são envelopados.

Picornavírus, togavírus, flavivírus, calicivírus e coronavírus

O genoma de RNA (+) se assemelha ao mRNA e é traduzido em uma poliproteína, que sofre proteólise. Um molde de RNA (−) é usado na replicação. Os togavírus, coronavírus e norovírus possuem genes precoces e tardios.

Ortomixovírus, paramixovírus, rabdovírus, filovírus e buniavírus

O genoma de RNA (−) é um molde para mRNAs individuais, mas o molde de RNA (+) de tamanho total é requerido para a replicação.

Os ortomixovírus replicam-se e transcrevem no núcleo, e cada segmento do genoma codifica um mRNA e um molde.

Reovírus

O genoma segmentado de RNA (+/−) é um molde para o mRNA. O RNA (+) também pode ser encapsulado para gerar o RNA (+/−) e então mais mRNA.

Retrovírus

O genoma de RNA (+) do retrovírus é convertido em DNA, que é integrado na cromatina do hospedeiro e transcrito como um gene celular.

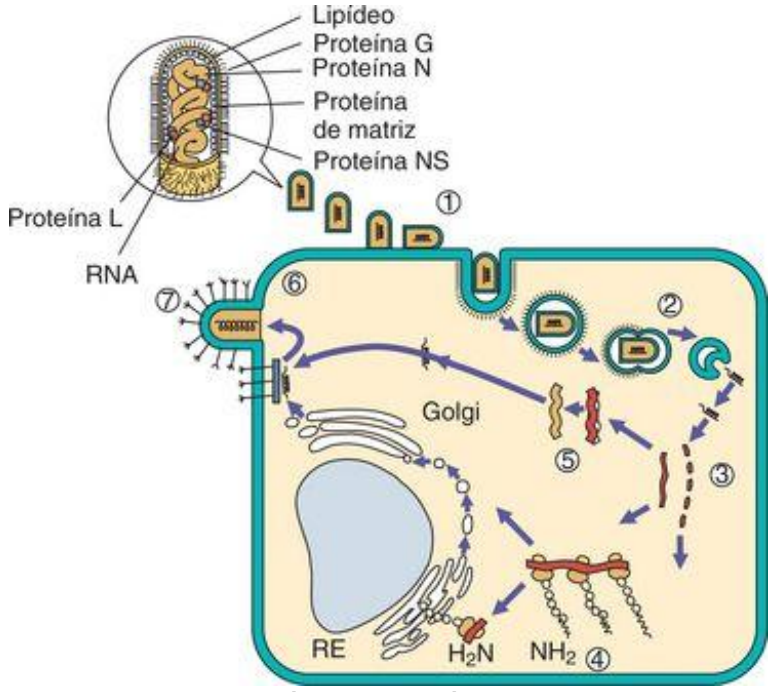


Figura 4-14 Replicação dos rabdovírus: um vírus RNA (−) envelopado simples. *1*, Os rabdovírus ligam-se à superfície celular e são (*2*) endocitados. O envelope funde-se com a membrana da vesícula do endossomo para liberar o nucleocapsídeo no citoplasma. O vírion deve carrear uma polimerase, que (3) produz cinco RNA mensageiros (mRNAs) individuais e um molde de RNA (+) de tamanho total. 4, As proteínas são traduzidas dos mRNAs, incluindo uma glicoproteína (G), que é glicosilada durante a tradução no retículo endoplasmático (RE), processada no aparato de Golgi e transportada para a membrana celular. 5, O genoma é

replicado a partir do molde de RNA (+) e as proteínas N, L e NS associam-se ao genoma para formar o nucleocapsídeo. 6, A proteína de matriz associa-se à membrana modificada pela proteína G, o que é seguido pela montagem do nucleocapsídeo. 7, O vírus brota da célula em um vírion em forma de bala.

O genoma de vírus RNA deve codificar **RNA polimerases RNA-dependentes (replicases e transcriptases)**, pois a célula não possui meios para replicar RNA. Como a degradação de RNA é relativamente rápida, a RNA polimerase RNA-dependente deve ser fornecida ou sintetizada logo após o desnudamento para gerar mais RNA viral, ou a infecção será abortada. A maioria das RNA polimerases virais trabalha rapidamente, mas também é propensa a erros, causando mutações. A replicação do genoma fornece novos moldes para a produção de mais mRNA, o que amplifica e acelera a replicação do vírus.

O s **genomas virais RNA de fita positiva** dos picornavírus, calicivírus, coronavírus, flavivírus e togavírus funcionam como mRNA, ligam-se a ribossomos e dirigem a síntese de proteína. *O genoma viral RNA de fita positiva desnudo é suficiente para iniciar a infecção por si mesmo*. Após a produção da RNA polimerase RNA-dependente codificada pelo vírus, um molde de RNA de fita negativa é sintetizado. O molde pode então ser usado para gerar mais mRNA e para replicar o genoma. Para os togavírus e calicivírus, o molde de RNA de sentido negativo também é usado para produzir um RNA menor para as proteínas estruturais (genes tardios). Os mRNAs para estes vírus não têm *cap* na terminação 5′, mas o genoma codifica uma sequência poli A curta. A transcrição e a replicação dos coronavírus compartilham muitos destes aspectos, mas são mais complexas.

Os **genomas virais RNA de fita negativa** dos rabdovírus, ortomixovírus, paramixovírus, filovírus e bunyavírus são os moldes para a produção de mRNA. O genoma RNA de fita negativa não é infeccioso por si só e *uma polimerase deve ser carreada com o genoma para dentro da célula* (associada ao genoma, como parte do nucleocapsídeo) para produzir mRNA individual para as diferentes proteínas virais. Como resultado, um RNA de fita positiva de tamanho total também deve ser produzido pela polimerase viral para funcionar como um molde para gerar mais cópias do genoma. O genoma RNA (−) assemelha-se aos negativos de um rolo de filme 35 mm: cada segmento codifica uma foto/mRNA, mas uma fita positiva de tamanho total é requerida para a replicação do rolo. *Com exceção dos vírus influenza, a transcrição e a replicação dos vírus RNA de fita negativa ocorrem no citoplasma*. A transcriptase do vírus influenza requer um iniciador para produzir mRNA. Ela usa as terminações 5′ do mRNA celular no núcleo como iniciadores para sua polimerase e, no processo, rouba o *cap* 5′ do mRNA celular. O genoma do vírus influenza também é replicado no núcleo.

Os reovírus possuem um **genoma RNA de dupla fita segmentado** e são submetidos a formas mais complexas de replicação e transcrição. A RNA polimerase do reovírus é parte do cerne do capsídeo interno, as unidades de mRNA são transcritas a partir de cada um dos 10 ou mais segmentos do genoma enquanto ainda estão no cerne. As fitas negativas dos segmentos do genoma são usadas como molde para o mRNA de uma maneira similar àquela dos vírus RNA de fita negativa. Enzimas codificadas pelo reovírus contidas no cerne do capsídeo interno adicionam o *cap* 5′ ao mRNA viral. O mRNA não possui poli A. Os mRNAs são liberados no citoplasma, onde direcionam a síntese de proteína ou são sequestrados em novos cernes. O RNA de fita positiva nos novos cernes funciona como um molde para o RNA de fita negativa, e a polimerase do cerne produz a progênie de RNA de dupla fita.

Os arenavírus possuem um **genoma circular de duplo sentido**, com sequências (+) adjacentes a sequências (−). Os genes precoces do vírus são transcritos a partir da porção de sentido negativo do genoma, e os genes tardios do vírus são transcritos a partir do intermediário replicativo de tamanho total.

Embora os **retrovírus** possuam um genoma RNA de fita positiva, o vírus não fornece meios para replicação do RNA no citoplasma. Ao invés disso, os retrovírus carreiam duas cópias do genoma, duas moléculas de RNA transportador (tRNA) e uma DNA polimerase RNA-dependente (**transcriptase reversa**) no vírion. O tRNA é usado como um iniciador para a síntese de uma cópia circular de DNA complementar (**cDNA**) do genoma. O cDNA é sintetizado no citoplasma, migra para o núcleo e é então integrado na cromatina do

hospedeiro. O genoma viral torna-se um gene celular. Promotores no final do genoma viral integrado ativam a transcrição, pela célula, das sequências de DNA viral. Os transcritos RNA de tamanho total são utilizados como novos genomas e mRNAs individuais são gerados por processamento diferencial deste RNA.

O modo mais incomum de replicação está reservado aos **deltavírus**. O deltavírus se assemelha a um viroide. O genoma é um RNA de fita simples, circular e em forma de bastão, que é extensivamente hibridizado consigo mesmo. Como exceção, o genoma RNA do deltavírus é replicado pela RNA polimerase II DNA-dependente da célula hospedeira, no núcleo. Uma porção do genoma forma uma estrutura de RNA chamada ribozima, que cliva o RNA circular para produzir um mRNA.

Síntese de Proteína Viral

Todos os vírus dependem de ribossomos, tRNA e mecanismos para modificação pós-traducional da célula hospedeira para produzir suas proteínas. A ligação do mRNA ao ribossomo é mediada por uma estrutura no *cap* 5′ de guanosina metilada ou por uma estrutura especial em alça de RNA (sequência de entrada de ribossomo interna [IRES]), que se liga dentro do ribossomo para iniciar a síntese de proteína. A estrutura do *cap*, se usada, é fixada de diferentes formas ao mRNA por diferentes vírus. A estrutura IRES foi descoberta primeiro no genoma dos picornavírus e então em mRNAs celulares selecionados. A maioria, mas não a totalidade, do mRNA viral possui uma cauda de poliadenosina (poli A), assim como os mRNAs eucarióticos.

Ao contrário dos ribossomos bacterianos, que podem se ligar a mRNA policistrônico e traduzir diversas sequências gênicas em proteínas distintas, o ribossomo eucariótico liga-se ao mRNA e pode produzir apenas uma proteína contínua, e então se desprende do mRNA. Cada vírus contorna esta limitação de forma diferente, dependendo da estrutura do genoma. Por exemplo, o genoma inteiro de um vírus RNA de fita positiva é lido pelo ribossomo e traduzido em uma **poliproteína** gigante. A poliproteína é subsequentemente clivada, por proteases celulares e virais, em proteínas funcionais. Os vírus DNA, os retrovírus e a maioria dos vírus RNA de fita negativa transcrevem um mRNA separado para poliproteínas menores ou proteínas individuais. Os genomas dos ortomixovírus e reovírus são segmentados, e a maioria dos segmentos codifica proteínas únicas por essa razão.

Os vírus usam diferentes táticas para promover a tradução preferencial do seu mRNA viral em vez do mRNA celular. Em muitos casos, a concentração de mRNA viral na célula é tão grande que ocupa a maioria dos ribossomos, impedindo a tradução do mRNA celular. A infecção por adenovírus bloqueia a saída do mRNA celular de dentro do núcleo. O vírus herpes simples e outros vírus inibem a síntese macromolecular celular e induzem à degradação de DNA e mRNA celulares. Para promover a tradução seletiva do seu mRNA, o poliovírus usa uma protease codificada pelo vírus para inativar a proteína de ligação ao *cap* de 200.000-Da do ribossomo para impedir a ligação e a tradução do mRNA celular com *cap* 5′. Os togavírus e muitos outros vírus aumentam a permeabilidade da membrana celular, e então a afinidade do ribossomo pela maioria do mRNA celular é reduzida. Todas estas ações também contribuem para a citopatologia da infecção viral. As consequências patogênicas destas ações são discutidas adiante no Capítulo 48.

Algumas proteínas virais requerem **modificações pós-traducionais**, como fosforilação, glicosilação, acilação ou sulfatação. A fosforilação da proteína é realizada por proteínas quinases virais ou celulares e é uma forma de modular, ativar ou inativar proteínas. Diversos herpesvírus e outros vírus codificam sua própria proteína quinase. *As glicoproteínas virais são sintetizadas em ribossomos ligados à membrana e possuem sequências de aminoácidos para permitir a inserção no retículo endoplasmático rugoso e a glicosilação N-ligada*. A forma precursora de glicoproteína de alta manose migra do retículo endoplasmático através do sistema de transporte vesicular da célula e é processada pelo complexo de Golgi. A glicoproteína madura, contendo ácido siálico, é expressa na membrana plasmática da célula, a menos que a glicoproteína expresse sequências proteicas para a retenção em uma organela intracelular. A presença de glicoproteínas determina onde o vírion será montado. Outras modificações, como *O*-glicosilação, acilação e sulfatação das proteínas, também podem ocorrer durante a passagem pelo complexo de Golgi.

Montagem

A montagem do vírion é análoga a um quebra-cabeça tridimensional entrelaçado que se coloca em uma caixa. O vírion é construído a partir de partes pequenas, facilmente fabricadas, que abrigam o genoma em um pacote funcional. Cada parte do vírion tem estruturas de reconhecimento que permitem ao vírus formar interações proteína-proteína, proteína-ácido nucleico e proteína-membrana (para os vírus envelopados) apropriadas. O processo de montagem começa quando as partes necessárias são sintetizadas e a concentração de proteínas estruturais na célula é suficiente para dirigir o processo termodinamicamente, muito semelhante a uma reação de cristalização. O processo de montagem pode ser facilitado por proteínas de armação ou outras proteínas que são ativadas ou liberam energia durante a proteólise. Por exemplo, a clivagem da proteína VP0 do poliovírus libera o peptídeo VP4, que solidifica o capsídeo.

O sítio e o mecanismo de montagem do vírion na célula dependem de onde a replicação do genoma ocorre e se a estrutura final é um capsídeo desnudo ou um vírus envelopado. A montagem dos vírus DNA, exceto dos poxvírus, ocorre no núcleo e requer o transporte das proteínas do vírion para dentro do núcleo. A montagem dos vírus RNA e dos poxvírus ocorre no citoplasma.

Os vírus com capsídeo podem ser montados como estruturas vazias (procapsídeos) a serem preenchidas com o genoma (p. ex., picornavírus) ou podem ser montados em volta do genoma. Os nucleocapsídeos dos retrovírus, dos togavírus e dos vírus RNA de fita negativa são montados em volta do genoma e, subsequentemente, são abrigados em um envelope. O nucleocapsídeo helicoidal dos vírus RNA de fita negativa inclui a RNA polimerase RNA-dependente necessária à síntese do mRNA na célula-alvo.

Nos vírus envelopados, as glicoproteínas virais recém-sintetizadas e processadas são transportadas para as membranas celulares pelo transporte vesicular. A aquisição de um envelope ocorre após a associação do nucleocapsídeo com as regiões contendo glicoproteína viral das membranas da célula hospedeira, em um processo chamado **brotamento**. As proteínas de matriz nos vírus RNA de fita negativa revestem e promovem a adesão dos nucleocapsídeos à membrana modificada por glicoproteína. À medida que mais interações ocorrem, a membrana envolve o nucleocapsídeo e o vírus brota da membrana.

O tipo de genoma e a sequência de proteína das glicoproteínas determinam o sítio de brotamento. A maioria dos vírus RNA brota da membrana plasmática e o vírus é liberado da célula ao mesmo tempo. Os flavivírus, coronavírus e bunyavírus adquirem seu envelope pelo brotamento na membrana do retículo endoplasmático e na membrana de Golgi e podem permanecer associados à célula nestas organelas. O nucleocapsídeo do vírus herpes simples é montado no núcleo e brota para dentro e então para fora do retículo endoplasmático. O nucleocapsídeo é mergulhado dentro do citoplasma, as proteínas virais associam-se ao capsídeo e então o envelope é adquirido pelo brotamento em uma membrana de rede trans-Golgi decorada com as 10 glicoproteínas virais. O vírion é transportado para a superfície celular e liberado por exocitose, na lise da célula ou transmitido por pontes célula-célula.

Os vírus usam diferentes truques para assegurar que todas as suas partes sejam montadas em vírions completos. A RNA polimerase requerida para a infecção por vírus RNA de fita negativa é carreada no genoma como um nucleocapsídeo helicoidal. Os genomas do vírus da imunodeficiência humana e outros retrovírus são empacotados em um procapsídeo que consiste em uma poliproteína contendo protease, polimerase, integrase e proteínas estruturais. Este procapsídeo liga-se a membranas modificadas por glicoproteína viral e o vírion brota da membrana. A protease codificada pelo vírus é ativada dentro do vírion e cliva a poliproteína para produzir o nucleocapsídeo infeccioso final e as proteínas requeridas dentro do envelope.

A montagem dos vírus com genomas segmentados, como influenza ou reovírus, requer o acúmulo de pelo menos uma cópia de cada segmento gênico. Isto pode ser conseguido se os segmentos são montados juntos como subunidades do capsídeo ou randomicamente empacotados mais segmentos por vírion do que o necessário. Estatisticamente, isto gerará

um pequeno, mas aceitável, percentual de vírus funcionais. Os erros são feitos pela polimerase viral e durante a montagem viral. Vírions vazios e os vírions contendo genomas defeituosos são produzidos. Como resultado, a razão entre partícula e vírus infeccioso, também chamada de *razão de unidade partícula-formação de placa*, é alta, usualmente maior do que 10, e durante a replicação viral rápida pode chegar a 10^4. Os vírus defeituosos podem ocupar a maquinaria requerida para a replicação do vírus normal e inibir (interferir na) a produção de vírus (**partículas interferentes defeituosas**).

Liberação

Os vírus podem ser liberados das células por lise celular, por exocitose ou pelo brotamento da membrana plasmática. Os vírus com capsídeos desnudos são geralmente liberados após a lise da célula. A liberação da muitos vírus envelopados ocorre após o brotamento da membrana plasmática sem matar a célula. A lise e o brotamento da membrana plasmática são formas eficientes de liberação. Os vírus que brotam ou adquirem sua membrana no citoplasma (p. ex., flavivírus, poxvírus) permanecem associados à célula e são liberados por exocitose ou lise celular. Os vírus que se ligam aos receptores de ácido siálico (p. ex., ortomixovírus e alguns paramixovírus) também podem possuir uma neuraminidase. A neuraminidase remove potenciais receptores de ácido siálico das glicoproteínas do vírion e da célula hospedeira para impedir a aglutinação e facilitar a liberação.

Reinício da Replicação

O vírus liberado para o meio extracelular é geralmente responsável pelo início de novas infecções; entretanto, *a travessia das pontes célula-célula, a fusão célula-célula induzida pelo vírus ou a transmissão vertical* do genoma para as células-filhas também podem disseminar a infecção. Isto permite que o vírus escape da detecção por anticorpos. Alguns herpesvírus, retrovírus e paramixovírus podem induzir a fusão célula-célula para unir as células em células gigantes multinucleadas (**sincício**), que se tornam grandes fábricas de vírus. Os retrovírus e alguns vírus DNA podem transmitir sua cópia integrada do genoma verticalmente às células-filhas na divisão celular.

Genética Viral

As mutações ocorrem espontânea e prontamente nos genomas virais, criando novas cepas virais com propriedades diferentes das do **vírus parental** ou **selvagem**. Estas variantes podem ser identificadas por suas sequências de nucleotídeos, diferenças antigênicas (sorotipos) ou diferenças em propriedades estruturais ou funcionais. A maioria das mutações não tem efeito ou não é prejudicial ao vírus. As mutações em genes essenciais inativam o vírus, mas as mutações em outros genes podem produzir resistência a fármacos antivirais ou alterar a antigenicidade ou a patogenicidade do vírus.

Os erros na cópia do genoma viral durante a replicação do vírus produzem muitas mutações. Isto ocorre por causa da baixa fidelidade da polimerase viral e da rápida taxa de replicação do genoma. Em adição, os vírus RNA não possuem um mecanismo de checagem de erro genético. Como resultado, as taxas de mutação nos vírus RNA são geralmente maiores do que nos vírus DNA.

As mutações em genes essenciais são chamadas **mutações letais**. Estes mutantes são difíceis de isolar porque o vírus não consegue se replicar. Um **mutante de deleção** resulta da perda ou da remoção seletiva de uma porção do genoma e da função codificada por ela. Outras mutações podem produzir **mutantes de placa**, que diferem do tipo selvagem no tamanho ou na aparência das células infectadas; **mutantes de espectro de hospedeiros**, que diferem no tipo tecidual ou na espécie da célula-alvo que pode ser infectada; ou **mutantes atenuados**, que são variantes que causam doença menos grave em animais ou seres humanos. Os **mutantes condicionais**, como os **mutantes sensíveis à temperatura (ts)** ou **mutantes sensíveis ao frio**, possuem uma mutação em um gene para uma proteína essencial que permite a produção do vírus apenas em certas temperaturas. Enquanto mutantes ts geralmente crescem bem ou relativamente melhor em 30°C a 35°C, a proteína codificada é inativa em temperaturas elevadas de 38°C a 40°C, inibindo a produção de vírus.

Novas cepas virais também podem surgir por interações genéticas entre os vírus ou entre o vírus e a célula (Fig. 4-15). A troca genética intramolecular entre os vírus ou entre o vírus e o hospedeiro é chamada **recombinação**. A recombinação pode ocorrer prontamente entre dois vírus DNA relacionados. Por exemplo, a coinfecção de uma célula com dois herpesvírus estreitamente relacionados (vírus herpes simples tipo 1 e tipo 2) produz cepas recombinantes intertípicas. Estas novas cepas híbridas possuem genes dos tipos 1 e 2. A integração dos retrovírus na cromatina da célula hospedeira é uma forma de recombinação. A recombinação de dois vírus RNA relacionados, o Sindbis e o vírus da encefalite equina do leste, resultou na criação de um outro togavírus, o vírus da encefalite equina do oeste.

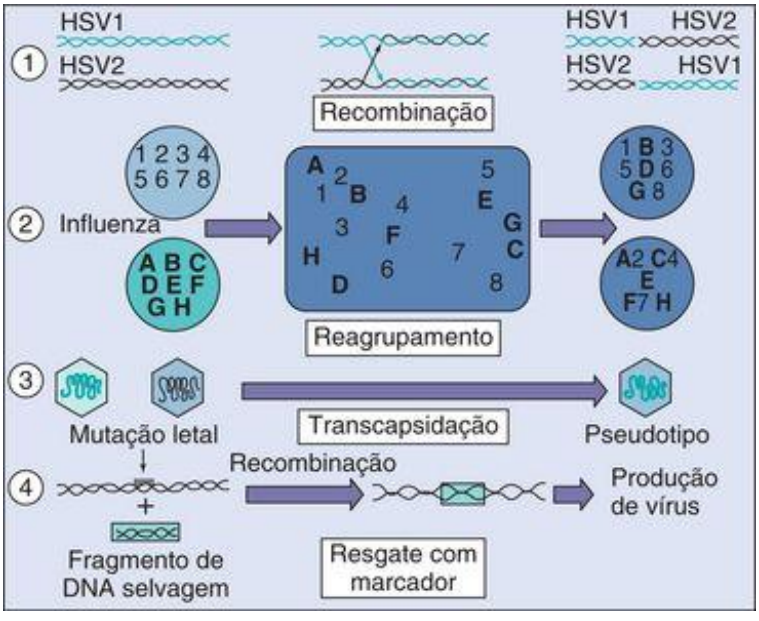


Figura 4-15 As trocas genéticas entre as partículas virais podem originar novos tipos virais, como ilustrado. Os vírus representativos incluem os seguintes: *1*, Recombinação intertípica do vírus herpes simples do tipo 1 (HSV1) e do tipo 2 (HSV2); *2*, reagrupamento de duas cepas do vírus influenza; *3*, resgate de um papovavírus defeituoso na montagem por um vírus defeituoso complementar (transcapsidação); e *4*, resgate com marcador de uma mutação letal ou condicional.

Os vírus com genomas segmentados (p. ex., vírus influenza e reovírus) formam cepas híbridas durante a infecção de uma célula com mais de uma cepa viral. Este processo, chamado **reagrupamento**, é análogo a retirar 10 bolinhas de gude de uma caixa contendo 10 bolinhas pretas e 10 brancas. Cepas muito diferentes do vírus influenza A são criadas na coinfecção com um vírus de uma espécie diferente (Fig. 59-5).

Em alguns casos, uma cepa viral defeituosa pode ser auxiliada pela replicação de um outro mutante, pelo vírus selvagem ou por uma linhagem celular apresentando um gene viral substituto. A replicação do outro vírus ou a expressão do gene na célula fornece a função que faltava e que é requerida pelo mutante (**complementação**), permitindo que a replicação ocorra. O vírus para a vacina do herpes simples com ciclo único infeccioso incapacitado (DISC-HSV) não possui um gene essencial e é cultivado em uma linhagem celular que expressa este produto gênico para "complementar" o vírus. O vírus produzido pode infectar as células normais do indivíduo vacinado, mas os vírions produzidos não possuem a função necessária para a replicação nas células desta pessoa. O resgate de um mutante letal ou condicional-letal com uma sequência gênica definida, como um fragmento de DNA de endonuclease de restrição, é chamado de **resgate com marcador**. O resgate com marcador é usado para mapear os genomas de vírus como o vírus herpes simples. O vírus produzido a partir de células infectadas com diferentes cepas virais pode ser fenotipicamente misto e apresentar as proteínas de uma cepa, mas o genoma da outra (**transcapsidação**). Os **pseudotipos** são gerados quando a transcapsidação ocorre entre diferentes tipos de vírus, mas isto é raro.

Cepas de vírus individuais ou mutantes são **selecionadas** por sua capacidade de usar a maquinaria da célula hospedeira e de sobreviver às condições do organismo e do meio. As propriedades celulares que podem agir como pressões seletivas incluem a taxa de crescimento da célula e a expressão tecido-específica de certas proteínas requeridas pelo vírus (p. ex., enzimas, glicoproteínas, fatores de transcrição). As condições do organismo, sua temperatura elevada, defesas imunes inatas e adquiridas e a estrutura do tecido também são pressões seletivas para os vírus. Os vírus que não conseguem sobreviver a estas condições ou evadir as defesas hospedeiras são eliminados. Uma pequena vantagem seletiva em um vírus mutante pode levá-lo rapidamente a se tornar a cepa viral predominante. A alta taxa de mutação do vírus da imunodeficiência humana promove uma mudança no tropismo da célula-alvo de macrófago para célula T, o desenvolvimento de cepas resistentes a fármacos antivirais após o tratamento e a geração de variantes antigênicas durante o curso da infecção de um paciente.

O crescimento do vírus sob condições laboratoriais benignas permite que cepas mais fracas sobrevivam por causa da ausência das pressões seletivas do organismo. Este processo é empregado para selecionar cepas virais atenuadas para o uso em vacinas.

Vetores Virais para Terapia

Os vírus geneticamente manipulados podem ser excelentes sistemas de transporte de genes estranhos. Os vírus podem promover uma terapia de reposição gênica, podem ser usados como vacinas para promover imunidade a outros agentes ou tumores e podem agir como assassinos direcionados a tumores. As vantagens da utilização dos vírus são que eles podem ser prontamente amplificados por replicação em células apropriadas e que são direcionados a tecidos específicos e liberam o DNA ou o RNA dentro da célula. Os vírus que estão sendo desenvolvidos como vetores incluem os retrovírus, adenovírus, vírus herpes simples, vírus adeno-associados (parvovírus), poxvírus (p. ex., vacínia e canaripox) (Fig. 54-3) e mesmo alguns togavírus. Os vetores virais são geralmente vírus atenuados ou defeituosos, nos quais o DNA estranho substitui um gene não essencial ou de virulência. O gene estranho pode estar sob controle de um promotor viral ou mesmo de um promotor tecido-específico. Os vetores de vírus defeituosos são crescidos em linhagens celulares que expressam as funções virais ausentes, "complementando" o vírus. A progênie pode transferir seu ácido nucleico, mas não pode produzir vírus infecciosos. Os retrovírus e os vírus adeno-associados podem integrar-se dentro das células e permanentemente colocar um gene dentro do cromossomo celular. O adenovírus e o vírus herpes simples promovem a transferência direcionada do gene estranho para as células apresentando o receptor. Vírus herpes simples geneticamente atenuados estão sendo desenvolvidos para matar especificamente as células em crescimento de glioblastomas, enquanto poupam os neurônios circundantes. O vírus da vacínia carreando um gene para a glicoproteína da raiva já está sendo usado com sucesso para imunizar guaxinins, raposas e gambás na natureza. Algum dia, os vetores virais poderão ser rotineiramente usados para tratar a fibrose cística, a distrofia muscular de Duchenne, doenças de armazenamento lisossômico e desordens imunológicas.

Questões

Descreva as características semelhantes e diferentes dos seguintes vírus.

a. Poliovírus e rinovírus

b. Poliovírus e rotavírus

c. Poliovírus e vírus da encefalite equina do oeste

d. Vírus da febre amarela e vírus da dengue

e. Vírus Epstein-Barr e citomegalovírus

a. Ambos são picornavírus e têm modo de replicação e estrutura semelhante. Porém, ao contrário dos poliovírus, os rinovírus são suscetíveis à ação de ácidos e temperatura.

b. Poliovírus e rotavírus possuem capsídeo e ambos são propagados pela via fecal-oral. Poliovírus tem o genoma constituído de RNA(+) e rotavírus tem genoma de RNA fita dupla.

c. Poliovírus e vírus da encefalite equina do oeste possuem genoma RNA(+) e infeccioso. O vírus da encefalite equina do oeste é um togavírus que pode gerar proteínas precoces e tardias a partir de tradução total ou parcial do genoma RNA. Este é um vírus envelopado e propagado por picada de mosquito.

d. Vírus da febre amarela e vírus da dengue são flavivírus, com genoma RNA(+),

envelopados e propagados por picada de mosquito.

e. EBV e CMV são herpesvírus e, portanto, possuem grandes genomas de DNA inseridos em capsídeos icosaédricos envoltos por envelope. Estes vírus possuem sistemas complexos de replicação que são controladas ao nível de transcrição de algumas células. Ambos os vírus são estritamente humanos, sendo que EBV infecta linfócitos B, enquanto CMV tem um amplo tropismo tecidual.

2. Correlacione as características da coluna A com as famílias virais apropriadas da coluna B, com base no seu conhecimento da estrutura física e do genoma e suas implicações.

A	*B*
1. São resistentes a detergentes	Picornavírus
2. São resistentes a ressecamento	Togavírus
3. Replicação no núcleo	Ortomixovírus
4. Replicação no citoplasma	Paramixovírus
5. Podem ser liberados da célula sem lise celular	Rabdovírus
6. Fornecem um bom alvo para a ação de fármacos antivirais	Reovírus
7. Sofrem reagrupamento na coinfecção com duas cepas	Retrovírus
8. Sintetizam DNA a partir de um molde de RNA	Herpesvírus

9. Usam um molde de RNA (+) para replicar o genoma	Papovavírus
10. O genoma é traduzido em uma poliproteína	Adenovírus
	Poxvírus
	Hepadnavírus

Ver tabela abaixo.

3. Baseando-se em considerações estruturais, quais famílias de vírus listadas na questão 2 deveriam ser capazes de resistir à transmissão fecal-oral?

Adenovírus, picornavírus, reovírus, papovavírus.

4. Relacione as enzimas essenciais codificadas pelas famílias de vírus listadas na questão 2.

DNA polimerase DNA-dependente: adeno, herpes e poxvírus

DNA polimerase RNA-dependente: hepadnavírus e retrovírus

RNA polimerase RNA-dependente: todas presentes em vírus de genoma

RNA, excepto retrovírus e hepadnavírus. Também poxvírus.

Integrase, protease: retrovírus

5. Um mutante defeituoso no gene da DNA polimerase do vírus herpes simples do tipo 1 replica-se na presença do vírus herpes simples do tipo 2. O vírus da progênie contém o genoma do vírus herpes simples do tipo 1, mas é reconhecido por anticorpos para o vírus herpes simples do tipo 2. Que mecanismos genéticos podem estar ocorrendo?

Complementação: Um gene do HSV-2 pode prover a atividade que está ausente no mutante.

Transcapsidação: O genoma do HSV-1 pode ser encapsidado e envelopado em uma HSV-2 partícula viral.

Recombinação: HSV-1 e HSV-2 compartilham semelhanças suficientes para permitir a recombinação dos dois genomas e a geração de um vírus híbrido.

6. Como os genes precoces e tardios dos togavírus, papovavírus e herpesvírus são distinguidos e como o tempo da sua expressão é regulado?

Os genes precoces de togavírus são expressos a partir do seu genoma RNA(+) (42S). Após, um mRNA subgenômico (26S) é transcrito do intermediário replicativo codificando as proteínas estruturais (tardias).

O genoma dos poliomavírus é circular e os genes precoces são transcritos em uma direção enquanto os genes tardios são transcritos no sentido oposto.

Os genes imediatamente precoces (*immediate early genes*) de herpesvírus são ativados

por proteínas de ligação ao DNA presentes nas células do hospedeiro. Os genes precoces são reconhecidos por proteínas virais e diferentes combinações das proteínas virais ativam a tradução das proteínas tardias. Assim, a replicação do genoma viral é iniciada.

7. Quais as consequências (sem efeito, redução da eficiência ou inibição da replicação) de uma mutação por deleção nas seguintes enzimas virais?

a. Polimerase do vírus Epstein-Barr

b. Timidina quinase do vírus do herpes simples

c. Transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana

d. Neuraminidase do vírus influenza B

e. e. Proteína G do vírus da raiva (rabdovírus)

ENZIMA	EFEITO
a. Polimerase de Epstein-Barr virus	Sem produção viral
b. Timidina quinase de HSV	Produção viral ineficiente, especialmente em neurônios
c. Transcriptase reversa de HIV	Sem produção viral
d. Neuraminidase de vírus influenza B	Produção viral muito ineficiente
e. Proteína G de rabdovírus	Sem produção viral

Bibliografia

Big Picture Book of Viruses on-line: Disponível em http://www.virology.net/Big_Virology/BVHomePage.html

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2001.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed, St. Louis: Mosby, 2004.

Electron microscopic images of viruses Electron microscopic images of viruses, by Linda Stannard, University of Capetown, South Africa, online: Disponível em www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/linda.html.

Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology. Pathogenesis and Control of Animal Viruses. Washington, DC: ASM Press. 2003;2nd ed.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical Virology. New York: Churchill Livingstone, 1997.

Rosenthal KS. Viruses: Microbial spies and saboteurs. *Infect Dis Clin Practice*. 2006;14:97-106.

Specter S, Hodinka RL, Young SA. Clinical Virology Manual, 3rd ed, Washington, DC: ASM Press, 2000.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.

Virology on the web Virology on the web: Disponível em http://www.virology.net/garryfavweb.html

Viruses in cell culture Viruses in cell culture: Disponível em www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/linda.html

* *Nota da Revisão Científica:* Como será abordado no Capítulo 51, a família Papavoviridae foi desmembrada em duas: Papilomaviridae e Poliomaviridae. Assim, atualmente o SV40

é considerado um poliomavírus.

5 Classificação, Estrutura e Replicação dos Fungos

Este capítulo fornece uma visão geral da classificação, estrutura, e reprodução dos fungos. Os aspectos básicos da organização celular e morfologia dos fungos são discutidos, assim como as principais categorias das micoses humanas. Simplificamos de modo intencional a taxonomia fúngica e a usamos para destacar as principais classes de fungos que causam doenças em seres humanos: os zigomicetos, os basidiomicetos, os arquiascomicetos, os hemiascomicetos e os euascomicetos.

A Importância dos Fungos

Os fungos representam um grupo ubíquo e diversificado de organismos, cujo propósito principal é degradar a matéria orgânica. Todos os fungos levam uma existência heterotrófica como **saprófitas** (organismos que vivem sobre material morto ou em decomposição), **simbiontes** (organismos que vivem juntos e para os quais a associação é de vantagens mútuas), **comensais** (organismos que vivem em uma íntima relação na qual um se beneficia da relação, e o outro não obtém benefícios nem é prejudicado), ou como **parasitas** (organismos que vivem sobre ou no interior de um hospedeiro do qual eles obtêm benefícios sem oferecer qualquer contribuição em retorno; no caso de patógenos, a relação causa dano ao hospedeiro).

Os fungos emergiram nas duas últimas décadas como causas principais de doenças humanas (Tab. 5-1), especialmente entre aqueles indivíduos que estão imunocomprometidos ou hospitalizados com graves doenças de base. Entre esses grupos de pacientes, os fungos atuam como patógenos oportunistas, causando considerável morbidade e mortalidade. A incidência global de infecções fúngicas invasivas continua a aumentar com o tempo (Tab. 5-2), e a lista de patógenos fúngicos oportunistas aumenta, da mesma forma, a cada ano. Em resumo, *não existem fungos não patogênicos!* Este aumento nas infecções fúngicas pode ser atribuído ao número em constante crescimento de pacientes imunocomprometidos, incluindo pacientes transplantados, indivíduos com AIDS, com câncer e sob quimioterapia, bem como indivíduos hospitalizados com outras doenças graves e submetidos a vários procedimentos invasivos.

Tabela 5-1 Incidência e Relações Caso-fatalidade de Taxas de Infecções Fúngicas Invasivas

Patógeno	Nº de Casos por Milhão por Ano	Relação Caso-fatalidade (%) por Primeiro Episódio
	Incidência	
Candida spp.	72,8	33,9
Cryptococcus spp.	65,5	12,7

Coccidioides immitis	15,3	11,1
Aspergillus spp.	12,4	23,3
Histoplasma capsulatum	7,1	21,4
Agentes de zigomicose	1,7	30,0
Agentes de hialohifomicose	1,2	14,3
Agentes de feohifomicose	1,0	0
Sporothrix schenckii	< 1	20,0
Malassezia spp.	< 1	0
Total	178,3	22,4

Adaptado a partir de Rees JR, et al: The epidemiological features of invasives mycotic infections in the San Francisco Bay Area, 1992-1993: Results of population-based laboratory active surveillance. Clin Infect Dis 27:1138-1147, 1998.

Tabela 5-2 Incidências Cumulativas de Determinadas Micoses Invasivas

Tabela 5-2. Incidências Cumulativas de Determinadas Micoses Invasivas

	Incidência por Milhão por Ano			
	CPHA[a]	CDC[b]	NHDS[c]	NHDS[d]
Micose	**1980-82**	**1992-93**	**1996**	**2003**
Candidose	2,6	72,8	228,2	290,0
Histoplasmose	13,9	7,1	13,6	ND
Aspergilose	8,4	12,4	34,3	22,0
Criptococose	4,0	65,5	29,6	ND

[a]CPHA, Comission on Hospital and Professional Activities (Reingold et al., 1986).
[b]CDC, Centers for Disease Control (Rees et al., 1998).
[c]NHDS, National Hospital Discharge Survey (Wilson et al., 2002).
[d]NHDS, National Hospital Discharge Survey (Pfaller and Diekema, 2007).
ND, Dados não disponíveis

Taxonomia, Estrutura e Replicação dos Fungos

Os fungos são classificados em um reino isolado, o reino Fungi. Eles são organismos eucarióticos que são distinguidos dos outros eucariotos através de uma parede celular rígida composta de quitina e glicano, e uma membrana plasmática na qual o colesterol é substituído pelo ergosterol como o principal componente esteroide (Fig. 5-1).

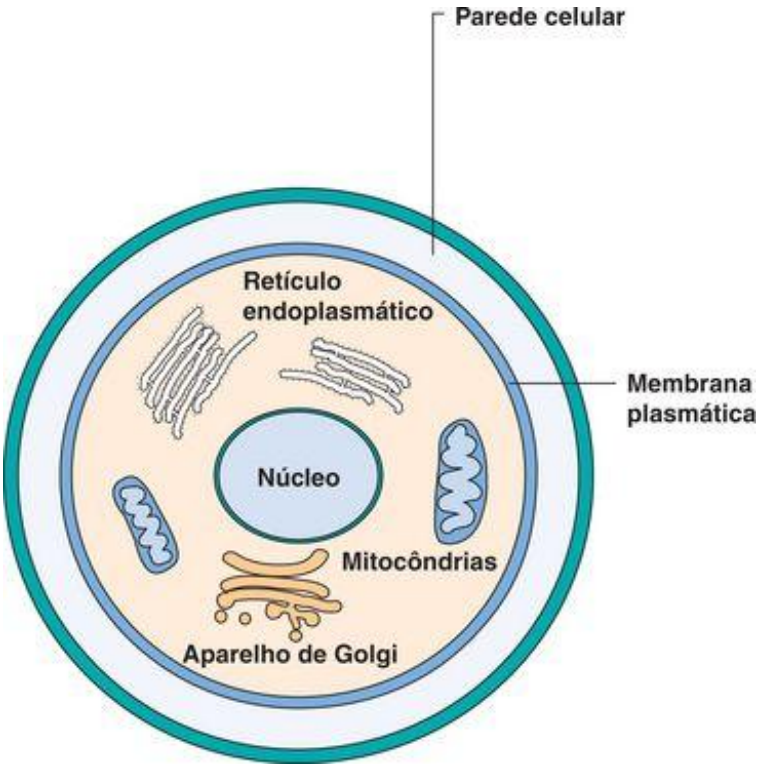


Figura 5-1 Diagrama de uma célula fúngica.

A taxonomia clássica dos fungos se baseia na morfologia e no modo de produção de esporos. Entretanto, os aspectos ultraestruturais, bioquímicos, e as características moleculares são aplicados de forma cada vez mais crescente, resultando frequentemente em alterações na designação taxonômica original. Os fungos podem ser unicelulares ou multicelulares. O grupo mais simples, baseado na morfologia, agrega os fungos como **leveduras** ou **fungos filamentosos**. Uma levedura pode ser definida morfologicamente como uma célula que se reproduz por brotamento ou por fissão (Fig. 5-2), onde uma célula progenitora ou "célula-mãe" destaca uma porção de si mesma para produzir uma progênie ou "célula-filha". As células-filhas podem se alongar para formar **pseudo-hifas**, em formato de salsicha. As leveduras são usualmente unicelulares e produzem colônias arredondadas, pastosas, ou mucoides no agar. Os fungos filamentosos, por outro lado, são organismos multicelulares que consistem de estruturas tubulares filamentosas chamadas **hifas** (Fig. 5-2) que se alongam em suas extremidades através de um processo conhecido como **extensão apical**. As hifas são **cenocíticas** (ocas e multinucleadas) ou **septadas** (divididas por septos ou paredes transversais) (Fig. 5-2). As hifas se mantêm unidas para produzir uma estrutura semelhante a um tapete denominado **micélio**. As colônias formadas por fungos filamentosos são frequentemente descritas como **filamentosas, algodonosas** ou **cotonosas**. Quando crescem no agar ou em outras superfícies sólidas, os fungos filamentosos produzem hifas, denominadas **hifas vegetativas**, que crescem sobre ou por entre a superfície do meio de cultura, e também hifas que se projetam por sobre a superfície do meio, chamadas de **hifas**

aéreas. As hifas aéreas podem produzir estruturas especializadas conhecidas como **conídios** (elementos reprodutivos assexuados) (Fig. 5-3). Os conídios podem ser produzidos por um processo blástico (brotamento) ou por um processo tálico, onde os segmentos das hifas se fragmentam em células individuais ou **artroconídios**. Os conídios são facilmente transmitidos pelo ar e servem para disseminar os fungos. O tamanho, o formato, e certos aspectos de desenvolvimento dos conídios são usados como um meio de identificar os fungos quanto ao gênero e à espécie. Muitos fungos de importância médica são denominados **dimórficos**, porque podem existir tanto sob a forma de levedura como sob a forma filamentosa.

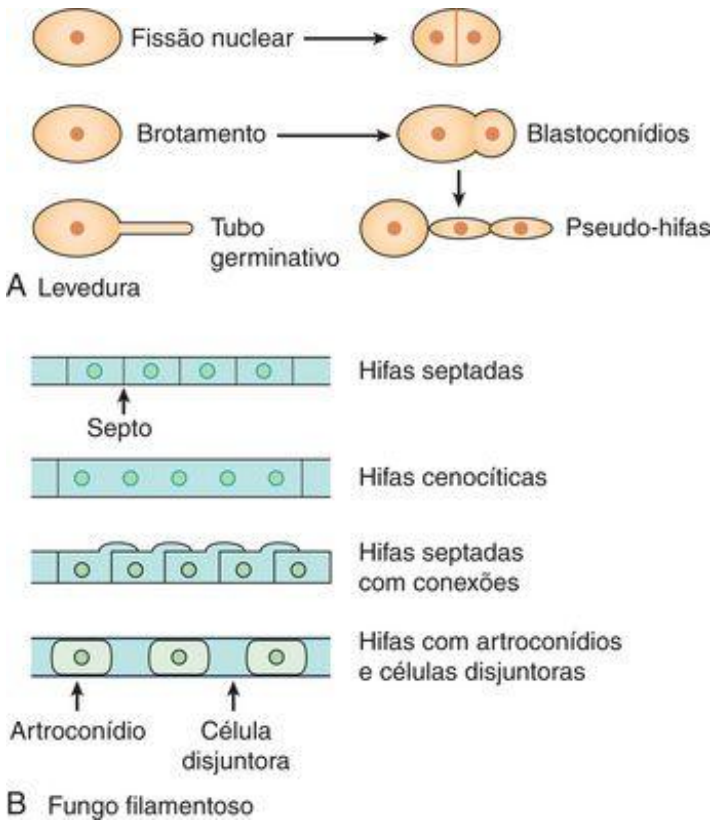


Figura 5-2 Morfologia das células fúngicas. **A**, Células de leveduras se reproduzindo por meio de fissão nuclear e pela formação de blastoconídios. O alongamento de células de leveduras em brotamento para formar pseudo-hifas é mostrado, assim como também a formação de um tubo germinativo. **B**, Tipos de hifas observadas em vários fungos filamentosos.

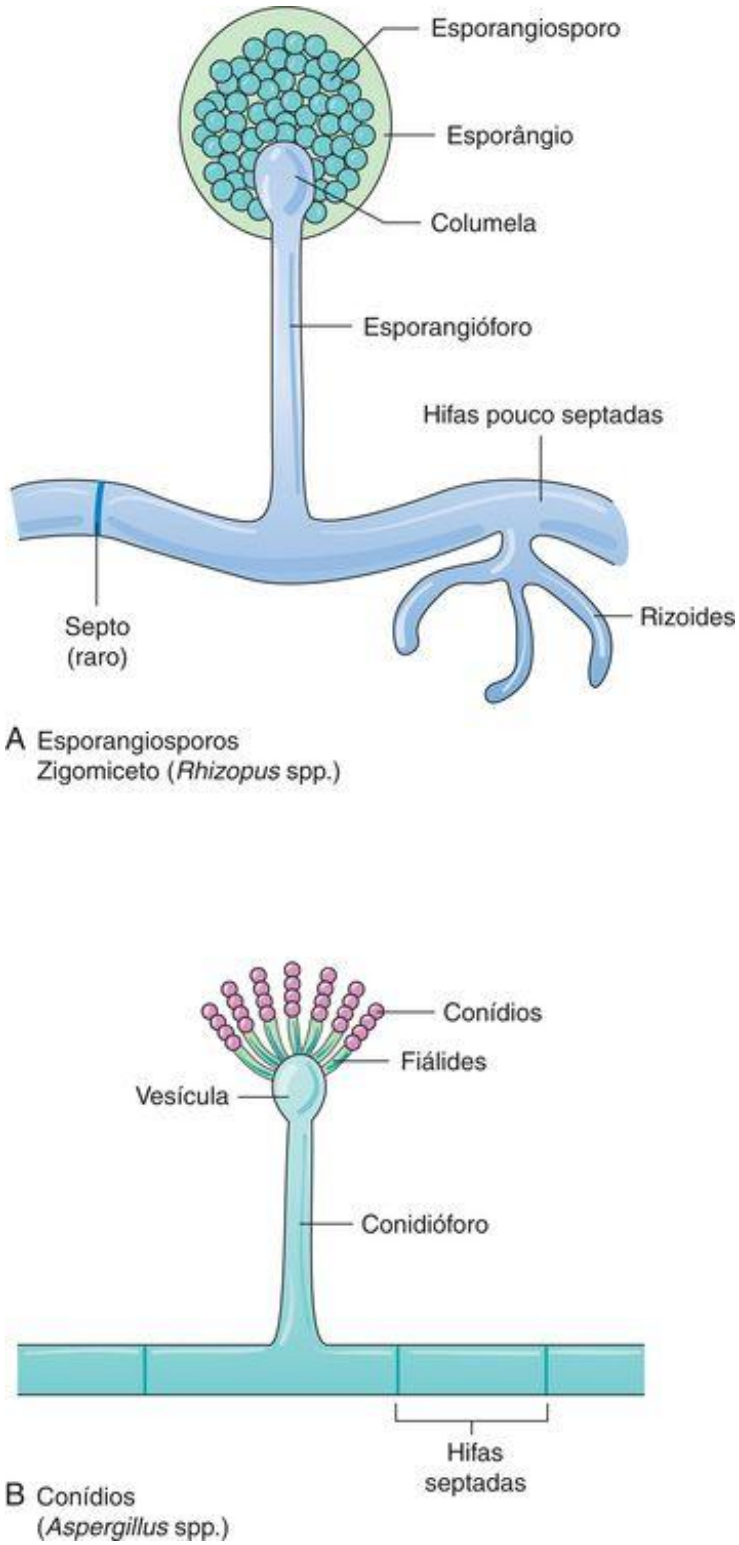


Figura 5-3 Exemplos de formação de esporos assexuados e estruturas associadas vistas em um zigomiceto (**A**) e um *Aspergillus* spp. (**B**).

A maioria dos fungos exibe respiração aeróbica, embora alguns sejam facultativamente anaeróbicos (fermentativos), e outros sejam estritamente aeróbicos. Sob o ponto de vista metabólico, os fungos são heterotróficos e bioquimicamente versáteis, produzindo metabólitos tanto primários (p. ex., ácido cítrico, etanol, glicerol) como secundários (p. ex., antibióticos [penicilina], amanitenos, aflatoxinas). Com relação às bactérias, os fungos crescem mais lentamente, com tempos de duplicação celular em termos de horas, em vez de minutos.

Um esquema taxonômico simplificado que lista as cinco principais classes de fungos de importância médica é mostrado na Tabela 5-3. Dos estimados vários milhares de fungos, apenas cerca de 200 são conhecidos como patógenos humanos, embora este número pareça estar aumentando.

Tabela 5-3 Fungos de Importância Clínica (Reino Fungi)

Designação Taxonômica	Gêneros Representativos	Doença Humana
Classe: Zigomicetos		
Ordem: Mucorales	*Rhizopus, Mucor, Absidia, Saksenaea*	Zigomicose: oportunista em pacientes com diabetes, leucemia, queimaduras severas, ou desnutrição; infecções rinocerebrais.
Ordem: Entomophtorales	*Basidiobolus, Conidiobolus*	Zigomicose: infecções subcutâneas e gastrointestinais
Classe: Basidiomicetos	Teleomorfos de *Cryptococcus, Malassezia*, e espécies de *Trichosporon*	Criptococose e numerosas micoses
Classe: Arquiascomicetos	*Pneumocystis jirovecii*	Pneumonia por *Pneumocystis*
Classe: Hemiascomicetos	Teleomorfos de espécies de *Candida; Saccharomyces*	Numerosas micoses
Classe: Euascomicetos		
Ordem: Onygenales	*Arthroderma* (teleomorfos de *Trichophyton* e *Microsporum*); *Ajellomyces* (teleomorfos de espécies de *Blastomyces* e *Histoplasma*)	Dermatofitoses; micoses sistêmicas
Ordem: Eurotiales	Teleomorfos de espécies de *Aspergillus*	Aspergilose
Ordem: Hypocrealues	Teleomorfos de espécies de *Fusarium*	Ceratite e outras micoses invasivas
Ordem: Microascales	*Pseudallescheria* (teleomorfo de espécies de *Scedosporium*)	Pneumonia, micetoma, e micoses invasivas

Adaptado a partir de Warnock DW: Taxonomy and classification of fungi. Em Murray PR, et al (eds): Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington, DC, ASM Press, 2007.

Os fungos se reproduzem através da formação de esporos, que podem ser sexuados (envolvendo meiose, precedida por fusão do protoplasma e núcleos de dois tipos compatíveis de acasalamento) ou assexuados (envolvendo apenas mitose). Os fungos nas classes de zigomicetos, arquiascomicetos, basidiomicetos, hemiascomicetos, e euascomicetos produzem esporos tanto sexuados como assexuados (Tab. 5-4). A forma do fungo que produz esporos sexuados é denominada **teleomorfo**, e a forma que produz esporos assexuados é denominada **anamorfo**. O fato de que o teleomorfo e o anamorfo do mesmo fungo tenham diferentes nomes (p. ex., *Ajellomyces capsulatum* [teleomorfo] e *Histoplasma capsulatum* [anamorfo]) é uma fonte de confusão para não micologistas.

Tabela 5-4 Características Biológicas, Morfológicas e Reprodutivas de Fungos Patogênicos

Tabela 5-4. Características Biológicas, Morfológicas e Reprodutivas de Fungos Patogênicos

Classe dos Organismos	Gêneros Representativos	Morfologia	Reprodução
Zigomicetos	*Rhizopus, Mucor, Absidia, Basidiobolus*	Largas hifas coenocíticas de parede delgada, 6-25 µm com lados não paralelos; esporos contidos no interior do esporângio; estruturas semelhantes a raízes chamadas de *rizoides*, características de alguns gêneros	Assexuada: produção de esporangiosporos dentro do esporângio. Sexuada: produção de zigosporos formados por fusão de tipos compatíveis para acasalamento
Basidiomicetos	Leveduras basidiomicetosas anamórficas (*Cryptococcus, Malassezia, Trichosporon*)	Leveduras em brotamento, hifas, e artroconídios. Hifas que produzem basidiósporos (não vistos na natureza ou em pacientes). Hifas com conexões reforçadas.	Assexuada: produção de conídios através de brotamento a partir de uma célula-mãe ou dentro de um fragmento de hifa. Sexuada: fusão de núcleos compatíveis seguida de meios e para formar basidiósporos ou não identificada
Arquiascomicetos	*Pneumocystis jirovecii*	Formas tróficas e estruturas semelhantes a cistos	Assexuada: fissão binária. Sexuada: fusão de tipos compatíveis para acasalamento para formar um zigoto; compartimentalização de esporos no interior do cisto.
Hemiascomicetos	*Candida* e *Saccharomyces*	Leveduras em brotamento e hifas, pseudo-hifas	Assexuada: produção de conídios através de brotamento a partir de uma célula-mãe. Sexuada: não vista ou por conjugação entre duas células isoladas ou através de conjugação do tipo "brotamento"
Euascomicetos	Dermatófitos, *Blastomyces, Histoplasma, Aspergillus, Fusarium*, espécies de *Scedosporium*	Leveduras em brotamento, hifas septadas, conídios assexuados nascidos em estruturas especializadas	Assexuada: produção de conídios através de brotamento de uma célula-mãe. Sexuada: ascósporos produzidos em uma estrutura especializada chamada de *asco*, ou não vista

Em alguns fungos, o estágio assexuado, ou anamorfo, tem se comprovado tão bem-sucedido como um meio de dispersão rápida e adaptação a novos hábitats, de modo que o estágio sexuado, ou teleomorfo, tenha desaparecido ou ainda não tenha sido descoberto. Mesmo na ausência do teleomorfo, é frequentemente possível associar estes fungos aos basidiomicetos, arquiascomicetos, ou hemiascomicetos com base nas sequências de DNA de seus anamorfos. No passado, estes fungos assexuados foram classificados em um grupo artificial, os "Fungi Imperfecti" (forma divisão Deuteromycota).

Independentemente da capacidade de um determinado fungo produzir esporos sexuados, em situações clínicas é comum se referir aos organismos por suas designações assexuadas. Isso se deve ao fato de o estado anamorfo (assexuado) estar isolado dos espécimes clínicos e a fase sexuada ou teleomórfica ocorrer apenas sob condições especiais no laboratório.

Os esporos assexuados consistem em dois tipos gerais: **esporangiosporos** e **conídios**. Os esporangiosporos são esporos assexuados produzidos em uma estrutura envoltória, ou **esporângios** (Fig. 5-3), e são característicos de gêneros pertencentes à classe dos zigomicetos, tais como *Rhizopus* e *Mucor* spp. Os conídios são esporos assexuados que surgem desnudos sobre estruturas especializadas, conforme visto em *Aspergillus* spp. (Fig. 5-3), *Penicillium* spp. e nos dermatófitos.

Zigomicetos

Os zigomicetos são fungos filamentosos com largas hifas cenocíticas, pouco septadas. Os zigomicetos produzem zigosporos sexuados após a fusão de dois tipos compatíveis para acasalamento. Os esporos assexuados da ordem Mucorales (Tab. 5-3) estão contidos no interior de um esporângio (esporangiosporos). Os esporângios nascem nas extremidades dos **esporangióforos** semelhantes a pedículos, que terminam em uma dilatação bulbosa denominada de **columela** (Fig. 5-3). A presença de estruturas semelhantes a raízes, chamadas de **rizoides**, é útil na identificação de gêneros específicos dentro da ordem Mucorales. A maioria dos zigomicetos encontrados clinicamente pertence à ordem Mucorales. A outra ordem, a Entomophthorales, é menos comum e inclui os gêneros *Basidiobolus* e *Conidiobolus*. Estes organismos causam a zigomicose subcutânea tropical. Os esporos assexuados nascem isoladamente em curtos esporóforos e são ejetados quando maduros.

Basidiomicetos

A maioria dos basidiomicetos tem uma forma filamentosa separada, mas alguns são típicas leveduras. A reprodução sexuada leva à formação de basidiósporos haploides na face externa de uma célula germinativa denominada de **basídio**. Os patógenos humanos mais proeminentes na classe dos basidiomicetos são as leveduras com estágios anamórficos que pertencem ao gênero *Cryptococcus, Malassezia*, e *Trichosporon*. O gênero *Cryptococcus*, que contém mais de 30 espécies diferentes, tem teleomorfos (estágios sexuados) que têm sido associados aos gêneros *Filobasidium* e *Filobasidiella*.

Arquiascomicetos

Os arquiascomicetos representam uma nova classe que foi recentemente descrita para incluir um organismo, *Pneumocystis carinii*, que tinha sido anteriormente considerado como um protozoário. A reclassificação do *Pneumocystis* foi baseada em evidências moleculares de que ele estava mais intimamente relacionado ao ascomiceto *Schizossaccharomyces pombe*. Estudos moleculares subsequentes resultaram na denominação de cepas derivadas de seres humanos como *Pneumocystis jirovecii*. O organismo existe em uma forma trófica vegetativa que se reproduz assexuadamente por fissão binária. A fusão de tipos compatíveis para acasalamento resulta em um cisto esférico ou caixa de esporos, a qual na maturidade contém oito esporos.

Hemiascomicetos

A classe hemiascomicetos contém leveduras (ordem Saccharomycetales), caracterizadas por células vegetativas de leveduras que proliferam através de brotamento ou fissão (Fig. 5-2A). Muitos membros da ordem Saccharomycetales têm um estágio anamórfico pertencente ao gênero *Candida* (Tab. 5-3). Este gênero, que consiste em aproximadamente 200 espécies anamórficas, tem teleomorfos em mais de 10 diferentes gêneros, incluindo *Clavispora, Debaromyces, Issatchenkia, Kluyveromyces* e *Pichia*.

Euascomicetos

Na classe dos euascomicetos, a reprodução assexuada leva à formação de um saco de paredes finas, ou asco, o qual contém os ascósporos haploides. Embora a maioria dos fungos filamentosos septados que são isolados no laboratório clínico pertença à classe dos euascomicetos, é incomum encontrar suas estruturas reprodutoras sexuadas em culturas de rotina.

Esta classe tem 12 ordens que incluem espécies patogênicas aos seres humanos. Entre as mais importantes estão a ordem Onygenales, que contém os dermatófitos e um número de patógenos sistêmicos dimórficos (incluindo *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis*); a ordem Eurotiales, a qual contém os teleomorfos dos gêneros anamórficos *Aspergillus* e *Penicillium*; a ordem Hypocrerales, contendo os teleomorfos do gênero anamórfico *Fusarium*; e a ordem Microascales, que contém os teleomorfos (*Pseudallescheria*) do gênero anamórfico *Scedosporium* (Tab. 5-3). Além disso, os teleomorfos de numerosos fungos melanizados (dematiáceos) de importância médica pertencem a ordens desta classe.

Classificação das Micoses Humanas

Além da classificação taxonômica formal dos fungos, as infecções fúngicas podem ser classificadas de acordo com o parasitismo tecidual, como também pelas características específicas dos grupos de organismos. Estas classificações incluem as micoses superficiais, cutâneas e subcutâneas, as micoses endêmicas, e as micoses oportunistas (Tab. 5-5).

Tabela 5-5 Classificação das Micoses Humanas e Agentes Etiológicos Representativos

Tabela 5-5. Classificação das Micoses Humanas e Agentes Etiológicos Representativos

Micoses Superficiais	Micoses Cutâneas e Subcutâneas	Micoses Endêmicas	Micoses Oportunistas
Piedra negra *Piedraia hortal* *Tinea nigra* *Hortae werneckii* Pitiríase versicolor *Malassezia* spp. Piedra branca *Trichosporon* spp.	Dermatofitoses *Microsporum* spp. *Trichophyton* spp. *Epidermophyton floccosum* Tinea unguium *Trichophyton spp.* *E. floccosum* Onicomicose *Candida spp.* *Aspergillus* spp. *Trichosporon spp.* *Geotrichum* spp. Ceratite micótica *Fusarium spp.* *Aspergillus* spp. *Candida* spp. Cromoblastomicose *Fonsecaea spp.* *Phialophora* spp.	Blastomicose *Blastomyces dermatitidis* Histoplasmose *Histoplasma capsulatum* Coccidioidomicose *Coccidioides immitis/ posadasii* Peniciliose *Penicillium marneffei* Paracoccidioidomicose *Paracoccidioides brasiliensis*	Aspergilose *Aspergillus fumigatus* *A. flavus* *A. niger* *A. terreus* Candidose *Candida albicans* *C. glabrata* *C. parapsilosis* *C. tropicalis* Criptococose *Cryptococcus spp.* *Tricosporonose* *Trichosporon* spp. Hialohifomicose *Acremonium spp.* *Fusarium spp.* *Paecilomyces spp.* *Scedosporium* spp. Zigomicose *Rhizopus spp.* *Mucor spp.* *Absidia* spp. Feohifomicose *Alternaria spp.* *Curvularia spp.* *Bipolaris spp.* *Wangiella* spp. Pneumocistose *Pneumocystis jirovecii*

Micoses Superficiais

As micoses superficiais são aquelas infecções que estão limitadas às superfícies da pele e dos pelos. Elas não são destrutivas e são apenas de importância estética. A infecção clínica denominada pitiriase versicolor é caracterizada pela descoloração ou despigmentação e descamação da pele. *Tinea nigra* se refere a manchas pigmentadas em castanho ou negro localizadas principalmente nas palmas das mãos. As entidades clínicas da piedra negra e piedra branca envolvem os pelos e são caracterizadas por nódulos compostos por hifas que envolvem as hastes dos pelos. Os fungos associados a estas infecções superficiais *incluem Malassezia* spp., *Hortae werneckii, Piedraia hortae* e *Trichosporon* spp.

Micoses Cutâneas

As micoses cutâneas são infecções da camada queratinizada da pele, dos pelos, e das unhas. Estas infecções podem provocar uma resposta do hospedeiro e se tornar sintomáticas. Os sinais e sintomas incluem prurido, descamação, cabelos quebradiços, manchas de formato anelar na pele, bem como unhas espessadas e opacas. Os dermatófitos são fungos classificados nos gêneros *Trichophytron, Epidermophyton* e *Microsporum*. As infecções da pele que envolvem tais organismos são denominadas **dermatofitoses**. A **Tinea unguium** se refere a infecções dos dedos dos pés que envolvem estes agentes. As onicomicoses incluem infecções das unhas causadas pelos dermatófitos e ainda por fungos não dermatófitos, como *Candida* spp. e *Aspergillus* spp.

Micoses Subcutâneas

As micoses subcutâneas envolvem as camadas mais profundas da pele, incluindo a córnea, os músculos e o tecido conjuntivo, e são causadas por um largo espectro de fungos taxonomicamente diversos. Os fungos ganham acesso aos tecidos mais profundos usualmente através de inoculação traumática e permanecem localizados, causando a formação de abscessos, úlceras que não cicatrizam, e fístulas que drenam. O sistema imunológico do hospedeiro reconhece os fungos, resultando em uma variável destruição tecidual e frequentemente uma hiperplasia epiteliomatosa. As infecções podem ser causadas por fungos filamentosos hialinos, tais como *Acremonium* spp. e *Fusarium* spp., e por fungos pigmentados ou dematiáceos, tais como *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. e *Exophiala* spp. (feohifomicoses, cromoblastomicoses). As micoses subcutâneas tendem a permanecer localizadas e raramente se disseminam sistemicamente.

Micoses Endêmicas

As micoses endêmicas são infecções fúngicas causadas pelos fungos dimórficos *Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis, Coccidioides posadasii*, e *Paracoccidioides brasiliensis* (patógenos clássicos). Estes fungos exibem dimorfismo térmico (existem como leveduras ou esférulas a 37°C, e como fungo filamentoso a 25°C) e geralmente estão confinados a regiões geográficas onde eles ocupam nichos ambientais ou ecológicos específicos. As micoses endêmicas são frequentemente referidas como **micoses sistêmicas**, porque estes organismos são verdadeiros patógenos e podem causar infecções em indivíduos saudáveis. Recentemente, o fungo dimórfico *Penicillium marneffei* foi adicionado à lista de agentes causadores de micoses endêmicas. Todos estes agentes produzem uma infecção primária no pulmão, com subsequente disseminação para outros órgãos e tecidos.

Micoses Oportunistas

As micoses oportunistas são infecções atribuídas aos fungos que são normalmente encontrados como comensais humanos ou no ambiente. Com exceção de *Cryptococcus* spp., estes organismos exibem uma virulência inerentemente baixa ou limitada, e causam infecções em indivíduos que estejam debilitados, imunossuprimidos ou que carreguem aparelhos protéticos implantados ou cateteres vasculares. Na prática, qualquer fungo pode atuar como um patógeno oportunista, e, desta maneira, a lista dos identificados se torna maior a cada ano. Os patógenos fúngicos oportunistas mais comuns são as leveduras *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., o mofo *Aspergillus* spp. e *Pneumocystis jirovecii*. Devido à sua inerente virulência, o *Cryptococcus* spp. é frequentemente considerado como um patógeno “sistêmico”. Embora este fungo possa causar infecção em indivíduos imunologicamente normais, ele é claramente visto mais frequentemente como um patógeno oportunista na população imunocomprometida.

Resumo

Com o número cada vez maior de indivíduos em risco de infecções fúngicas, é imperativo que médicos “pensem em fungos” quando do confronto com uma infecção suspeita. A lista de patógenos fúngicos documentados é extensa, e não se pode mais ignorar ou desconsiderar os fungos como “contaminantes” ou clinicamente insignificantes quando isolados a partir de material clínico. É também aparente que o prognóstico e a resposta à terapia possam variar com o tipo de fungo que causa a infecção, como também com o status imunológico do indivíduo. Desse modo, os médicos devem se tornar familiarizados com os vários fungos, seus aspectos epidemiológicos e patogênicos, e também com as abordagens ideais de diagnóstico e terapia. Essas questões serão discutidas em detalhe nos subsequentes capítulos de acordo com o esquema de classificação mostrado na Tabela 5-5.

Questões

1. Como os fungos diferem das bactérias (tamanho, núcleo, citossol, membrana plasmática, parede celular, fisiologia, tempo de geração)?

1. Fungos diferem das bactérias em vários aspectos. Geralmente, os fungos são 10 a 100 vezes maiores que as bactérias. Os fungos são são microrganismos eucarióticos, enquanto que as bactérias são procarióticas. Deste modo, os fungos contêm um núcleo bem definido, bem como organelas como mitocôndria, golgi e retículo endoplasmático (Fig. 7-1). A maioria dos fungos apresenta respiração aeróbica, embora alguns são anaeróbicos facultativos e outros estritamente anaeróbicos. Com relação às bactérias, os fungos são de crescimento lento com tempo de duplicação em horas em vez de minutos.

Propriedade	Correlação	Família
1. Resistentes à ação de detergentes	B,F,I,J	a. Ortomixovírus
2. Resistentes ao ressecamento	B,F,I,J	b. Picornavírus
3. Replicação no núcleo	A*, G, H, I, J	c. Togavírus
4. Replicação no citoplasma	B, C, D, E, F, K*, L*	d. Paramixovírus
5. Sofre liberação celular sem causar lise da célula	A, C, D, E, G, H, L	e. rabdovírus
6. Possui bom alvo para ação de antivirais	A, G, H, L	f. reovírus
7. Pode sofrer rearranjo durante coinfecção com duas cepas	A, F	g. retrovírus
8. produz DNA a partir de um molde de RNA	G, L	h. Herpesvírus
9. Usa um molde de RNA(+) para replicar o genoma	A, D, E, F, L*	i. papovavírus
10. Seu genoma é traduzido em uma poliproteína	B, C	j. adenovírus
		k. poxvírus
		l. hepadnavírus

* Exceções às regras estruturais

2. Como a membrana plasmática dos fungos difere da de outras células eucarióticas (p. ex., células de mamíferos)?

2. Em contraste com outras células eucarióticas (p. ex. mamíferos), a membrana plasmática dos fungos contém ergosterol em vez de colesterol como principal esterol da membrana.

3. Qual é a diferença entre uma levedura e um fungo filamento?

3. Em contraste com os fungos filamentosos, as leveduras são usualmente unicelulares, se reproduzem por brotamento ou fissão e produzem colônias cremosas, pastosas ou mucoides no agar. Os fungos filamentosos, por outro lado, são organismos multicelulares constituídos de estruturas tubulares chamadas hifas (Fig. 7-2) que se alongam na extremidade por um processo chamado de extensão apical. O conjunto de hifas produz uma estrutura chamada micélio. As colônias formadas pelos fungos filamentosos são descritas, algodonosas, cotonosas ou pulverulentas. As hifas podem produzir estruturas especializadas de reprodução assexual conhecidas como esporos ou conídios (Fig. 7-3).

4. O que os termos *anamorfo* e *teleomorfo* significam e por que eles são importantes?

4. A fase em que os fungos produzem esporos sexuais é chamada teleomórfica, e a forma de reprodução assexual de produção dos esporos é chamada anamórfica. Em situações clínicas é comum se referir ao organismo pela sua designação da forma assexuada. Isto ocorre porque o estado anamórfico (assexual) é o mais comumente isolado de espécies clínicas e o estado sexual ocorre em somente algumas condições especiais no laboratório.

Bibliografia

Pfaller MA, Diekema DJ. The epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:133-163.

Rees JR, et al. The epidemiological features of invasive mycotic infectios in the San Francisco Bay Area, 1992–1993 Results of population-based laboratory active surveillance. *Clin Infect Dis*. 1998;27:1138-1147.

Rheingold AL, et al. Systemic mycoses in the United States, 1980–1982. *J Med Vet Mycol*. 1986;24:433-436.

Warnock DW. Taxonomy and classification of fungi. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Wilson LS, et al. The direct cost and incidence of systemic fungal infections. *Value Health*. 2002;5:26-34.

6 Classificação, Estrutura e Replicação Parasitária

Este capítulo apresenta uma introdução à classificação e fisiologia parasitária. Esta breve revisão tem a intenção de aprimorar a compreensão do leitor sobre as inter-relações entre os organismos parasitários, sua epidemiologia e transmissão de doença, os processos de doença específicos envolvidos e as possibilidades para prevenção e controle das enfermidades. Tentamos, de forma deliberada, simplificar a taxonomia utilizando-a para referenciar as principais divisões envolvidas na parasitologia médica – especificamente, protozoários intestinais e urogenitais, protozoários sanguíneos e teciduais, nematoides, trematódeos, cestoides e artrópodes.

Importância dos Parasitos

A parasitologia médica compreende o estudo de animais invertebrados capazes de causar doenças em humanos e outros animais. Embora as doenças parasitárias sejam frequentemente consideradas “tropicais” e, portanto, de pouca importância para médicos que atuam nos países desenvolvidos e de clima mais temperado, é evidente que o mundo ficou muito pequeno e que o conhecimento dos médicos acerca das doenças parasitárias é essencial. O impacto global das infecções parasitárias e o número de mortes associadas a parasitos é abalador e deve ser motivo de preocupação para todos os profissionais de saúde (Tab. 6-1). Cada vez mais, turistas, missionários, voluntários das Forças de Paz e outros estão visitando e trabalhando por longos períodos de tempo em regiões exóticas e remotas do mundo. Portanto, essas pessoas encontram-se sob risco de infecções por parasitos ou outros agentes que são raros nos Estados Unidos ou em países mais desenvolvidos. Outra fonte de pacientes infectados provém do número cada vez maior de refugiados de países em desenvolvimento. Finalmente, os problemas de imunossupressão profunda que acompanham avanços na terapia médica (p. ex., transplante de órgãos), assim como aqueles associados a pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), colocam um número crescente de indivíduos sob risco de desenvolvimento de infecções causadas por certos parasitos. Com essas considerações, clínicos e técnicos de laboratório devem ficar atentos para a possibilidade da doença parasitária e devem ser treinados a solicitar, realizar e interpretar os testes laboratoriais apropriados para auxiliar no diagnóstico e terapia.

Tabela 6-1 Estimativa do Impacto Mundial das Infecções Parasitárias

Infecção	Carga da Doença em DALYs (milhares)*	Mortes (milhares) †
Malária	42.280	1124
Filaríase linfática	5644	0
Leishmaníase	2357	59
Ancilostomose	1825	–
Esquistossomíase	1760	15
Tricuríase	1649	–
Tripanossomíase africana	1598	50
Ascaríase	1181	–
Oncocercíase	987	0
Doença de Chagas	649	13

* *DALYs, do inglês disability-adjusted life years, anos perdidos por incapacidade (o número de anos saudáveis de vida perdidos devido à morte prematura e incapacidade).*

† *Dados de mortalidade incluídos quando disponíveis.*

Adaptado de Edwards G, Krishna S: Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of parasite infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 23:233-242, 2004; e Hoetz PJ, et al: Control of neglected tropical diseases. N Engl J Med 357:1018-1027, 2007.

Classificação e Estrutura

Os parasitos de humanos são classificados dentro de quatro reinos eucarióticos: Protozoa, Animalia (Metazoa), Fungi e Chromista (Tab. 6-2). Tradicionalmente, a classificação parasitária levou em consideração a morfologia de estruturas intracitoplasmáticas, como o núcleo, o tipo de organelas de locomoção e o modo de reprodução (Tab. 6-3). Mais recentemente, o novo consenso taxonômico tem sido baseado principalmente nos avanços do nosso entendimento da bioquímica e biologia molecular de organismos inferiores (p. ex., Protozoa, Fungi e Chromista). Comparações da subunidade menor do RNA ribossomal (SSU rRNA) e sequências de proteínas tornaram possível o arranjo de organismos dentro de grupos baseados nas distâncias evolutivas. Além disso, a identificação de certas organelas encontradas em células eucarióticas, com suas origens procarióticas, tornou possível organizar todos os organismos vivos em um esquema taxonômico realístico e evolutivamente sólido. Organismos pertencentes aos reinos Protozoa e Chromista são animais nos quais as funções vitais ocorrem em uma única célula. Os microsporídios também são organismos unicelulares e foram previamente classificados dentro dos protozoários; entretanto, atualmente se acredita que estejam mais proximamente relacionados aos fungos do que aos protozoários e os microsporídios têm sido reclassificados como pertencentes ao reino Fungi. Apesar desta reclassificação, existe relutância entre os parasitologistas em ceder esse grupo, enquanto micologistas estão relutantes em aceitá-lo. Por questões históricas, bem como razões diagnósticas, epidemiológicas e terapêuticas, manteremos a discussão dos microsporídios em conjunto com o reino Protozoa, entendendo que eles são mais relacionados aos fungos. Os membros do reino Animalia, também conhecidos como **metazoários**, são animais multicelulares nos quais as funções vitais ocorrem em estruturas celulares organizadas como sistemas de órgãos e tecidos.

Tabela 6-2 Parasitos de Importância Médica

Reino	Filo	Organismos
Protozoa	Metamonada (flagelados)	*Giardia, Chilomastix*
	Parabasalia (flagelados)	*Dientamoeba, Trichomonas*
	Percolozoa (flagelados)	*Naegleria*
	Euglenozoa (flagelados)	*Leishmania, Trypanosoma*
	Amoebozoa (ameba)	*Acanthamoeba, Balamuthia, Entamoeba*
	Sporozoa (esporozoários)	*Cryptosporidium, Cyclospora, Toxoplasma, Babesia, Plasmodium*
	Ciliophora (ciliados)	*Balantidium coli*
Chromista	Bigyra	*Blastocystis hominis*
Fungi	Microspora (microsporídios)	*Encephalitozoon, Enterocytozoon, Brachiola, Microsporidium, Nosema*
Animalia	Nemathelminthes (Nematoda, nematoides)	*Trichinella, Trichuris, Ancylostoma, Necator, Ascaris, Dracunculus*, filária, *Enterobius, Strongyloides*
	Platyhelminthes	Trematódeos, Cestoides
	Arthropoda	Crustáceos, aranhas, insetos, hemípteras

Tabela 6-3 Características Biológicas, Morfológicas e Fisiológicas dos Parasitos

Patogênicos – Continuação

Tabela 6-3. Características Biológicas, Morfológicas e Fisiológicas dos Parasitos Patogênicos

Classe do Organismo	Morfologia	Reprodução	Organelas de Locomoção	Respiração	Nutrição
Protozoa					
Ameba	Unicelular; formas de cisto e trofozoíta	Fissão binária	Pseudópodes	Anaeróbios facultativos	Assimilação por pinocitose ou fagocitose
Flagelados	Unicelular; formas de cisto e trofozoíta; possivelmente intracelular	Fissão binária	Flagelos	Anaeróbios facultativos	Difusão simples ou ingestão via citóstoma, pinocitose, ou fagocitose
Ciliados	Unicelular; cistos e trofozoítas	Fissão binária ou conjugação	Cílios	Anaeróbios facultativos	Ingestão via citóstoma, vacúolo digestivo
Sporozoa	Unicelular, frequentemente intracelular; múltiplas formas, incluindo trofozoítas, esporozoítas, cistos (oocistos), gametas	Esquizogonia e esporogonia	Nenhuma	Anaeróbios facultativos	Difusão simples
Fungi					
Micros-porídios	Formas intracelulares obrigatórias; células pequenas simples e esporos	Fissão binária, esquizogonia, e esporogonia	Nenhuma	Anaeróbios facultativos	Difusão simples
Helmintos					
Nematoides	Multicelulares; cilíndricos, lisos, em forma de fuso, trato alimentar tubular; possibilidade de dentes ou placas para fixação	Sexos separados	Sem organela única; motilidade muscular ativa	Adultos: normalmente anaeróbios; larvas: possivelmente aeróbias	Ingestão ou absorção de fluidos corpóreos, tecidos, ou conteúdo digestivo
Trematódeos	Multicelulares; formato de folha com ventosas orais e ventrais, trato alimentar de fundo cego	Hermafroditas (o grupo dos *Schistosoma* apresenta sexos separados)	Sem organela única; motilidade direcionada por músculo	Adultos: normalmente anaeróbios	Ingestão ou absorção de fluidos corpóreos, tecidos, ou conteúdo digestivo
Cestoides	Multicelulares; cabeça com corpo segmentado (proglotes); ausência de trato alimentar; cabeça equipada com ganchos e/ou ventosas para fixação	Hermafroditas	Sem organela única; normalmente fixação à mucosa; possível motilidade muscular (proglotes)	Adultos: normalmente anaeróbios	Absorção de nutrientes do intestino
Artrópodes					
Myriapoda	Alongados; muitas pernas; cabeça e troncos distintos; garras venenosas no primeiro segmento	Sexos separados	Pernas	Aeróbios	Carnívoro
Pentastomida	Vermiformes; cilíndricos ou achatados; duas regiões do corpo distintas; órgãos digestivos e reprodutores; ausência de sistemas circulatório e respiratório	Sexos separados	Motilidade direcionada por músculo	Aeróbios	Ingestão de fluidos corpóreos e tecidos

(*Continua*)

Tabela 6-3. Características Biológicas, Morfológicas e Fisiológicas dos Parasitos Patogênicos – Continuação

Classe do Organismo	Morfologia	Reprodução	Organelas de Locomoção	Respiração	Nutrição
Crustacea	Carapaça externa rígida; um par de maxilas; cinco pares de pernas birramosas	Sexos separados	Pernas	Aeróbios	Ingestão de fluidos corpóreos e tecido, carnívoros
Chelicerata (Arachnida)	Corpo dividido em cefalotórax e abdome; oito patas e presas venenosas	Sexos separados	Patas	Aeróbia	Carnívora
Insecta	Corpo: cabeça, tórax e abdome; um par de antenas; três pares de apêndices, até dois pares de asas	Sexos separados	Patas, asas	Aeróbia	Ingestão de fluidos e tecidos

Protozoa

Os protozoários são microrganismos simples que variam em tamanho de 2 a 100 µm. Possuem protoplasma envolto por uma membrana celular e contendo numerosas organelas, incluindo um núcleo aderido à membrana, um retículo endoplasmático, grânulos de armazenamento de nutrientes e vacúolos contráteis e digestivos. O núcleo contém cromatina agrupada ou dispersa e um cariossoma central. Órgãos de motilidade variam de simples extrusões citoplasmáticas ou pseudópodes a estruturas mais complexas, como flagelos e cílios. O reino Protozoa compreende 13 subgrupos principais, ou filos, sete dos quais têm importância na parasitologia médica.

Os Flagelados: Metamonada, Parabasalia, Percolozoa e Euglenozoa

Previamente agrupados no antigo subfilo Mastigophora, os flagelados são agora distribuídos em quatro filos, Metamonada, Parabasalia, Percolozoa e Euglenozoa. Os flagelados movimentam-se por intermédio de seus flagelos, que se assemelham a chicotes. O número e a posição dos flagelos variam grandemente nas diferentes espécies. Além disso, estruturas especializadas associadas aos flagelos podem produzir uma aparência morfológica característica, que pode ser útil na identificação das espécies.

Amoebozoa

O filo Amoebozoa, contendo as amebas, é equivalente ao antigo subfilo Sarcodina. A locomoção das amebas se realiza através da extrusão de pseudópodes (“falsos pés”). As amebas são fagocíticas e contêm mitocôndrias com cristas tubulares.

Sporozoa

Os organismos do filo Sporozoa são frequentemente referidos como **Apicomplexa** ou **Coccidia**. O filo Sporozoa inclui um grande grupo de protozoários de reprodução sexuada e formadores de esporos, comparáveis a ciclos de vida e morfologias semelhantes ao nível da microscopia eletrônica. Esses organismos possuem um sistema de organelas produtor de substâncias na extremidade apical que os auxiliam a penetrar nas células do hospedeiro e, desta forma, tornam-se parasitos intracelulares.

Ciliophora

O filo Ciliophora consiste de ciliados, que incluem uma grande variedade de espécies de vida livre e simbióticas. A locomoção dos ciliados envolve o movimento coordenado de fileiras de estruturas semelhantes a fios de cabelo ou cílios. Os cílios são estruturalmente semelhantes aos flagelos, mas geralmente mais curtos e numerosos. Alguns ciliados são multinucleados. O único ciliado parasito de seres humanos, o *Balantidium coli*, contém dois núcleos: um macronúcleo grande e um micronúcleo pequeno.

Chromista

O reino Chromista foi criado em 1989 para acomodar diversos organismos semelhantes a plantas, na grande maioria algas, que originalmente eram quimeras entre hospedeiros biflagelados eucarióticos e algas vermelhas simbióticas que perderam seus cloroplastos ao longo da evolução, mas que ainda retêm elementos de seus ancestrais, as algas vermelhas. Apesar de ter sido previamente classificado nos reinos Fungi e Protozoa, o *Blastocystis hominis* é atualmente alocado no reino Chromista (filo Bigyra, classe Blastocystea) com base em análises do rRNA 18S e outras evidências moleculares. O *B. hominis* é o primeiro chromista conhecido que parasita humanos.

Fungi

Microspora (Microsporídios)

Anteriormente classificados como Protozoa, os microsporídios são hoje considerados fungos degenerados, baseando-se nas sequências de α- e β-tubulina e nos estudos de filogenia molecular para a chaperona hsp70. Evidências adicionais acerca da natureza fúngica dos microsporídios incluem esporos com paredes de quitina, ausência de complexos de Golgi e um mecanismo mitótico que é indistinguível daquele dos fungos ascomicetos. Os organismos pertencentes ao filo Microspora são pequenos parasitos intracelulares que não apresentam mitocôndrias e peroxissomos. São também caracterizados pela estrutura de seus esporos, que apresentam um mecanismo de extrusão tubular complexo (túbulo polar) utilizado para injetar o material infectante (esporoplasma) no interior das células hospedeiras. A origem do túbulo polar e desse particular método de infecção é considerada tanto necessária quanto suficiente para a origem do parasitismo intracelular.

Animalia (Metazoa)

O reino Animalia (Metazoa) inclui todos os organismos eucarióticos que não são pertencentes aos reinos Protozoa, Chromista ou Fungi. Este capítulo discute dois amplos grupos de organismos de maior importância: os helmintos (“vermes”) e os artrópodes (caranguejos, insetos, carrapatos e os semelhantes).

Helmintos

Os helmintos são organismos multicelulares complexos alongados e bilateralmente simétricos. São consideravelmente maiores do que os protozoários parasitos e geralmente macroscópicos, variando em tamanho menor de 1 mm a 1 m ou mais. A superfície externa de alguns vermes é recoberta por uma cutícula protetora, que é acelular e pode ser lisa ou possuir projeções, espinhos ou tubérculos. A cobertura protetora dos vermes achatados (platelmintos) é denominada **tegumento**. Frequentemente, os helmintos possuem estruturas de fixação elaboradas como ganchos, ventosas, dentes ou placas. Essas estruturas estão normalmente localizadas na região anterior e podem ser úteis na classificação e identificação dos organismos (Tab. 6-3). Os helmintos tipicamente apresentam sistemas nervoso e excretório primitivos. Alguns apresentam tratos alimentares; entretanto, nenhum apresenta sistema circulatório. Os helmintos são separados em dois filos, os Nemathelminthes e os Platyhelminthes.

Nemathelminthes

O filo Nemathelminthes consiste nos vermes cilíndricos, que possuem corpos cilíndricos. Os sexos dos nematoides são separados e esses organismos apresentam um sistema digestivo completo. Os Nemathelminthes podem ser parasitos intestinais ou podem infectar o sangue e os tecidos.

Platyhelminthes

O filo Platyhelminthes consiste nos vermes achatados, que apresentam corpos que se assemelham a folhas ou se parecem com segmentos de fita. Os Platyhelminthes podem ser adicionalmente divididos em trematódeos e cestoides.

Trematodes, ou trematódeos, apresentam corpos com aspecto de folha. A maioria é hermafrodita, com órgãos sexuais masculinos e femininos em um único corpo. Os sistemas digestivos são incompletos e apenas apresentam tubos em forma de saco. Os ciclos de vida são complexos; caramujos servem como primeiros hospedeiros intermediários e outros animais ou plantas aquáticas atuam como segundos hospedeiros intermediários.

Cestoides, ou vermes em forma de fita, apresentam o corpo composto de fitas de proglotes ou segmentos. Todos são hermafroditas e não apresentam sistema digestivo, sendo que os nutrientes são absorvidos através das paredes do corpo. Os ciclos de vida de alguns cestoides são simples e diretos, enquanto o de outros são complexos e requerem um ou mais hospedeiros intermediários.

Artrópodes

O filo Arthropoda é o maior grupo de animais no reino Animalia. Os artrópodes são

organismos multicelulares complexos, que podem estar diretamente envolvidos em causar processos de doença invasivos ou superficiais (infestação), ou indiretamente como hospedeiros intermediários e vetores de muitos agentes infecciosos, incluindo protozoários e helmintos parasitos (Tab. 6-4). Além disso, o envenenamento através de picada e ferroada de artrópodes pode resultar em reações adversas em humanos, que variam de reações alérgicas e de hipersensibilidade locais, a severo choque anafilático e morte. Existem cinco grandes categorias de artrópodes.

Tabela 6-4 Transmissão e Distribuição dos Parasitos Patogênicos – Continuação

Tabela 6-4. Transmissão e Distribuição dos Parasitos Patogênicos

Organismo	Forma Infectante	Mecanismo de Dispersão	Distribuição
Protozoários Intestinais			
Entamoeba histolytica	Cisto/trofozoíta	Indireto (fecal-oral) Direto (venéreo)	Cosmopolita
Giardia lamblia	Cisto	Via fecal-oral	Cosmopolita
Dientamoeba fragilis	Trofozoíta	Via fecal-oral	Cosmopolita
Balantidium coli	Cisto	Via fecal-oral	Cosmopolita
Isospora belli	Oocisto	Via fecal-oral	Cosmopolita
Espécies de *Cryptosporidium*	Oocisto	Via fecal-oral	Cosmopolita
Enterocytozoon bieneusi	Esporo	Via fecal-oral	América do Norte, Europa
Protozoários Urogenitais			
Trichomonas vaginalis	Trofozoíta	Via Direta (venérea)	Cosmopolita
Protozoários Sanguíneos e Teciduais			
Espécies de *Naegleria* e *Acanthamoeba*	Cisto/Trofozoíta	Inoculação direta, inalação	Cosmopolita
Espécies de *Plasmodium*	Esporozoíta	Mosquito *Anopheles*	Áreas tropicais e subtropicais
Espécies de *Babesia*	Corpo piriforme	Carrapato ixodídeo	América do Norte, Europa
Toxoplasma gondii	Oocistos e cistos teciduais	Via fecal-oral, carnivorismo	Cosmopolita
Espécies de *Leishmania*	Promastigota	Flebotomíneo	Áreas tropicais e subtropicais
Trypanosoma cruzi	Tripomastigota	Inseto Reduviídeo	América do Norte, Central e do Sul
Trypanosoma brucei	Tripomastigota	Mosca Tsé-tsé	África
Nematoides			
Enterobius vermicularis	Ovo	Via fecal-oral	Cosmopolita
Ascaris lumbricoides	Ovo	Via fecal-oral	Áreas de saneamento básico precário
Espécies de *Toxocara*	Ovo	Via fecal-oral	Cosmopolita
Trichuris trichiura	Ovo	Via fecal-oral	Cosmopolita
Ancylostoma duodenale	Larva filarioide	Penetração direta na pele via solo contaminado	Áreas tropicais e subtropicais
Necator americanus	Larva filarioide	Penetração direta na pele, autoinfecção	Áreas tropicais e subtropicais
Strongyloides stercoralis	Larva filarioide	Penetração direta na pele, autoinfecção	Áreas tropicais e subtropicais
Trichinella spiralis	Larva encistada em tecido	Carnivorismo	Cosmopolita
Wuchereria bancrofti	Larva de terceiro estádio	Mosquito	Áreas tropicais e subtropicais
Brugia malayi	Larva de terceiro estádio	Mosquito	Áreas tropicais e subtropicais
Loa loa	Larva filarioide	Mosca *Chrysops*	África
Espécies de *Mansonella*	Larva de terceiro estádio	Simulídeos ou borrachudos	África, América Central e do Sul
Onchocerca volvulus	Larva de terceiro estádio	Simulídeos	África, América Central e do Sul

Tabela 6-4. Transmissão e Distribuição dos Parasitos Patogênicos – Continuação

Organismo	Forma Infectante	Mecanismo de Dispersão	Distribuição
Dracunculus medinensis	Larva de terceiro estádio	Ingestão de *Cyclops* infectados	África, Ásia
Dirofilaria immitis	Larva de terceiro estádio	Mosquito	Japão, Austrália, Estados Unidos
Trematódeos			
Fasciolopsis buski	Metacercária	Ingestão de metacercária encistada em plantas aquáticas	China, Sudeste da Ásia, Índia
Fasciola hepatica	Metacercária	Metacercária em plantas aquáticas	Cosmopolita
Opisthorchis (Clonorchis) sinensis	Metacercária	Metacercária encistada em peixes de água doce	China, Japão, Coreia, Vietnã
Paragonimus westermani	Metacercária	Metacercária encistada em crustáceos de água doce	Ásia, África, Índia, América Latina
Schistosoma spp.	Cercária	Penetração direta pela pele de cercárias que nadam livremente	África, Ásia, Índia, América Latina
Cestoides			
Taenia solium	Cisticerco, ovo embrionado ou proglote	Ingestão de suíno infectado; ingestão de ovo (cisticercose)	Países que consomem suínos: África, Sudeste da Ásia, China, América Latina
Taenia saginata	Cisticerco	Ingestão de cisticerco na carne	Cosmopolita
Diphyllobothrium latum	Espargano	Ingestão de espargano em peixe	Cosmopolita
Echinococcus granulosus	Ovo embrionado	Ingestão de ovos a partir de caninos infectados	Países que criam ovelhas: Europa, Ásia, África, Austrália, Estados Unidos
Echinococcus multilocularis	Ovo embrionado	Ingestão de ovos liberados por animais infectados, rota fecal-oral	Canadá, Norte dos Estados Unidos, Europa Central
Hymenolepis nana	Ovo embrionado	Ingestão de ovos, via fecal-oral	Cosmopolita
Hymenolepis diminuta	Cisticerco	Ingestão de larvas de besouros infectados presentes em grãos contaminados	Cosmopolita
Dipylidium caninum	Cisticercoide	Ingestão de pulgas infectadas	Cosmopolita

Myriapoda

Os Myriapoda (anteriormente denominados de Chilopoda) têm formas terrestres, como as centopeias. Estes organismos possuem importância médica devido as suas garras venenosas, que podem produzir “picadas” dolorosas.

Pentastomida

Os pentastomídeos, ou vermes em forma de língua, são endoparasitos hematófagos de répteis, aves e mamíferos. Os pentastomídeos adultos são parasitos esbranquiçados, cilíndricos ou achatados, possuindo duas regiões corpóreas distintas: um cefalotórax anterior e um abdome. Os humanos podem servir como hospedeiros intermediários para esses parasitos.

Crustacea

Os crustáceos têm formas aquáticas familiares como os caranguejos, lagostins, camarões

e copépodes. Vários estão envolvidos como hospedeiros intermediários nos ciclos de vida de inúmeros helmintos intestinais ou do sangue e tecidos.

Chelicerata

Os Chelicerata (anteriormente denominados de Arachnida) têm formas familiares terrestres, como os ácaros, carrapatos, aranhas e escorpiões. Diferente dos insetos, esses animais não possuem asas ou antenas e os adultos têm quatro pares de patas, ao contrário dos três pares dos insetos. De importância médica estão os que atuam como vetores para doenças microbianas (ácaros e carrapatos) ou os animais venenosos que picam (aranhas) ou ferroam (escorpiões).

Insecta

Os Insecta apresentam formas familiares aquáticas e terrestres, como mosquitos, moscas, outros dípteros hematófagos, pulgas, piolhos, vespas e formigas. Asas e antenas estão presentes e as formas adultas possuem três pares de patas. Muitos insetos que servem como vetores de doenças microbianas (mosquitos, moscas, piolhos e hemípteras) e os animais venenosos que ferroam (abelhas, vespas e formigas) apresentam importância médica.

Fisiologia e Replicação

As necessidades nutricionais dos protozoários parasitos são geralmente simples e requerem a assimilação de nutrientes orgânicos. As amebas, ameboflagelados e outros protozoários alcançam esta assimilação pelo processo mais primitivo de pinocitose ou fagocitose de moléculas solúveis ou particuladas (Tab. 6-3). O material englobado é inserido em vacúolos digestivos. Os flagelados e ciliados geralmente ingerem nutrientes através de um local ou estrutura definida, o perístoma ou citóstoma. Outros parasitos unicelulares, como os microsporídios intracelulares, assimilam nutrientes por difusão simples. O material alimentar ingerido pode ser retido em grânulos intracitoplasmáticos ou em vacúolos. As partículas não digeridas e os resíduos podem ser eliminados da célula através da extrusão do material na superfície celular. A respiração na maioria dos protozoários parasitos é realizada através de processos anaeróbios facultativos.

Para garantir a sobrevivência em condições ambientais severas ou desfavoráveis, muitos protozoários parasitos se desenvolvem na forma cística, a qual é metabolicamente menos ativa. O cisto é circundado por uma parede celular externa espessa, capaz de proteger o organismo de danos físicos e químicos letais. A forma cística é parte integrante do ciclo de vida de muitos protozoários parasitos e facilita a transmissão do organismo de um hospedeiro para outro no ambiente externo (Tab. 6-4). Parasitos que não são capazes de formar cistos dependem da transmissão direta de hospedeiro para hospedeiro ou requerem um artrópode vetor para completar seu ciclo de vida (Tab. 6-4).

Além da formação do cisto, muitos protozoários parasitos desenvolveram mecanismos elaborados para evadir a resposta imune, que permitem responder ao ataque do sistema imune do hospedeiro, através de modificações contínuas dos seus antígenos de superfície, desta forma garantindo a sobrevivência no hospedeiro. A reprodução entre os protozoários ocorre geralmente por fissão binária simples (merogonia), embora o ciclo de vida de alguns representantes do filo, como os esporozoários, inclua ciclos de múltipla fissão (esquizogonia) alternando com um período de reprodução sexuada (esporogonia ou gametogonia).

Animalia (Metazoa)

Helmintos

As necessidades nutricionais dos helmintos parasitos são supridas através da ingestão ativa de tecido e/ou fluidos do hospedeiro, com resultante destruição tecidual, ou através da absorção passiva dos nutrientes dos fluidos circunjacentes e conteúdos intestinais (Tab. 6-3). A motilidade muscular de muitos helmintos consome considerável energia e os vermes rapidamente metabolizam carboidratos. Os nutrientes são armazenados na forma de glicogênio, cujo estoque é bastante elevado na maioria dos helmintos. Semelhante a dos protozoários, a respiração dos helmintos é primariamente anaeróbia, apesar das larvas poderem necessitar de oxigênio.

Uma proporção significativa das necessidades energéticas dos helmintos é dedicada a manter o processo reprodutivo. Muitos vermes são bastante prolíficos, produzindo tanto quanto 200.000 descendentes a cada dia. Em geral, os helmintos parasitos depositam ovos (ovíparos), apesar de poucas espécies poderem parir larvas vivas (vivíparos). As larvas resultantes são sempre morfologicamente distintas dos parasitos adultos e devem passar por diversos estádios de desenvolvimento ou mudas antes de atingir o estádio adulto.

A principal barreira protetora para a maioria dos helmintos é a camada externa resistente (cutícula ou tegumento). Os vermes também podem secretar enzimas que destroem as células do hospedeiro e neutralizam os mecanismos de defesas imunológicas e celulares. Semelhante aos protozoários parasitos, alguns helmintos possuem habilidade de alterar as propriedades antigênicas de suas superfícies externas e, portanto evadir a resposta imune do hospedeiro. Isto é em parte conseguido através da incorporação de antígenos do hospedeiro em sua camada cuticular externa. Desta forma, o verme evita o reconhecimento imunológico e, em algumas doenças (p. ex., esquistossomíase), permite que o parasito sobreviva no hospedeiro por décadas.

Artrópodes

Os artrópodes possuem corpos segmentados, apêndices articulados pareados e sistemas digestivo e nervoso bem desenvolvidos. Os sexos são separados. A respiração das formas aquáticas é realizada através de guelras e das formas terrestres através de estruturas corpóreas tubulares. Todos os artrópodes possuem uma cobertura rígida de quitina como um exoesqueleto.

Resumo

A preocupação dos médicos acerca das doenças parasitárias é indubitavelmente mais crítica agora do que em qualquer momento na história da prática médica. Os médicos devem estar preparados para responder questões de pacientes sobre proteção contra malária e os riscos de se beber água e ingerir frutas e vegetais frescos em áreas remotas onde possam estar viajando. Com este conhecimento das doenças parasitárias, o médico pode também avaliar sinais, sintomas e períodos de incubação em viajantes recém-chegados, realizar o diagnóstico e iniciar o tratamento em um paciente com uma possível doença parasitária. Os riscos de doenças parasitárias em indivíduos imunodeprimidos e naqueles com a síndrome da imunodeficiência adquirida, também devem ser compreendidos e considerados.

A educação apropriada no que diz respeito às doenças parasitárias no currículo médico não pode ser superenfatizada como um requisito para médicos nos quais a prática inclui viajantes para países estrangeiros e populações de refugiados. Muitos dos parasitos importantes responsáveis por doenças humanas são transmitidos por artrópodes vetores ou são adquiridos através do consumo de água ou alimento contaminados. As várias formas de transmissão e distribuição das doenças parasitárias são apresentadas em detalhes apropriados nos capítulos seguintes; entretanto, os dados da Tabela 6-4 são fornecidos na forma de um esquema.

Questões

1. Como os protozoários se adaptam às condições ambientais severas?

1. Os protozoários adaptam-se a condições ambientais severas, desenvolvendo a forma cística, que é metabolicamente menos ativa. O cisto possui uma parede celular externa espessa capaz de proteger o organismo de condições físicas e químicas letais.

2. Que forma morfológica é importante na transmissão dos protozoários de um hospedeiro para outro?

2. A forma de cisto é parte integral do ciclo de vida de muitos protozoários parasitas e facilita a transmissão do organismo de um hospedeiro a outro no ambiente externo. Os parasitos que não formam cistos dependem da transmissão direta hospedeiro-hospedeiro ou requerem um artrópode vetor para completar seus ciclos de vida.

3. De que forma os helmintos, como os esquistossomos, evitam a resposta imune do hospedeiro?

3. Semelhante aos protozoários parasitas, alguns helmintos possuem a capacidade de alterar propriedades antigênicas nas suas superfícies externas e, assim, evadem a resposta imune do hospedeiro. Isso é possível em parte através da incorporação de antígenos do hospedeiro na camada cuticular externa dos parasitos. Dessa maneira, o verme evita o reconhecimento imunológico, e em algumas doenças (p. ex., esquistossomíase) esse processo permite que o parasito sobreviva no hospedeiro durante décadas.

4. Como os artrópodes causam doença humana?

4. Os artrópodes podem estar envolvidos diretamente como causa de doença invasiva ou superficial (infestação) ou indiretamente, como hospedeiros intermediários e vetores de muitos agentes infecciosos, incluindo protozoários e metazoários parasitas.

Bibliografia

Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev*. 1998;73:203-266.

Cox FEG. History of humanparasitology. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:595-612.

Cox FEG. Taxonomy and classification of human parasites. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Edwards G, Krishna S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of parasite infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:233-242.

Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology, 5th ed., Washington DC: ASM Press, 2006.

Hoetz PJ, Molyneux DH, Fenwick A, et al. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*. 2007;357:1018-1027.

Markell EK, John DT, Krotoski WA. Markell and Voge's Medical Parasitology, 8th ed., Philadelphia: WB Saunders, 1999.

Murray PR, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

7 Microbiota Comensal e Patogênica de Seres Humanos

A microbiologia médica é o estudo das interações entre animais (principalmente os seres humanos) e microrganismos como bactérias, vírus, fungos, e parasitas. Embora o interesse principal seja nas doenças causadas por estas interações, também deve ser notado que os microrganismos apresentam um papel crítico na sobrevivência dos seres humanos. A população comensal normal de microrganismos participa no metabolismo de produtos alimentares, fornece fatores essenciais de crescimento, protege contra infecções de microrganismos altamente virulentos, e estimula a resposta imune. Na ausência destes organismos, a vida que conhecemos seria impossível.

A flora microbiana no interior e na superfície do corpo humano está num estado contínuo de fluxo determinado por uma variedade de fatores, como idade, dieta, estado hormonal, saúde, e higiene pessoal. Enquanto o feto humano vive em um ambiente estéril, protegido, os recém-nascidos são expostos aos micróbios da mãe e do ambiente. A pele do bebê é colonizada primeiro, seguida pela orofaringe, trato gastrointestinal, e outras superfícies mucosas. A população microbiana continua a mudar ao longo da vida do ser humano. Alterações na saúde podem romper drasticamente o delicado equilíbrio que é mantido entre os organismos heterogêneos que coexistem em nosso interior. Por exemplo, a hospitalização pode levar a substituição de organismos normalmente não virulentos na orofaringe por bastonetes Gram negativos (p. ex., *Klebsiella, Pseudomonas*) que podem invadir os pulmões e causar pneumonia. Deste modo, as bactérias endógenas presentes no intestino restringem o crescimento do *Clostridium difficile* no trato gastrointestinal. Na presença de antibióticos esta microbiota endógena é eliminada e o *C. difficile* é capaz de proliferar e produzir doença diarreica e colite.

A exposição de um indivíduo a um organismo pode levar a 1 de 3 resultados. O microrganismo pode: (1) colonizar de forma transiente o indivíduo; (2) colonizar permanentemente o indivíduo; ou (3) produzir doença. É importante entender a distinção entre **colonização** e **doença**. (Nota: muitas pessoas usam o termo infecção impropriamente como sinônimo para ambos os termos.) Os organismos que colonizam os seres humanos (por períodos curtos de tempo sejam horas ou dias [transitória] ou permanentemente) não interferem com as funções normais do corpo. Ao contrário, a doença ocorre quando a interação entre o micróbio e o ser humano leva a um processo patológico caracterizado por dano ao hospedeiro humano. Este processo pode resultar de fatores microbianos (p. ex., dano aos órgãos causado pela proliferação do micróbio ou a produção de toxinas ou enzimas citotóxicas) ou da resposta imune do hospedeiro ao organismo (p. ex., a patologia da síndrome respiratória aguda grave [SARS] por infecções por coronavírus é causada principalmente pela resposta imune do paciente ao vírus).

A compreensão da microbiologia médica requer conhecimento não só das diferentes classes de micróbios, mas também de suas propriedades para causar doença. Poucas infecções são causadas por **patógenos estritos** (*i.e.*, organismos sempre associados à doença humana). Poucos exemplos de patógenos estritos e as doenças que causam incluem *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose), *Neisseria gonorrhoeae* (gonorreia), *Francisella tularensis* (tularemia), *Plasmodium* spp. (malária), e vírus da raiva (raiva). A maioria das infecções humanas é causada por **patógenos oportunistas**, organismos que são tipicamente membros da microbiota normal do paciente (p. ex., *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Candida albicans*). Estes microrganismos não produzem doença em seus locais normais, mas estabelecem doença quando são introduzidos em sítios desprotegidos (p. ex., sangue, tecidos). Os fatores específicos responsáveis pela virulência dos patógenos estritos e oportunistas são discutidos em capítulos posteriores. Se o sistema imune de um paciente é deficiente, este paciente é mais suscetível à doença causada por patógenos oportunistas.

A população microbiana que coloniza o corpo humano é numerosa e diversa. Nosso conhecimento a respeito da composição dessa população é, atualmente, baseado em métodos de cultura, no entanto, é estimado que somente uma pequena proporção dos micróbios pode ser cultivada. Para entender melhor a população microbiana, foi iniciado um projeto em larga escala para caracterizar detalhadamente a microbiota humana e analisar seu papel na saúde e na doença de seres humanos. A pele e todas as superfícies mucosas do corpo humano serão sistematicamente analisadas por técnicas genômicas. Pelo fato de este projeto (denominado "**Human Microbiome Project", HMP**) ter sido iniciado em 2008, os resultados deste trabalho ainda não estavam disponíveis no momento em que este capítulo foi escrito. Para informações mais atuais consulte o website: http://nihroadmap.nih.gov/hmp/. Desta maneira, as informações discutidas neste capítulo serão baseadas em dados coletados a partir de culturas sistemáticas, sabendo que muito do que conhecemos atualmente poderá ser muito diferente do que iremos aprender nos próximos cinco anos.

Trato Respiratório e Cabeça

Boca, Orofaringe e Nasofaringe

O trato respiratório superior é colonizado com numerosos organismos, com 10 a 100 anaeróbios para cada bactéria aeróbica (Quadro 7-1). As bactérias anaeróbicas mais comuns são *Peptostreptococcus* e cocos anaeróbicos relacionados, *Veillonella, Actinomyces*, e *Fusobacterium* spp. As bactérias aeróbicas mais comuns são *Streptococcus, Haemophilus* e *Neisseria* spp. A proporção relativa destes organismos varia nos diferentes sítios anatômicos, por exemplo, a microbiota da superfície de um dente é completamente diferente da flora na saliva ou nos espaços subgengivais. A maioria dos microrganismos comuns no trato respiratório superior é relativamente não virulenta e raramente está associada à doença a menos que os organismos sejam introduzidos em sítios normalmente estéreis (p. ex., cavidades, ouvido médio e cérebro). Organismos potencialmente patogênicos, incluindo *Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, S. aureus, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis* e Enterobacteriaceae, podem também ser encontrados nas vias aéreas superiores. O isolamento destes organismos a partir de um espécime clínico de trato respiratório superior não define que estejam causando infecção (relembre o conceito de colonização *vs*. doença). Seus envolvimentos com um processo de doença devem ser demonstrados pela exclusão de outros patógenos. Por exemplo, com exceção do *Streptococcus pyogenes*, estes organismos são raramente responsáveis por faringite, embora possam ser isolados de pacientes que estejam com esta doença. *S. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae* e *M. catarrhalis* são organismos comumente associados a infecções dos seios nasais.

Quadro 7-1 Micróbios mais Comuns que Colonizam o Trato Respiratório Superior

Bactérias	
Acinetobacter	*Mycoplasma*
Actinobacillus	*Neisseria*
Actinomyces	*Peptostreptococcus*
Cardiobacterium	*Porphyromonas*
Corynebacterium	*Prevotella*
Eikenella	*Propionibacterium*
Enterobacteriaceae	*Staphylococcus*
Eubacterium	*Streptococcus*
Fusobacterium	*Stomatococcus*
Haemophilus	*Treponema*
Kingella	*Veillonella*
Moraxella	
Fungos	
Candida	
Parasitas	
Entamoeba	*Trichomonas*

Ouvido

O ouvido externo é mais comumente colonizado por espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos. Outros organismos que colonizam a pele também são isolados deste sítio, como potenciais patógenos como *S. pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* e membros da família Enterobacteriaceae.

Olho

A superfície dos olhos é colonizada com estafilococos coagulase-negativos, bem como com pouca quantidade de organismos encontrados na nasofaringe (p. ex., *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., estreptococo viridans). A doença está tipicamente associada a *S. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae, N. gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, P. aeruginosa* e *Bacillus cereus*.

Trato Respiratório Inferior

A laringe, traqueia, bronquíolos e vias aéreas inferiores geralmente são estéreis, embora possa ocorrer colonização transitória com secreções do trato respiratório superior. As bactérias mais virulentas presentes na boca (p. ex., *S. pneumoniae, S. aureus*, membros da família Enterobacteriaceae tal como *Klebsiella*) causam doença aguda nas vias aéreas inferiores. A aspiração crônica pode levar a uma doença polimicrobiana na qual os anaeróbios são os patógenos predominantes, principalmente *Peptostreptococcus*, cocos anaeróbicos relacionados e bastonetes Gram negativos anaeróbicos. Os fungos como a *Candida albicans* são causas raras de doenças nas vias aéreas inferiores, e a invasão destes organismos deve ser demonstrada para excluir a simples colonização. Ao contrário, a presença de fungos dimórficos (p. ex., *Histoplasma, Coccidioides* e *Blastomyces* spp) é diagnóstico porque colonização assintomática com estes organismos não ocorre.

Trato Gastrointestinal

O trato gastrointestinal é colonizado com micróbios ao nascimento e permanece como habitat para uma diversa população de microrganismos ao longo da vida do hospedeiro (Quadro 7-2). Embora a oportunidade para colonização com novos organismos ocorra diariamente com a ingestão de alimentos e água, a população permanece relativamente constante, a menos que fatores exógenos como tratamento com antibióticos perturbem o equilíbrio da flora.

Quadro 7-2 Micróbios mais Comuns que Colonizam o Trato Gastrointestinal

Bactérias	
Acinetobacter	*Helicobacter*
Actinomyces	*Lactobacillus*
Bacteroides	*Mobiluncus*
Bifidobacterium	*Peptostreptococcus*
Campylobacter	*Porphyromonas*
Clostridium	*Prevotella*
Corynebacterium	*Propionibacterium*
Enterobacteriaceae	*Pseudomonas*
Enterococcus	*Staphylococcus*
Eubacterium	*Streptococcus*
Fusobacterium	*Veillonella*
Haemophilus	
Fungos	
Candida	
Parasitas	
Blastocystis	*Entamoeba*
Chilomastix	*Iodamoeba*
Endolimax	*Trichomonas*

Esôfago

Leveduras e bactérias da orofaringe, como as bactérias que colonizam o estômago, podem ser isoladas do esôfago, no entanto, acredita-se que a maioria dos organismos seja colonizadores transitórios que não estabelecem residência permanente. Bactérias raramente causam doença no esôfago (esofagite); a maioria das infecções é causada por *Candida albicans* spp e vírus tais como herpes simples e citomegalovírus.

Estômago

Pelo fato de o estômago conter ácido hidroclorídrico e pepsinogênio (secretado pela linhagem de células parietais principais da mucosa gástrica), os únicos organismos presentes são pequenos números de bactérias ácido-tolerantes, como as bactérias produtoras de ácido lático (*Lactobacillus* e *Streptococcus* spp.) e *Helycobacter pylori*. O *H. pylori* é causador de gastrite e de doença ulcerativa. A população microbiana pode ser dramaticamente alterada em número e diversidade em pacientes que estejam recebendo drogas que neutralizem ou reduzam a produção dos ácidos gástricos.

Intestino Delgado

Ao contrário do que acontece com a porção anterior do trato digestivo, o intestino delgado é colonizado com muitas bactérias diferentes, fungos e parasitas. A maioria destes organismos é anaeróbia, como *Peptostreptococcus, Porphyromonas* e *Prevotella*. Microrganismos que comumente causam gastroenterites (p. ex., *Salmonella* e *Campylobacter* spp.) podem estar presentes em pequenos números como residentes assintomáticos, no entanto, sua detecção no laboratório clínico geralmente indica doença. Se o intestino delgado for obstruído, como acontece após uma cirurgia abdominal, então uma condição denominada **síndrome da alça cega** pode ocorrer. Neste caso, a estase do conteúdo intestinal leva à colonização e à proliferação dos organismos tipicamente presentes no intestino grosso, com uma subsequente síndrome de má-absorção.

Intestino Grosso

Mais microrganismos estão presentes no intestino grosso do que em qualquer outro sítio do corpo humano. É estimado que mais de 10^{11} bactérias por grama de fezes possam ser encontradas, com as bactérias anaeróbicas em excesso de mais de 1.000 vezes. Várias leveduras e parasitas não patogênicos podem também estabelecer residência no intestino grosso. As bactérias mais comuns incluem *Bifidobacterium, Eubacterium, Bacteroides, Enterococcus* e Enterobacteriaceae. A *Escherichia coli* está presente virtualmente em todo ser humano desde o nascimento até a morte. Embora este organismo represente menos de 1% da população intestinal, é o organismo aeróbico mais comum responsável por doença intra-abdominal. Desta maneira, *Bacteroides fragilis* é um membro minoritário da flora intestinal, mas é o anaeróbio mais comum responsável por doença intra-abdominal. Em contraste, *Eubacterium* e *Bifidobacterium* são as bactérias mais comuns no intestino grosso, mas raramente são responsáveis por doença. Estes organismos simplesmente não apresentam os diversos fatores de virulência encontrados em *B. fragilis*.

O tratamento com antibiótico pode alterar rapidamente a população, causando a proliferação de organismos resistentes aos antibióticos, como *Enterococcus, Pseudomonas* e fungos. O *C. difficile* também cresce rapidamente nesta situação, levando a doenças que variam de uma diarreia à colite pseudomembranosa. A exposição a outros patógenos entéricos, como *Shigella, E. coli* entero-hemorrágica, e *Entamoeba histolytica* pode também romper o equilíbrio da flora do cólon e produzir doença intestinal significante.

Sistema Genitourinário

Em geral a uretra anterior e a vagina são as únicas áreas anatômicas do sistema genitourinário permanentemente colonizadas com micróbios (Quadro 7-3). Embora a bexiga urinária possa ser transitoriamente colonizada com bactérias que migram para cima a partir da uretra, estas podem ser rapidamente eliminadas pela atividade bactericida das células uroepiteliais e pela ação do jato de urina. As outras estruturas do sistema urinário devem ser estéreis, exceto quando há doença ou uma anormalidade anatômica está presente. Desta maneira o útero também permanece livre de organismos.

Quadro 7-3 Micróbios mais Comuns que Colonizam o Trato Genitourinário

Bactérias	
Actinomyces	*Lactobacillus*

Bacteroides	*Mobiluncus*
Bifidobacterium	*Mycoplasma*
Clostridium	*Peptostreptococcus*
Corynebacterium	*Porphyromonas*
Enterococcus	*Prevotella*
Enterobacteriaceae	*Propionibacterium*
Eubacterium	*Staphylococcus*
Fusobacterium	*Streptococcus*
Gardnerella	*Treponema*
Haemophilus	*Ureaplasma*
Fungos	
Candida	

Uretra Anterior

A população comensal da uretra consiste de uma variedade de organismos, com os lactobacilos, estreptococos e estafilococos coagulase-negativos sendo os mais numerosos. Estes organismos são relativamente não virulentos e raramente estão associados à doença humana. Em contraste, a uretra pode ser colonizada transitoriamente com organismos fecais como *Enterococcus*, Enterobacteriaceae e *Candida*, todos eles podem invadir o trato urinário, se multiplicar na urina e levar à doença significativa. Patógenos como *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis* são causas comuns de uretrite e podem persistir como colonizadores assintomáticos da uretra. O isolamento destes dois organismos em espécimes clínicos deve sempre ser considerado importante, independente da presença ou ausência de sintomas clínicos.

Vagina

A população microbiana da vagina é mais diversa e é dramaticamente influenciada por fatores hormonais. Os recém-nascidos do sexo feminino são colonizados com lactobacilos ao nascer, e esta bactéria predomina por aproximadamente seis semanas. Após este tempo, o nível de estrogênio materno declina, e a flora vaginal se altera para incluir os estafilococos, estreptococos, e Enterobacteriaceae. Quando a produção de estrogênio é iniciada na puberdade, a flora microbiana é novamente alterada. Os lactobacilos emergem como organismos predominantes, e muitos outros organismos são também isolados, incluindo estafilococos (*S. aureus* é menos comum do que as espécies coagulase-negativas), estreptococos (incluindo *Streptococcus* do grupo B), *Enterococcus, Gardnerella, Mycoplasma, Ureaplasma*, Enterobacteriaceae, e uma variedade de bactérias anaeróbicas. Em infecções do endocérvix causadas por *N. gonorrhoeae*, o sintoma mais comum consiste em corrimento purulento vaginal. Na ausência deste organismo (lactobacilos), ocorre um número significativo de casos quando o equilíbrio das bactérias vaginais é rompido, resultando na diminuição do número de lactobacilos e no aumento do número de *Mobiluncus* e *Gardnerella*. *Trichomonas vaginalis*; *C. albicans* e *Candida glabrata* também são causas importantes de vaginite. Embora o herpesvírus e o papilomavírus não sejam considerados flora normal do trato genitourinário, eles podem estabelecer infecções persistentes.

Cérvix

Embora o cérvix não seja normalmente colonizado com bactérias, a *N. gonorrhoeae* e a *C. trachomatis* são importantes causas de cervicite. *Actinomyces* também pode produzir doença neste sítio.

Pele

Embora muitos organismos entrem em contato com a superfície da pele, este ambiente relativamente hostil não suporta a sobrevivência da maioria dos organismos (Quadro 7-4). As bactérias Gram positivas (p. ex., *Staphylococcus* coagulase-negativos, e menos comumente *S. aureus*, corinebactérias e propionibactéria) são os organismos mais comuns na superfície da pele. O *Clostridium perfringens* é isolado da pele de aproximadamente 20% dos indivíduos saudáveis, e os fungos *Candida* e *Malassezia* também são encontrados na superfície da pele, principalmente em sítios úmidos. Os estreptococos podem colonizar a pele transitoriamente, mas os ácidos graxos voláteis produzidos por propionibactérias anaeróbias são tóxicos para estes organismos. Os bastonetes Gram negativos não colonizam a superfície da pele permanentemente (com exceção de *Acinetobacter* e poucos outros gêneros menos comuns), porque a pele é muito seca.

Quadro 7-4 Micróbios mais Comuns que Colonizam a Pele

Bactérias	
Acinetobacter	*Micrococcus*
Aerococcus	*Peptostreptococcus*
Bacillus	*Propionibacterium*
Clostridium	*Staphylococcus*
Corynebaterium	*Streptococcus*
Fungos	
Candida	*Malassezia*

Questões

1. Qual a diferença entre *colonização* e *doença*?

1. O corpo humano pode ser colonizado por muitos microrganismos (bactérias, fungos, alguns parasitas), os quais formam a população comensal (microbiota) normal. Estes microrganismos vivem na superfície da pele, e em todas as membranas mucosas (desde a boca até o ânus e trato genitourinário). Estas bactérias vivem nestas superfícies e protegem os humanos de colonização com microrganismos altamente patogênicos. Os microrganismos da microbiota normal também estimulam a resposta imune protetora bem como produzem fatores de crescimento essenciais. Se estes microrganismos forem introduzidos em sítios estéreis do corpo, ou se o indivíduo for exposto a microrganismos muito patogênicos, eles poderão causar doença. Então, é importante distinguir entre colonização, um processo natural e doença (ou infecção).

2. Dê exemplos de patógenos estritos e patógenos oportunistas.

2. Patógenos estritos são microrganismos que quase sempre são encontrados onde existe doença. Alguns exemplos de patógenos estritos são: *Mycobacterium tuberculosis, Clostridium tetani, Neisseria gonorrhoeae, Francisella tularensis, Plasmodium falciparum*, e o vírus da raiva. A maioria das infecções em seres humanos é causada por microrganismos oportunistas; estes microrganismos podem colonizar o corpo humano sem evidência de doença, mas podem também causar doença quando forem introduzidos em sítios ou tecidos estéreis ou em pacientes com imunidade diminuída. Alguns exemplos de patógenos oportunistas incluem:

Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, e *Candida albicans*.

3. Que fatores regulam a população microbiana de organismos que colonizam os seres humanos?

3. Os fatores que determinam a população de microrganismos que colonizam os seres humanos são complexos e incluem: idade, sexo, estado hormonal, saúde e higiene pessoal.

Bibliografia

Balows A, Truper H. The Prokaryotes, 2nd ed., New York: Springer-Verlag, 1992.

Murray P, et al. Human microbiota. In Balows A, editor: *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 10th ed., London: Edward Arnold, 2005.

Murray P, Shea Y. Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed, Washington, DC: ASM Press, 2004.

8 Esterilização, Desinfecção e Antissepsia

Um aspecto importante do controle das infecções é compreender os princípios da esterilização, desinfecção e antissepsia (Quadro 8-1).

Quadro 8-1 Definições

Antissepsia

Uso de agentes químicos na pele ou em outros tecidos vivos para inibir ou eliminar micróbios; não está implicada a atividade esporicida

Desinfecção

Emprego de procedimentos físicos ou de agentes químicos para destruir a maioria das formas microbianas; esporos bacterianos e outros organismos relativamente resistentes (p. ex., micobactérias, vírus, fungos) podem permanecer viáveis; os desinfetantes são divididos em agentes de níveis alto, intermediário e baixo

Germicida

Agentes químicos capazes de matar micróbios; os esporos podem sobreviver

Desinfetante de alto nível

Um germicida que mata todos os patógenos microbianos exceto grande número de esporos bacterianos

Desinfetante de nível intermediário

Um germicida que mata todos os patógenos bacterianos exceto endósporos bacterianos

Desinfetante de baixo nível

Um germicida que mata a maioria das bactérias na forma vegetativa e vírus com envoltório lipídico ou vírus de tamanho médio

Esporicidas

Germicida capaz de matar esporos bacterianos

Esterilização

Emprego de procedimentos ou de agentes químicos para destruir todas as formas microbianas, incluindo os esporos bacterianos

Esterilização

A esterilização é a destruição completa de todos os microrganismos, incluindo-se as formas mais resistentes como os esporos, micobactérias, vírus sem envoltórios (lipídicos) e fungos. Isto pode ser realizado utilizando-se esterilizantes físicos, gasosos ou químicos (Tab. 8-1).

Tabela 8-1 Métodos de Esterilização

Método	Concentração ou Nível
Esterilizantes Físicos	
Vapor sob pressão	121°C ou 132°C por diferentes intervalos de tempo
Filtração	Filtros com poros de 0,22- a 0,45-µm; filtro HEPA
Radiação ultravioleta	Exposição variável a comprimento de onda de 254-nm
Radiação ionizante	Exposição variável a radiações de microonda ou gama
Vapores de Gases Esterilizantes	

Óxido de etileno	450-1.200mg/L a 29°C até 65°C por 2–5h
Vapor de formaldeído	2%–5% a 60°C até 80°C
Vapor de peróxido de hidrogênio	30% a 55°C até 60°C
Gás plasma	Gás de peróxido de hidrogênio altamente ionizado
Esterilizantes Químicos	
Ácido paracético	0,2%
Glutaraldeído	2%

HEPA, filtro altamente eficiente para partículas aéreas.

Esterilizantes físicos como **umidade** e **calor seco** são os mais comuns métodos de esterilização utilizados em hospitais e são indicados para a maioria dos materiais, exceto para aqueles que são sensíveis ao calor ou compostos químicos tóxicos ou voláteis. A **filtração** é útil para remover bactérias e fungos do ar (com filtros de alta eficiência para partículas aéreas [HEPA]) ou de soluções. Entretanto, estes filtros são incapazes de remover vírus e algumas bactérias menores. A esterilização por **radiação ultravioleta** ou **ionizante** (p. ex., microondas ou radiação gama) é, também, comumente utilizada. A limitação da radiação ultravioleta é a necessidade da exposição direta.

O **óxido de etileno** é o **gás esterilizante** mais utilizado. Embora seja altamente eficiente, regulamentações rigorosas limitam seu uso porque o gás é inflamável. É explosivo e carcinogênico para animais de laboratório. A esterilização com **gás formaldeído** é, também, limitada porque o agente químico é carcinogênico. Seu uso é principalmente restrito à esterilização de filtros HEPA. Os vapores de **peróxido de hidrogênio** são agentes esterilizantes eficientes por conta da natureza oxidante do gás. Este agente é utilizado para a esterilização de instrumentos. Uma variante é a **esterilização por plasma de peróxido de hidrogênio**, na qual o peróxido de hidrogênio é vaporizado e, então, radicais livres reativos são produzidos pela energia de frequências de microondas ou de frequências de rádio. Desde que este é um método eficiente de esterilização que não produz subprodutos tóxicos, prevê-se que a esterilização por plasma substituirá muitas das aplicações do óxido de etileno. Entretanto, este não pode ser utilizado com materiais que absorvem o peróxido de hidrogênio ou que reajam com o mesmo.

Dois **esterilizantes químicos** têm sido utilizados: o **ácido paracético** e o **glutaraldeído**. O ácido paracético, um agente oxidante, tem excelente atividade e seus subprodutos (*i.e.*, ácido acético e oxigênio) não são tóxicos. Em contraste, a segurança é uma preocupação com o glutaraldeído e muito cuidado deve ser tomado quando se emprega este agente.

Desinfecção

Os micróbios são destruídos por processos de desinfecção, embora organismos mais resistentes sobrevivam. Infelizmente os termos **desinfecção** e **esterilização** são eventualmente trocados, resultando em algumas confusões. Isto ocorre porque os processos de desinfecção foram categorizados em processos de alto nível, nível intermediário e baixo nível. A desinfecção de alto nível pode, de forma geral, se aproximar da esterilização em eficiência, entretanto os esporos podem sobreviver na desinfecção de nível intermediário e muitos micróbios podem permanecer viáveis quando expostos à desinfecção de baixo nível.

Mesmo a classificação de desinfetantes (Tab. 8-2) por seus níveis de atividade não é absoluta. A efetividade desses processos é influenciada pela natureza do artigo a ser desinfetado, número e resistência dos organismos contaminantes, quantidade de material orgânico presente (que pode inativar o desinfetante), tipo e concentração do desinfetante, além da duração e temperatura da exposição.

Tabela 8-2 Métodos de Desinfecção

Método	Concentração (Nível de Atividade)
Calor	
Calor úmido	75°C até 100°C por 30 min (alto)
Líquido	
Glutaraldeído	2%-3,5% (alto)
Peróxido de hidrogênio	35%-25% (alto)
Formaldeído	3%-8% (alto/intermediário)
Hipoclorito	Variável (alto)
Ácido peracético	Variável (alto)
Compostos de cloro	100-1.000 ppm de cloro livre (alto)
Álcool (etil, isopropil)	70%-95% (intermediário)
Compostos fenólicos	0,4%-5,0% (intermediário)
Compostos iodóforos	30-50 ppm de iodeto livre/L (intermediário)
Compostos de amônio quaternário	0,4%-1,6% (baixo)

O s **desinfetantes de alto nível** são utilizados para artigos envolvidos com procedimentos invasivos que não podem suportar os procedimentos de esterilização (p. ex., certos tipos de endoscópios, instrumentos cirúrgicos contendo plástico ou outros componentes que não podem ser autoclavados). A desinfecção desses e de outros artigos é mais eficiente se for realizada um limpeza prévia da superfície para a remoção de material orgânico. Exemplos de desinfecção de alto nível incluem o tratamento com vapor quente e o uso de líquidos como o gluta raldeído, peróxido de hidrogênio, ácido paracético e compostos de cloro.

Os **desinfetantes de nível intermediário** (*i.e.*, álcoois, compostos iodóforos, compostos fenólicos) são utilizados para a limpeza de superfícies ou de instrumentos nos quais é improvável a contaminação com esporos bacterianos ou por outros organismos altamente resistentes. Eles têm sido designados como instrumentos e dispositivos semicríticos e incluem endoscópios de fibra óptica, laringoscópios, espéculos vaginais, circuitos de respiração anestésica entre outros artigos.

Os **desinfetantes de baixo nível** (*i.e.*, compostos de amônio quaternário) são utilizados para tratar instrumentos e dispositivos não críticos, como braçadeiras de aparelhos de pressão, eletrodos de eletrocardiograma e estetoscópios. Embora estes artigos entrem em contato com os pacientes, não penetram através da mucosa ou em tecidos estéreis.

O nível de desinfetantes utilizados para superfícies ambientais é determinado pelo risco relativo de essas superfícies atuarem como reservatórios de organismos patogênicos. Por exemplo, um desinfetante do mais alto nível deve ser empregado para tratar a superfície de um instrumento contaminado com sangue do que para limpar superfícies “sujas”, como pisos, pias e bancadas. A exceção se dá quando uma superfície esteja implicada em infecção hospitalar, como um banheiro contaminado com *Clostridium difficile* (bactéria anaeróbica formadora de esporos) ou uma pia contaminada com *Pseudomonas aeruginosa*. Nesses casos deve-se selecionar um desinfetante com atividade apropriada contra o patógeno implicado.

Antissepsia

Os agentes antissépticos (Tab. 8-3) são utilizados para reduzir o número de micróbios na superfície da pele. Estes compostos são selecionados pela segurança e eficiência. Um sumário das propriedades germicidas está apresentado na Tabela 8-4. Os **álcoois** têm uma excelente atividade contra todos os grupos de organismos, exceto para os esporos, e não são tóxicos, embora tendam a desidratar a superfície da pele, por removerem lipídios. Também, não têm atividade residual e são inativados por matéria orgânica. Por isso, a superfície da pele deve ser limpa antes do álcool ser aplicado. Os **iodóforos** são, também, excelentes agentes antissépticos da pele, tendo um espectro de atividade semelhante ao dos álcoois. São um pouco mais tóxicos que o álcool para a pele, possuem uma limitada atividade residual e são inativados por matéria orgânica. Os iodóforos e as preparações de são frequentemente utilizados com álcool para desinfecção de superfície da pele. A **clorhexidina** tem ampla atividade antimicrobiana, embora elimine os organismos em muito menor velocidade do que o álcool. Apresenta atividade residual, embora a presença de material orgânico e pH elevado diminua sua eficiência. A atividade do **paraclorometaxilenol** (PCMX) é limitada principalmente às bactérias Gram positivas. Por não ser tóxica e ter atividade residual, tem sido utilizado em produtos de lavagem de mãos. O **triclosan** é ativo contra bactérias, mas não contra outros organismos. É um agente antisséptico comum em sabões desodorantes e em alguns cremes dentais.

Tabela 8-3 Agentes Antissépticos

Agente Antisséptico	Concentração
Álcool (etil, isopropil)	70%-90%
Iodóforos	1-2mg de iodeto livre/L; 1%-2% de iodeto disponível
Clorexidina	0,5%-4,0%
Paraclorometaxilenol	0,50%-3,75%
Triclosan	0,3%-2,0%

Tabela 8-4 Propriedades Germicidas de Agentes Desinfetantes e Antissépticos

Tabela 8-4. Propriedades Germicidas de Agentes Desinfetantes e Antissépticos

Agentes	Bactérias	Micobactérias	Esporos Bacterianos	Fungos	Vírus
Desinfetantes					
Álcool	+	+	–	+	+/–
Peróxido de hidrogênio	+	+	+/–	+	+
Formaldeído	+	+	+	+	+
Fenólicos	+	+	–	+	+/–
Cloro	+	+	+/–	+	+
Iodóforos	+	+/–	–	+	+
Glutaraldeído	+	+	+	+	+
Compostos Quaternários de Amônio	+/–	–	–	+/–	+/–
Agentes Antissépticos					
Álcool	+	+	–	+	+
Iodóforos	+	+	–	+	+
Clorexidina	+	+	–	+	+
Paraclorometaxilenol	+/–	+/–	–	+	+/–
Triclosan	+	+/–	–	+/–	+

Mecanismos de Ação

Na seção seguinte revisará rapidamente os mecanismos pelos quais atuam os mais comuns esterilizantes, desinfetantes e antissépticos.

Calor Úmido

As tentativas de esterilizar artigos se utilizando água fervente são ineficientes porque podem manter somente relativamente baixa temperatura (100° C). De fato, a formação de esporos bacterianos é comumente demonstrada pela fervura de uma suspensão de organismos e, então, subcultivando esta suspensão. A fervura mata organismos na forma vegetativa, mas os esporos permanecem viáveis. Se crescem organismos na placa de subcultura, a bactéria se mostra capaz de esporulação. Em contraste, vapor sob pressão dentro de uma autoclave é uma forma muito eficiente de esterilização; as altas temperaturas causam desnaturação das proteínas microbianas. A taxa de morte bacteriana durante o processo de autoclavação é alta, mas é influenciada pela temperatura e pela duração da autoclavação, pelo tamanho da autoclave, taxa de fluxo do vapor, densidade e tamanho da carga e pela colocação da carga na câmara. Deve-se ter cuidado de evitar a formação de bolsas de ar, que inibem a penetração do vapor na carga. Em geral, a maioria das autoclaves é operada a 121°C até 132°C por 15 minutos ou por mais. A inclusão de preparações comerciais de esporos de *Bacillus stearothermophilus* pode auxiliar a monitorar a eficiência da esterilização. Uma ampola desses esporos é colocada no centro da carga, removida ao final do processo de autoclavação e incubada a 37°C. Se o processo de esterilização é bem-sucedido o organismo não consegue esporular e não há crescimento no cultivo.

Óxido de Etileno

O óxido de etileno é um gás incolor, solúvel em água e em solventes orgânicos comuns, que é utilizado para esterilizar artigos sensíveis ao calor. O processo de esterilização é relativamente lento e influenciado pela concentração do gás, pela umidade relativa e conteúdo de umidade do artigo a ser esterilizado, tempo de exposição e temperatura. O tempo de exposição é reduzido em 50% para cada duplicação da concentração de óxido de etileno. Deste modo, a atividade do óxido de etileno aumenta em aproximadamente o dobro a cada incremento de 10°C na temperatura. A esterilização com o óxido de etileno é ótima com uma umidade relativa de aproximadamente 30%, com um decréscimo na atividade em umidades mais altas ou mais baixas. Isto é particularmente problemático se os organismos contaminantes estão secos em uma superfície, ou liofilizados. O óxido de etileno exerce sua atividade esporicida através da alquilação de grupos terminais hidroxila, carboxila, amina e sulfidrila. Este processo bloqueia os grupos reativos requeridos para muitos processos metabólicos essenciais. Exemplos de outro151s potentes gases alquilantes utilizados como esterilizantes são o formaldeído e a β-propiolactona. Pelo fato de o óxido de etileno poder lesar tecidos viáveis, o gás deve ser dissipado antes do artigo ser utilizado. O período de aeração é geralmentede 16 horas ou mais. A efetividade da esterilização é monitorada pelo teste com esporo de *B. subtilis*.

Aldeídos

Como o óxido de etileno, os aldeídos exercem seus efeitos através da alquilação. Os dois aldeídos mais conhecidos são o **formaldeído** e o **glutaraldeído**, ambos podendo ser utilizados como esterilizantes ou desinfetantes de alto nível. O gás formaldeído pode ser dissolvido em água (produzindo a **formalina**) em uma concentração final de 37%. Estabilizadores como o etanol são adicionados à formalina. As baixas concentrações de formalina são bacteriostáticas (*i.e.*, inibem, mas não matam os organismos), entretanto concentrações mais altas (p. ex., 20%) podem matar todos os organismos. Combinando-se o formaldeído com álcool (p. ex., 20% de formalina em 70% de álcool) pode-se intensificar a atividade microbicida. A exposição da pele ou membranas mucosas ao formaldeído pode ser tóxica. O glutaraldeído é menos tóxico para tecidos viáveis, mas pode, também, causar queimaduras na pele ou em membranas mucosas. O glutaraldeído é mais ativo em níveis alcalinos de pH (“ativado” por hidróxido de sódio), mas é menos estável. O glutaraldeído é, também, inativado por material orgânico, por isso devemos limpar os artigos, antes de serem tratados.

Agentes Oxidantes

Os exemplos de agentes oxidantes incluem o ozônio, o ácido peracético e o peróxido de hidrogênio, sendo o último mais comumente utilizado. O **peróxido de hidrogênio** mata eficientemente a maioria das bactérias em concentrações de 3% a 6% e mata todos os organismos, incluindo os esporos, em concentrações maiores (10% a 25%). A forma oxidante ativa não é o peróxido de hidrogênio, mas sim os radicais livres hidroxila formados pela decomposição do peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é utilizado para esterilizar implantes de plástico, lentes de contato e próteses cirúrgicas.

Halogênios

Os halogênios, como compostos contendo iodo ou cloro, são utilizados amplamente como desinfetantes. Os **compostos de iodo** são os mais eficientes halogênios disponíveis para a desinfecção. O iodo é um elemento altamente reativo que precipita proteínas e oxida enzimas essenciais. É microbicida contra virtualmente todos os organismos, incluindo-se as bactérias formadoras de esporos e as micobactérias. Nem a concentração, nem o pH da solução de iodo afetam a atividade microbicida, embora a eficiência das soluções de iodo se intensifique em soluções ácidas porque mais iodo livre é liberado. O iodo age mais rapidamente do que outros compostos de halogênios ou do que compostos de amônio quaternário. Entretanto, a atividade do iodo pode ser reduzida na presença de certos compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo-se o soro, fezes, líquido ascítico, escarro, urina, tiossulfato de sódio e amônia. O iodo elementar pode ser dissolvido em iodeto de potássio aquoso ou em álcool, ou pode ser complexado com um carreador. O último composto é considerado um iodóforo (*iodo*, "iodeto"; *phor*, que leva, que conduz). O iodo povidona (iodo complexado com polivinilpirrolidona) é utilizado mais comumente e é relativamente estável e não tóxico para tecidos e superfícies metálicas, mas é caro comparado com outras soluções de iodo.

Compostos de cloro são utilizados amplamente como desinfetantes. As soluções aquosas de cloro são rapidamente bactericidas, embora seus mecanismos de ação ainda não estejam definidos. Três formas de cloro podem estar presentes na água: cloro elementar (Cl_2), que é um muito forte agente oxidante; ácido hipocloroso (HOCl); e o íon hipoclorito (OCl_2). O cloro também se combina com a amônia e com outros compostos nitrogenados para formar as cloraminas ou compostos *N*-cloro. O cloro pode exercer seu efeito pela oxidação irreversível de grupos sulfidrila (SH) de enzimas essenciais. Acredita-se que os hipocloritos interajam com componentes citoplasmáticos para formar compostos *N*-cloro, que interferem com o metabolismo celular. A eficiência do cloro é inversamente proporcional ao pH, com maior atividade observada em níveis ácidos de pH. Isto é consistente com uma maior atividade associada ao ácido hipocloroso do que com a concentração de íon hipoclorito. A atividade dos compostos de cloro também crescem com a concentração (p. ex., um aumento de duas vezes na concentração resulta em uma redução de 30% na taxa de morte bacteriana) e com a temperatura (p. ex., uma redução de 50% até 65% na taxa de morte bacteriana, com uma elevação de 10°C na temperatura). Matéria orgânica e detergentes alcalinos podem reduzir a eficiência dos compostos de cloro. Estes compostos demonstram uma boa atividade germicida, embora organismos formadores de esporos são 10 a 1.000 vezes mais resistentes ao cloro do que as formas vegetativas de bactérias.

Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos (germicidas) são raramente utilizados como desinfetantes. Entretanto, têm interesse histórico porque eram utilizados como padrões comparativos para determinar a atividade de outros compostos germicidas. A razão da atividade produzida por um composto testado em relação àquela obtida para uma concentração definida de fenol determinava o coeficiente fenólico. Um valor de 1 indicava atividade equivalente, maior do que 1 indicava uma atividade menor do que a do fenol e menor do que 1 indicava atividade maior do que a do fenol. Estes testes são limitados porque o fenol não é esporicida à temperatura ambiente (mas é esporicida a temperaturas próximas a 100°C) e tem pouca atividade contra vírus desprovidos de envoltório lipídico. Isto é compreensível tendo-se em conta que se acredita que o fenol atue rompendo membranas contendo lipídios, resultando em extravazamento do conteúdo celular. Os compostos fenólicos são ativos contra as normalmente resistentes micobactérias porque a parede celular desses organismos contém uma concentração de lipídios muito alta. A exposição de fenóis a compostos alcalinos reduz significativamente suas atividades, entretanto a adição de halogenação dos fenóis intensifica a atividade destes. A introdução de grupos alifáticos ou aromáticos no núcleo de fenóis halogenados também aumenta a atividade dos mesmos. Os bifenóis são dois compostos fenólicos interligados. A atividade desses compostos pode também ser potencializada por halogenação. Um exemplo de um bifenol halogenado é o **hexaclorofeno**, um antisséptico com atividade contra bactérias Gram positivas.

Compostos de Amônio Quaternário

Os compostos de amônio quaternário consistem de quatro grupos orgânicos covalentemente ligados ao nitrogênio. A atividade germicida desses compostos catiônicos é determinada pela natureza dos grupos orgânicos, com as maiores atividades observadas com compostos tendo grupos com cadeias de 8 a 18 carbonos. Os exemplos de compostos de amônio quaternário incluem o **cloreto de benzalcônio** e o **cloreto de cetipilperidínio**. Estes compostos atuam desnaturando membranas celulares, liberando os componentes intracelulares. Os compostos de amônio quaternário são bacteriostáticos, quando em baixas concentrações, e bactericidas, a altas concentrações. Entretanto, organismos como as *Pseudomonas, Mycobacterium* e os fungos *Trichophyton*, entre outros, são resistentes a estes compostos. Sabe-se que algumas estirpes de *Pseudomonas* podem crescer sem dificuldades em soluções de amônio quaternário. Vários vírus e todos os esporos bacterianos são, também, resistentes. Os detergentes iônicos, material orgânico e a diluição neutralizam os compostos de amônio quaternário.

Álcoois

A atividade germicida dos álcoois é intensificada com o aumento do comprimento da cadeia (máximo de 5 a 8 carbonos). Os dois álcoois mais comumente usados são o **etanol** e o **isopropanol**. Estes álcoois são rapidamente bactericidas contra bactérias vegetativas, micobactérias, alguns fungos e vírus contendo lipídios. Infelizmente os álcoois não são efetivos contra alguns fungos e vírus desprovidos de envoltório lipídico. A atividade é maior na presença de água. Desta forma, o álcool a 70% é mais ativo do que o álcool a 95%. O álcool é um antisséptico comum para superfícies de pele e é extremamente eficiente para este propósito quando se segue o tratamento com um iodóforo. Os álcoois são, também, utilizados para desinfetar artigos como os termômetros.

Questões

1. Defina os seguintes termos e forneça três exemplos de cada um: *esterilização, desinfecção* e *antissepsia*.

1. Não existe uma definição padrão para esterilização e desinfecção. Geralmente o termo esterilização indica a destruição total dos microrganismos incluindo as formas mais resistentes, como os esporos bacterianos, as micobactérias, os vírus não envelopados e os fungos. Exemplos de agentes utilizados para esterilização são: óxido de etileno, gás formaldeído, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e glutaraldeído. Desinfecção resulta da destruição da maioria dos microrganismos embora os micróbios mais resistentes possam sobreviver a processos de desinfecção. Exemplos de desinfetantes incluem: calor úmido, peróxido de hidrogênio e compostos fenólicos. Antissepsia é o termo utilizado para procedimentos que reduzem o número de microrganismos na superfície da pele. Exemplos de agentes antissépticos incluem: álcoois, iodofor, clorexidina, paraclorometaxylenol e triclosan.

2. Defina os três níveis de desinfecção e forneça exemplos de cada um. Quando se deve utilizar cada um dos níveis de desinfecção?

2. Os processos de desinfecção podem ser divididos em níveis: alto, nível intermediário e baixo. Desinfetantes de alto nível incluem: calor úmido, glutaraldeído, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e compostos clorados. Desinfecção de nível intermediário inclui: álcoois, compostos de iodo, e compostos fenólicos. Desinfetantes de baixo nível incluem: compostos de amônio quaternário. Um mesmo agente pode ser utilizado tanto em processos de esterilização e desinfecção conforme sua concentração e tempo de duração do seu uso. Os tipos de desinfetantes para cada situação são definidos conforme a forma de uso do produto bem como pela natureza do material a ser desinfetado. Se o material a ser desinfetado é utilizado para procedimentos invasivos, mas não pode ser submetido a processos de esterilização (p. ex., endoscópios, instrumentos cirúrgicos que não podem ser autoclavados), deve-se utilizar um desinfetante de alto nível. Desinfetantes de nível intermediário são usados para limpar superfícies e instrumentos nos quais a contaminação com microrganismos mais resistentes é incomum. Desinfetantes de baixo nível são usados para limpar instrumentos e equipamentos “não críticos” (ou seja, bomba de medir pressão, eletrodos e estetoscópios).

3. Quais os fatores que influenciam a eficiência da esterilização com calor úmido, calor seco e óxido de etileno?

3. O calor úmido tem sua maior efetividade quando é utilizado sob pressão, pois o aumento

da pressão causa aumento de temperatura. Outros fatores que determinam a efetividade do calor úmido são a duração do tempo de exposição bem como a penetração do vapor dentro do material contaminado (determinados pela quantidade de material e a taxa de fluxo do vapor). Calor seco é efetivo quando aplicado em altas temperaturas por um período longo. Esterilização por óxido de etileno é um processo lento o qual é influenciado pela concentração do gás, umidade relativa, tempo de exposição e temperatura. A efetividade aumenta com a concentração do óxido de etileno, aumento da temperatura e umidade relativa de 30%.

4. Forneça exemplos de cada um dos seguintes desinfetantes e de seus modos de ação: compostos de iodo, compostos de cloro, compostos fenólicos e compostos de amônio quaternário.

4. Compostos de iodo precipitam proteínas e oxidam enzimas essenciais. Exemplos incluem tintura de iodo, iodo povidina (iodo complexado com polivinilpirrolidona). Compostos clorados são agentes oxidantes fortes, embora seu mecanismo de ação ainda não tenha sido bem definido. Exemplos incluem cloro elementar, ácido hipoclorídrico e íons hipoclorito. O composto comercial de cloro mais conhecido é a solução de hipoclorito. Compostos fenólicos agem pela destruição dos lipídios de membrana, o que causa perda de conteúdo celular. Exemplos incluem o próprio fenol (ácido carbólico), orto-fenilfenol, orto-benzil-para-clorofenol e para-tert-amil-fenol. Os compostos de amônio quaternário também têm capacidade de desnaturar membranas e incluem cloreto de banzalcônio e cloreto de cetilpiridínio.

Bibliografia

Block SS. Disinfection, Sterilization, and Preservation, 2nd ed., Philadelphia: Lea and Febiger, 1977.

Brody TM, Larner J, Minneman KP. Human Pharmacology: Molecular to Clinical, 3rd ed., St Louis: Mosby, 1998.

Widmer A, Frei R, et al. Decontamination, disinfection, and sterilization. In Murray P, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Seção 3
Conceitos Básicos na Resposta Imune

9 Elementos das Respostas Protetoras do Hospedeiro

Nós vivemos em um mundo microbiano, e nossos corpos estão constantemente sendo expostos a bactérias, fungos, parasitas e vírus. Nossas defesas à esses microrganismos são semelhantes a uma defesa militar. Os mecanismos de defesa iniciais são **barreiras**, como a pele, ácido e bile do trato gastrointestinal, e o muco, que inativam e impedem a entrada de agentes estranhos. Se essas barreiras estão comprometidas ou o agente obtém entrada de outra forma, a milícia local de **respostas inatas** (p. ex., complemento, interferon, citocinas, células *natural killer*, neutrófilos, macrófagos) deve se reunir rapidamente para impedir a expansão da invasão. Uma vez ativadas, essas respostas enviam um alarme (complemento, citocinas e quimiocinas) e aumentam a permeabilidade vascular para proporcionar acesso ao local. Finalmente, se essas etapas não são eficientes, as respostas inatas ativam uma grande atividade especificamente direcionada contra o invasor por **respostas imunes antígeno-específicas** (células B, anticorpos e linfócitos T) a qualquer custo (imunopatogenia). De modo semelhante, o conhecimento das características (antígenos) do invasor através da imunização permite ao corpo preparar rapidamente uma resposta mais eficiente (ativação das células B e T de memória) em uma nova invasão.

Os diferentes elementos do sistema imune interagem e se comunicam utilizando moléculas solúveis e por interação direta célula a célula. Essas interações proporcionam os mecanismos de ativação e controle das respostas protetoras. Infelizmente, as respostas protetoras a alguns agentes infecciosos são insuficientes; em outros casos, a resposta à invasão é excessiva. Em qualquer desses casos, ocorre doença.

Ativadores e Estimuladores Solúveis da Função Imune

Células inatas e imunes se comunicam por interações de receptores específicos da superfície celular e com moléculas solúveis, incluindo citocinas, interferons e quimiocinas. As **citocinas** são proteínas produzidas por células linfoides específicas e outros tipos celulares para estimular e regular outras células na ativação e regulação da resposta imune (Tab. 9-1 e Quadro 9-1). Os **interferons** são proteínas produzidas em resposta a infecções virais e outras infecções (interferon-α e interferon-β) ou na ativação da resposta imune (interferon-γ); eles promovem respostas antivirais e antitumorais estimulando respostas imunes (Cap. 12). As **quimiocinas** são pequenas proteínas (aproximadamente 8.000 Da) associadas a respostas inflamatórias. Neutrófilos, basófilos, monócitos e células T expressam receptores e podem ser ativados por quimiocinas específicas. As quimiocinas e outras proteínas (p. ex., os produtos C3a e C5a da cascata do complemento) são fatores quimiotáticos que estabelecem uma via química para atrair células fagocíticas e inflamatórias para o sítio de infecção. Os fatores que estimulam a produção dessas moléculas e as consequências das interações com seus receptores em células específicas determinam a natureza da resposta inata e imune.

Tabela 9-1 Citocinas e Quimiocinas

Tabela 9-1. Citocinas e Quimiocinas

Fator	Fonte	Alvo Principal	Função
Respostas Inatas e de Fase Aguda			
Interferon-α, interferon-β	Leucócitos, fibroblastos e outras células	Células infectadas por vírus, células tumorais, células NK	Indução do estado antiviral; ativação de células NK, intensificação da imunidade mediada por célula
IL-1α, IL-1β	Macrófago, fibroblastos, células epiteliais, células endoteliais	Células T, células B, PMN, tecido, sistema nervoso central, fígado etc.	Muitas ações: promoção de respostas inflamatórias e de fase aguda, febre, ativação de linfócitos T e macrófagos
TNF-α (caquexina)	Semelhante ao IL-1	Macrófagos, células T, células NK	Semelhante ao IL-1, funções antitumorais debilitantes (caquexia, perda de peso), sepse, ativação endotelial
IL-6	DCs, Macrófagos, células T e B, fibroblastos, células epiteliais, células endoteliais	Células T e B, hepatócitos	Estimulação de respostas de fase aguda e inflamatórias, febre, secreção de Ig, crescimento e desenvolvimento de células T e B
IL-12, IL-23	DC, macrófago	Células NK, células TH1 CD4	Ativação de respostas mediadas por linfócito T e inflamatórias, produção de IFN-gama
Crescimento e Diferenciação			
Fatores de estimulação de colônia (p. ex., GM-CSF)	Células T, células do estroma	Células-tronco	Crescimento e diferenciação de tipos celulares específicos, hematopoiese
IL-3	Células T CD4, queratinócitos	Células-tronco	Hematopoiese
IL-7	Medula óssea, estroma	Células precursoras e células-tronco	Crescimento de células pré-B, timócito, células T e linfócito citotóxico
Respostas TH1 e TH17			
IL-2	Linfócitos T CD4 (TH0, TH1)	Linfócitos T, linfócitos B, células NK	Crescimento de linfócitos T e B, ativação de NK
Interferon-γ	Células TH1 CD4, células NK	Macrófagos*, células T, células B	Ativação de macrófago, promoção de mudança de classe para IgG, inflamação e TH1, mas inibição de respostas TH2
TNF-β	Células T	PMN, tumores	Linfotoxina: extermínio do tumor, ativação de PMN, ativação endotelial
IL-17	Células T (TH17)	Células epiteliais, endoteliais e fibroblásticas	Ativam tecido para promover inflamação, mesmo na presença de TGF-beta.
Respostas TH2			
IL-4	CD4 (TH0, TH2), células T	Células B e T	Crescimento de células T e B; produção de IgG, IgA, e IgE; respostas TH2
IL-5	Células TH2 CD4	Linfócitos B, eosinófilos	Crescimento e diferenciação de células B, produção de IgG, IgA e IgE, produção de eosinófilos, respostas alérgicas
IL-7	Medula óssea, estroma	Células precursoras e células-tronco	Crescimento de células pré-B, timócito, célula T e linfócito citotóxico
IL-10	Células TH2 CD4	Células B, células TH1 CD4	Crescimento de células B, inibição de resposta TH1

Tabela 9-1. Citocinas e Quimiocinas – *Continuação*

Fator	Fonte	Alvo Principal	Função
Resposta Reguladora			
TGF-β	Células Treg CD4	Células B, células T, macrófagos	Imunossupressão de células B, T, NK e macrófagos; promoção de tolerância oral, cicatrização de ferimentos, produção de IgA
Quimiocinas			
α-quimiocinas: quimiocinas C-X-C – duas cisteínas separadas por um aminoácido (IL-8; IP-10; GRO-α, GRO-β, GRO-γ)	Muitas células	Neutrófilos, células T, macrófagos	Quimiotaxia, ativação
β-quimiocinas: quimiocinas C-C – duas cisteínas adjacentes (MCP-1; MIP-α; MIP-β; RANTES)	Muitas células	Células T, macrófagos, basófilos	Quimiotaxia, ativação

GM-CSF, Fator estimulador de colônia granulócito-macrófago; GRO, oncogene relacionado ao crescimento; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; IP, proteína interferon-α; MCP, proteína quimioatraente de monócitos; MIP, proteína inflamatória do macrófago; NK, natural killer; PMN, leucócito polimorfonuclear; RANTES, regulado por ativação, expresso e secretado por células T normais,; TNF, fator de necrose tumoral.
**Aplica-se a uma ou mais células da linhagem monócito-macrófago.*

Quadro 9-1 Principais Células Produtoras de Citocina

Inatas (Respostas de Fase Aguda)

Células dendríticas e macrófagos: IL-1, TNF-α, TNF-β, IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, GM-CSF, quimiocinas, interferons α, β

Imunes: Células T (CD4 e CD8)

Células TH1: IL-2, IL-3, GM-CSF, interferon-gamma;, TNF-α, TNF-β

Células TH2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-3, IL-9, IL-13, GM-CSF, TNF-α

Células TH17: IL-17

Células Treg: TGF-β e IL-10

GM-CSF, fator estimulador de colônia granulócito-macrófago; IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral

Células da Resposta Imune

As respostas imunes são mediadas por células específicas com funções definidas. As características das células mais importantes do sistema imune e suas aparências são apresentadas na Figura 9-1 e nas Tabelas 9-2 e 9-3.

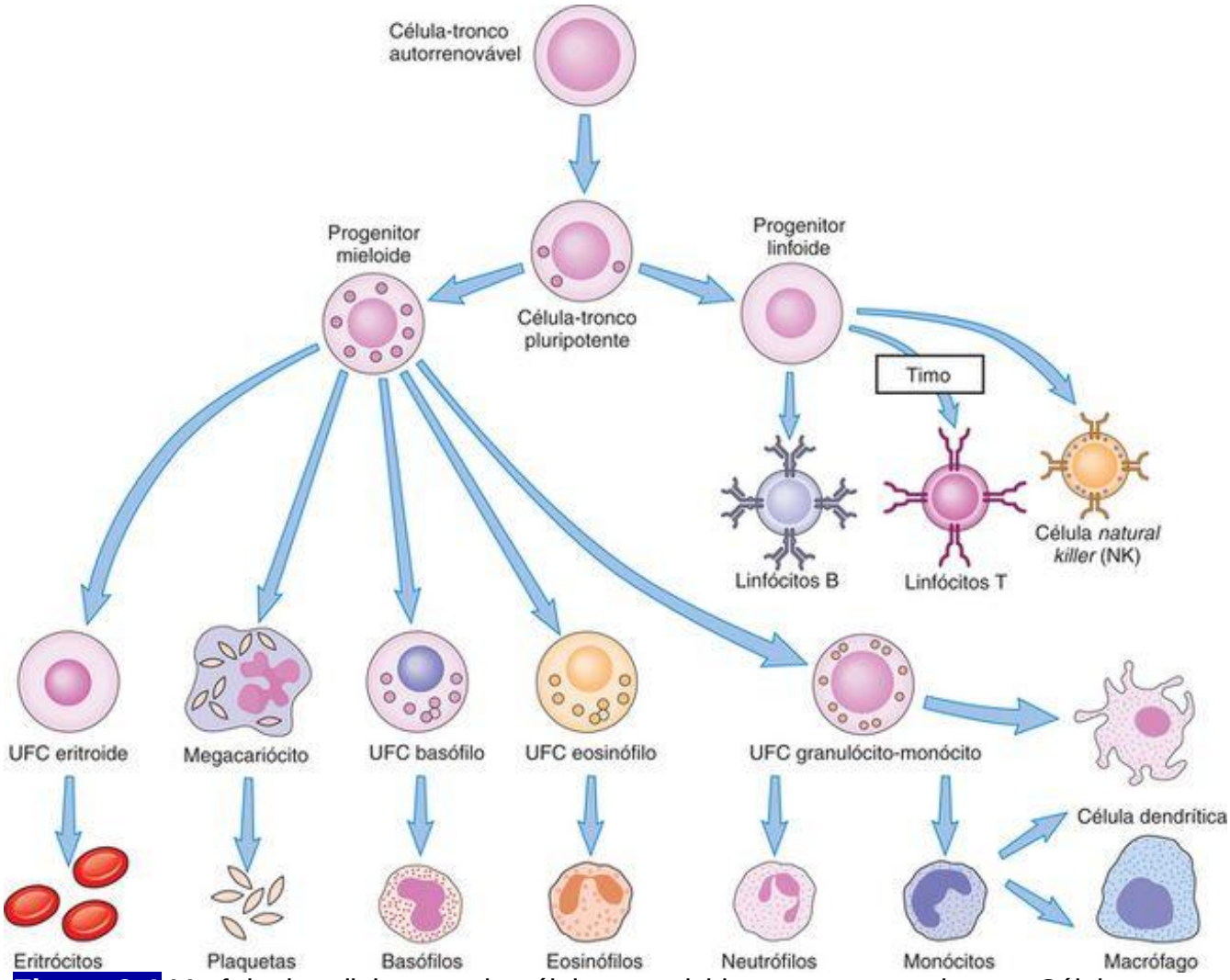


Figura 9-1 Morfologia e linhagem de células envolvidas na resposta imune. Células-tronco pluripotentes e unidades formadoras de colônia (UFC) são células de vida longa capazes de reabastecer as células mais diferenciadas funcional e terminalmente.

(Fonte: Abbas K, et al: Cellular and Molecular Immunology, 5th ed. Philadelphia, WB Saunders, 2003.)

Tabela 9-2 Células da Resposta Imune

Células	Características e Funções
Células Citolíticas Naturais	
	Grandes linfócitos granulares

Células *natural killer*	Marcadores: receptores Fc para anticorpo Destroem células revestidas por anticorpos e células infectadas por vírus ou tumorais (sem restrição de MHC)
Células Fagocíticas	
Neutrófilos	Granulócitos de vida curta, núcleo multilobulado e grânulos, formas em bastão segmentado (mais imaturos) **Fagocitam** e **matam bactérias** (leucócitos polimorfonucleares)
Eosinófilos	Núcleo bilobulado, citoplasma intensamente granulado Marcador: coloração com eosina Envolvidos na defesa contra parasitas e na resposta alérgica
Células Apresentadoras de Antígenos (APCs)	Marcador: células que expressam MHC classe II Apresentam antígenos às células T CD4
Monócitos*	Encontrados em linfonodos, no sangue, pulmões e outros órgãos Núcleo em forma de ferradura, lisossomos, grânulos *Precursores de células da linhagem dos macrófagos e células dendríticas*, liberação de citocina
Células dendríticas imaturas	Sangue e tecido Resposta de citocina a infecção, processam antígeno
Células dendríticas*	Linfonodos, tecido Apresentadoras de antígeno mais eficientes, determinam a natureza da resposta da célula T
Células de Langerhans*	Presença na pele Transportam antígenos para os linfonodos
Macrófagos*	Possível residência em tecido, no baço, linfonodos e outros órgãos; ativados por IFN-γ e TNF Marcadores: células grandes granulares; receptores Fc e C3 Iniciam a resposta inflamatória e de fase aguda; células ativadas são antibacterianas e têm atividade antiviral e antitumoral
Células da microglia*	Presença no SNC e cérebro Produzem citocinas
Células de Kupffer*	Presença no fígado

	Filtra partículas do sangue (p. ex., vírus)
Células Responsivas a Antígeno	
Células T (todas)	Amadurecem no timo; núcleo grande, citoplasma pequeno Marcadores: CD2, CD3 e receptor de célula T (TCR)
Células T CD4 TCRαβ	Células auxiliares/DTH; **ativação** por APCs através da **apresentação de antígeno por MHC classe II** Produzem IL-2, outras citocinas; estimulam o crescimento de células T e B; promovem diferenciação da célula B (mudança de classe, produção de anticorpo) **Subtipo TH1** (produção de IL-2, IFN-γ, LT): promovem defesas iniciais (locais), DTH, células T *killer* e anticorpo **Subtipo TH2** (produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10): promovem respostas humorais posteriores **Subtipo TH17** (IL-17, TNF-α IL-6): estimulam inflamação na presença de TGFβ **Células T reguladoras (Treg)** (TGFβ): controlam a ativação da célula T CD4 e CD8, importante para imunotolerância
Células T *killer* CD8 TCRαβ	**Reconhecimento** de antígeno apresentado por **molé culas MHC classe I** Matam células virais, tumorais, não próprias (transplante); secretam citocinas TH1
Células Responsivas a Antígeno	
Células T CD8 TCRαβ (células supressoras)	**Reconhecimento** de antígeno apresentado por **moléculas MHC classe I** Suprimem as respostas de células T e B
Células T TCRγδ	CD2, CD3, receptor de célula T γδ Marcador: detecção precoce de algumas infecções bacterianas no tecido e no sangue
Células NKT	Expressam receptores de células NK Resposta rápida à infecção, liberação de citocina
Células Produtoras de Anticorpos	
Células B	Amadurecem na medula óssea, equivalente da bursa, placas de Peyer Núcleo grande, citoplasma pequeno; ativação por antígenos e fatores de célula T Marcadores: anticorpo de superfície, **moléculas MHC classe II**

	Produzem anticorpo e apresentam antígeno
Plasmócitos	Núcleo pequeno, citoplasma grande Diferenciadas terminalmente, fábricas de anticorpo
Outras Células	
Basófilos/mastócitos	Granulocíticos Marcador: receptores Fc para IgE Liberam histamina, promovem resposta alérgica, são antiparasitários

APCs, células apresentadoras de antígeno; SNC, sistema nervoso central; DTH, hipersensibilidade do tipo tardia; IFN, interferon; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; LT, linfotoxina; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; TNF, fator de necrose tumoral.

***** *Linhagem de monócito/macrófago*.

Tabela 9-3 Contagens Celulares Sanguíneas Normais

	Número Médio por Microlitro	Intervalo Normal
Glóbulos brancos (leucócitos)	7.400	4.500-11.000
Neutrófilos	4.400	1.800-7.700
Eosinófilos	200	0-450
Basófilos	40	0-200
Linfócitos	2.500	1.000-4.800
Monócitos	300	0-800

Fonte: Abbas AK, Litchman AH, Pober JS: Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. Philadelphia, WB Saunders, 2000.

Os leucócitos são distinguidos com base (1) na morfologia; (2) na coloração histológica; (3) nas funções imunológicas; e (4) nos marcadores intracelulares e da superfície celular. Anticorpos monoclonais são usados para distinguir subgrupos dos diferentes tipos de células de acordo com seus marcadores de superfície celular. Esses marcadores foram definidos dentro de grupos de diferenciação, e os marcadores indicados pela sigla **"CD"**; (*cluster* de diferenciação) seguida de um número (Tab. 9-4). Além disso, **todas as células nucleadas expressam moléculas MHC de classe I (MHC I)** (HLA-A, HLA-B, HLA-C).

Tabela 9-4 Marcadores CD Importantes Selecionados

Marcadores CD	Identidade e Função	Célula
CD1	Semelhante ao MHC I, apresentação de antígeno não peptídico	DC, macrófago
CD2 (LFA-3R)	Receptor de eritrócito	T
CD3	Subunidade TCR (γ, δ, ε, ζ, η); ativação	T
CD4	Receptor de MHC classe II	Subpopulação de célula T, monócitos, algumas DCs
CD8	Receptor de MHC classe I	Subpopulação de célula T, algumas DCs
CD11b (CR3)	Receptor 3 de complemento C3b (cadeia α)	NK, células mieloides

CD14	Receptor de proteína de ligação ao LPS	Células mieloides (monócitos, macrófagos)
CD16 (Fc-γ RIII)	Fagocitose e ADCC	Marcador de célula NK, macrófagos, neutrófilos
CD21 (CR2)	Receptor de complemento C3d, receptor de EBV, ativação de célula B	Células B
CD25	Receptor de IL-2 (cadeia α), marcador de ativação inicial, marcador de células reguladoras	Células T ativadas, células T reguladoras
CD28	Receptor para coestimulação de B-7: ativação	Células T*
CD40	Estimulação de célula B, DC e macrófago	Célula B, macrófago
CD40 L	Ligante de CD40	Célula T
CD45RO	Isoforma (em células de memória)	Célula T, célula B
CD56 (NKH1)	Molécula de adesão	Célula NK
CD69	Marcador de ativação celular	Células T, B, NK e macrófagos ativados
CD80 (B7-1)	Coestimulação de células T em APCs	DC, macrófagos, célula B
CD86 (B7-2)	Coestimulação de células T em APCs	DC, macrófagos, célula B
CD95 (Fas)	Indutor de apoptose	Muitas células
CD152 (CTLA-4)	Receptor para B-7; tolerância	Célula T
CD178 (FasL)	Ligante de Fas: indutor de apoptose	Células T *killer* e NK
Moléculas de Adesão		
CD11a	LFA-1 (cadeia α)	
CD29	VLA (cadeia β)	
VLA-1, VLA-2, VLA-3	Integrinas α	Células T
VLA-4	Receptor de endereçamento integrina α_4	Célula T, célula B, monócito
CD50	ICAM-3	Linfócitos e leucócitos
CD54	ICAM-1	
CD58	LFA-3	

ADCC, citotoxicidade celular dependente de anticorpo; APCs, células apresentadoras de antígenos; CTLA, proteína associada ao linfócito T citotóxico; EBV, vírus Epstein-Barr; ICAM, molécula de adesão intercelular; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; LCA, antígeno comum leucocitário; LFA, antígeno associado à função do leucócito; LPS, lipopolissacarídeo; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; TAC, complexo de ativação da célula T; TCR, receptor antigênico de célula T; VLA, ativação muito tardia (antígeno).

***** *Apenas células ativadas.*

Modificado de Male D, et. al: Advanced Immunology, 3rd ed. St Louis, Mosby, 1996.

Uma classe especial de células que são **células apresentadoras de antígeno (APCs) expressa moléculas classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC II)** (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ). As APCs incluem as células dendríticas, as células da família do macrófago, os linfócitos B e um número limitado de outros tipos celulares.

Diferenciação de Células Hematopoiéticas

A diferenciação de uma célula progenitora comum, denominada **célula-tronco pluripotente**, dá origem a todas as células sanguíneas. A diferenciação dessas células começa durante o desenvolvimento do feto e continua por toda a vida. A célula-tronco pluripotente se diferencia em células tronco (às vezes chamadas de unidades formadoras de colônia) para diferentes linhagens de células sanguíneas, incluindo as linhagens linfoide (células T e B), mieloide, eritrocítica e megacarioblástica (fonte de plaquetas) (Fig. 9-1). As células-tronco residem principalmente na medula óssea, mas também podem ser isoladas a partir de sangue fetal de cordões umbilicais e como células raras no sangue adulto. A diferenciação de células-tronco em células sanguíneas funcionais é desencadeada por interações específicas da superfície celular com as células do estroma da medula e citocinas específicas produzidas por estas e outras células. O **timo e o "equivalente da bursa" nas placas de Peyer promovem o desenvolvimento de células T e de células B, respectivamente**. As citocinas específicas que promovem o crescimento de células hematopoiéticas e a diferenciação final são liberadas por células T auxiliares, células dendríticas, macrófagos, e outras células em resposta a infecções e sob ativação.

A medula óssea e o timo são considerados **órgãos linfoides primários** (Fig. 9-2). Esses locais de diferenciação inicial de linfócitos são essenciais para o desenvolvimento do sistema imune. Os **órgãos linfoides secundários** incluem **os linfonodos, o baço** e **o tecido linfoide associado à mucosa (MALT)**; este último inclui também o tecido linfoide associado ao intestino (GALT) (p. ex., placas de Peyer) e o tecido linfoide associado aos brônquios (BALT) (p. ex., tonsilas, apêndice). Esses são os locais onde as células dendríticas e os linfócitos B e T residem e respondem a desafios antigênicos. A proliferação dos linfócitos em resposta a um desafio infeccioso faz com que esses tecidos fiquem intumescidos (*i.e.*, "glândulas intumescidas"). As células dos órgãos linfoides primários e secundários expressam moléculas de adesão na superfície celular **(adressinas)** que interagem com receptores de migração **(moléculas de adesão celular)** expressos em células B e T.

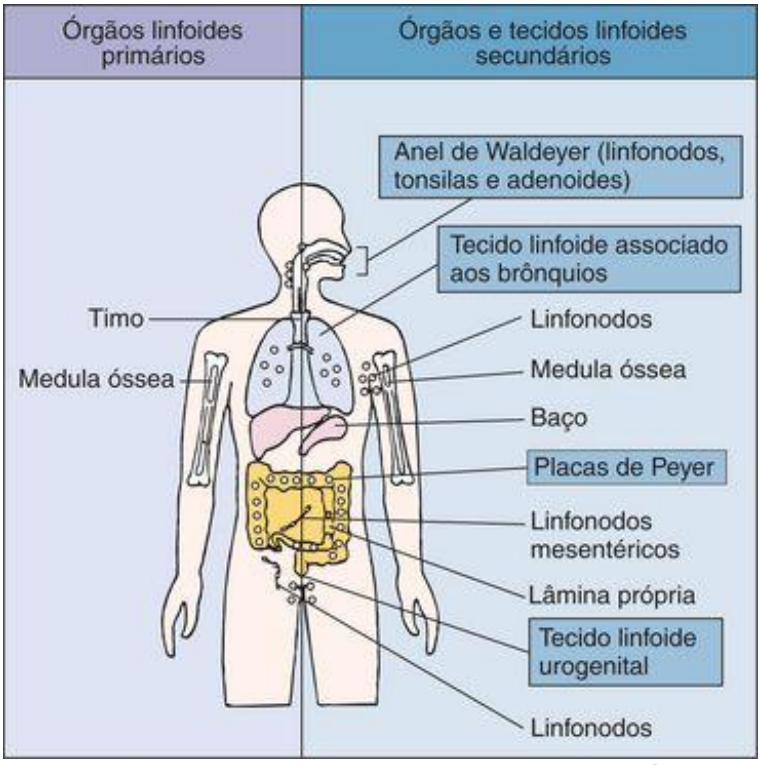


Figura 9-2 Órgãos do sistema imune. O timo e a medula óssea são órgãos linfoides primários. São sítios de maturação para células T e B, respectivamente. As respostas imunecelulares e humorais se desenvolvem nos órgãos e tecidos linfoides secundários (periféricos); células efetoras e de memória são geradas nesses órgãos. O baço responde

predominantemente a antígenos transportados pelo sangue. Os linfonodos produzem respostas imunes a antígenos no líquido intercelular e na linfa, absorvidos ou através da pele (nódulos superficiais) ou de vísceras internas (nódulos profundos). As tonsilas, placas de Peyer e outros tecidos linfoides associados à mucosa (caixas azuis) respondem a antígenos que tenham penetrado as barreiras mucosas superficiais.

(Fonte: Roitt I, et al.: Immunology, 4th ed. St Louis, Mosby, 1996.)

O baço e os linfonodos são órgãos encapsulados que os macrófagos e as células B e T residem em regiões definidas. Sua localização facilita interações que promovem respostas imunes a antígenos (Fig. 9-3). Os **linfonodos** são órgãos em forma de rim com 2 a 10mm de diâmetro que filtram o fluido que passa dos espaços intercelulares para o sistema linfático, quase como uma estação de tratamento de esgoto. O linfonodo é construído para otimizar o encontro das células da resposta inata (células dendríticas e macrófagos) com as células de resposta imune (B e T) para iniciar e expandir respostas imunes específicas. Um linfonodo consiste de três camadas:

1. O córtex, a camada externa que contém principalmente células B, células dendríticas foliculares e macrófagos dispostos em grupos denominados *folículos*.

2. O paracórtex, que contém células dendríticas que trazem antígenos dos tecidos para serem apresentados às células T para iniciarem respostas imunes.

3. A medula, que contém células B e T e plasmócitos produtores de anticorpos.

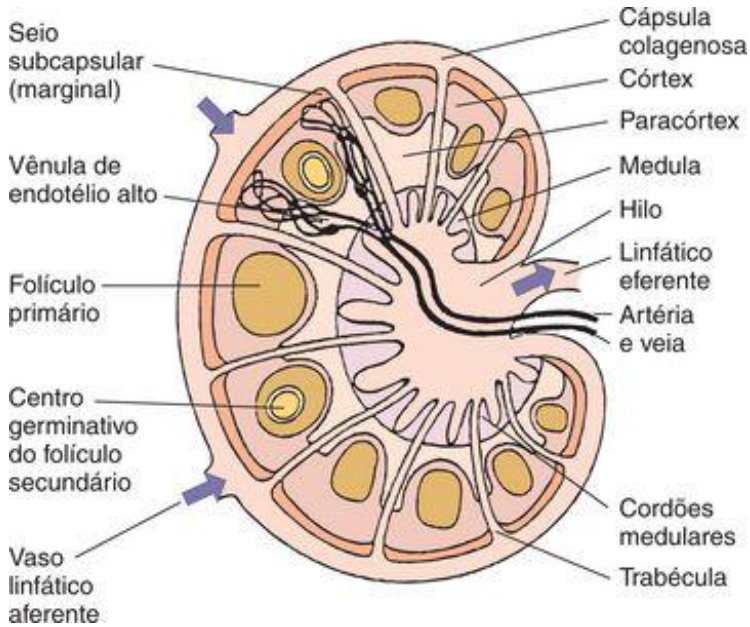


Figura 9-3 Organização do linfonodo. Sob a cápsula colagenosa está o seio subcapsular, que é revestido com células fagocíticas. Os linfócitos e antígenos dos espaços do tecido circundante ou dos nódulos adjacentes passam para o seio por meio do sistema linfático aferente. O córtex contém células B agrupadas em folículos primários e células B estimuladas em folículos secundários (centros germinativos). O paracórtex contém principalmente células T e células dendríticas (células apresentadoras de antígeno). Cada linfonodo tem seu próprio suprimento arterial e venoso. Os linfócitos entram no nódulo provenientes da circulação através de vênulas de endotélio alto especializadas no paracórtex. A medula contém tanto células T como células B, como a maior parte dos plasmócitos do linfonodo organizados em cordões de tecido linfoide. Os linfócitos podem deixar o nódulo somente através do vaso linfático eferente.

(Fonte: Roitt I, et al.: Immunology, 4th ed. St Louis, Mosby, 1996.)

O **baço** é um órgão grande que age como um linfonodo e também filtra antígenos, bactérias encapsuladas e vírus do sangue, remove células sanguíneas velhas e plaquetas (Fig. 9-4). O baço consiste de dois tipos de tecido, a polpa branca e a vermelha. A polpa branca em arteríolas cercadas por células linfoides (bainha linfoide periarteriolar), em que as células T circundam a arteríola central. As células B são organizadas em folículos primários não estimulados ou em folículos secundários estimulados que possuem um centro germinativo. O centro germinativo contém células de memória, macrófagos e células dendríticas foliculares. A polpa vermelha é um sítio de armazenamento de células sanguíneas e o sítio de reposição de plaquetas e eritrócitos antigos.

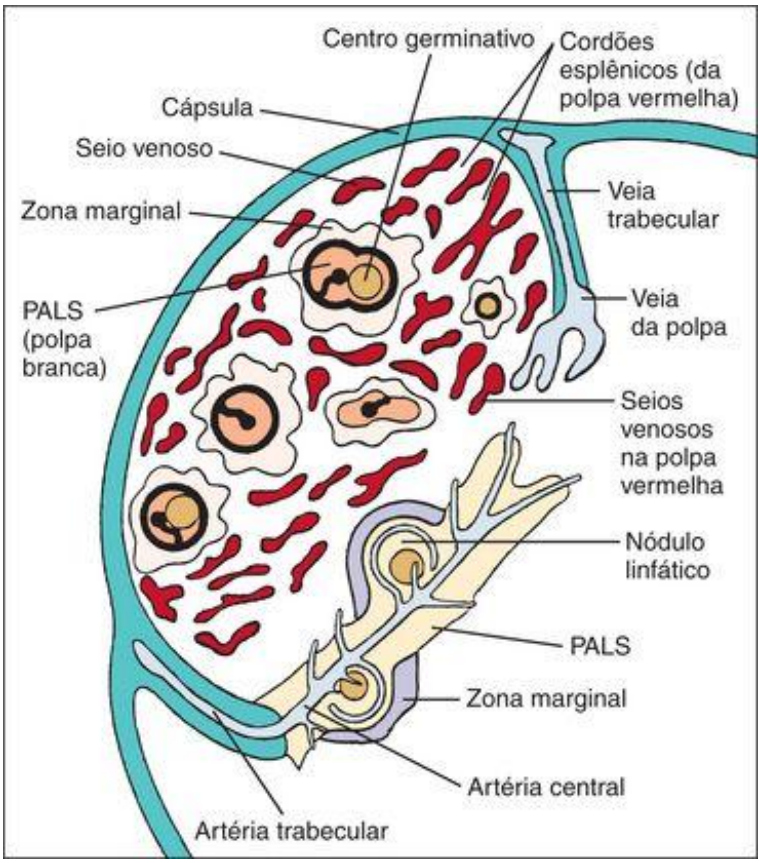


Figura 9-4 Organização do tecido linfoide no baço. A polpa branca contém centros germinativos e é circundada pela zona marginal, que contém numerosos macrófagos, células apresentadoras de antígenos, células B de recirculação lenta e células *natural killer*. A polpa vermelha contém seios venosos separados pelos cordões esplênicos. O sangue entra nos tecidos através das artérias trabeculares, que dão origem às artérias centrais multirramificadas. Algumas terminam na polpa branca, suprindo os centros germinativos e zonas do manto, mas a maioria desemboca dentro ou próximo das zonas marginais. PALS, bainha linfoide periarteriolar.

(Fonte: Roitt I, et al.: Immunology, 4th ed. St Louis, Mosby, 1996.)

O **MALT** (tecido linfoide associado à mucosa) contém menos agregados estruturados de células linfoides (Fig. 9-5). Por exemplo, as **placas de Peyer** ao longo da parede intestinal possuem células especiais no epitélio (células M) que transportam os antígenos aos linfócitos contidos em regiões definidas (T [interfolicular] e B [germinativo]). Apesar de serem consideradas dispensáveis no passado, as **tonsilas** são uma parte importante do MALT. Esses órgãos linfoepiteliais removem parte dos microrganismos na área oral e nasal. A tonsila contém um grande número de células B maduras e de memória (50% a 90% dos linfócitos) que utilizam seus anticorpos para detectar patógenos específicos e, com as células dendríticas e as células T, podem iniciar respostas imunes. O intumescimento das tonsilas pode ser causado por infecção ou uma resposta à infecção.

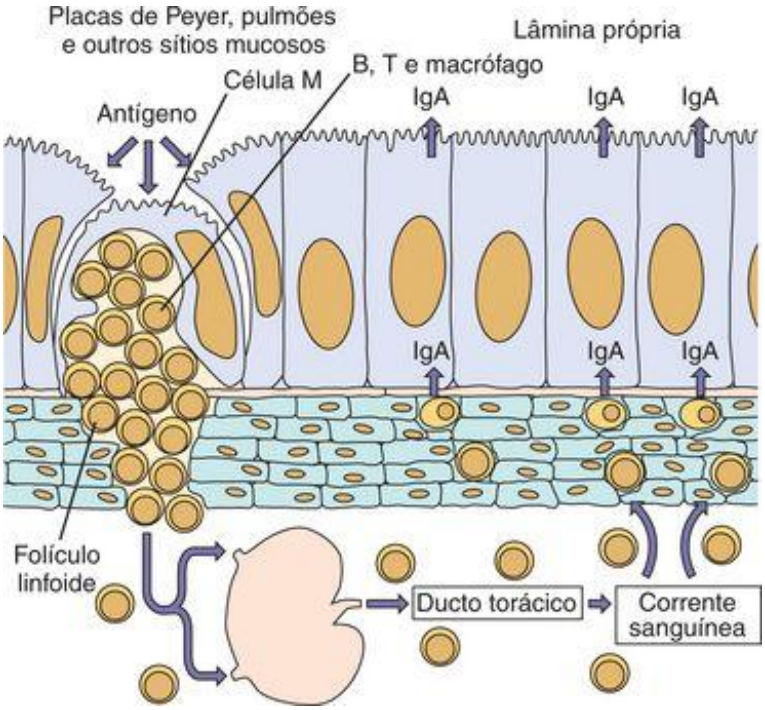


Figura 9-5 Células linfoides estimuladas com antígeno nas placas de Peyer (ou os pulmões ou outro sítio mucoso) migram através dos linfonodos regionais a ducto torácico para a corrente sanguínea, dali para a lâmina própria do intestino e provavelmente outras superfícies mucosas. Assim, os linfócitos estimulados em uma superfície mucosa podem vir a ser distribuídos por todo o sistema MALT (tecido linfoide associado à mucosa). IgA, imunoglobulina A.

(Fonte: Roitt I, et al.: Immunology, 4th ed. St Louis, Mosby, 1996.)

Leucócitos Polimorfonucleares

O s **leucócitos polimorfonucleares (PMN) ou neutrófilos** são células de vida curta constituindo 50% a 70% dos leucócitos em circulação (Fig. 9-1) e são uma **defesa fagocítica** primária contra infecção bacteriana e um componente importante da **resposta inflamatória**. Os **neutrófilos** têm de 9 a 14μm de diâmetro, não têm mitocôndria, possuem um citoplasma granulado em que os grânulos se coram tanto com coloração ácida quanto básica, e têm um núcleo multilobulado. Os neutrófilos deixam o sangue e se concentram no sítio de infecção em resposta a fatores quimiotáticos. Durante a infecção, os neutrófilos no sangue aumentam em número e incluem formas precursoras. Esses precursores são denominados **formas em bastão**, contrastando com os diferenciados **neutrófilos segmentados** terminais. O achado desse aumento e mudança nos neutrófilos por uma contagem sanguínea algumas vezes é denominado *um desvio à esquerda com um aumento em bastões* versus *segmentados*. Os neutrófilos ingerem bactérias por fagocitose e expõem as bactérias a substâncias antibacterianas e enzimas contidas nos **grânulos primários (azurofílicos)** e **secundários (específicos)**. Os grânulos azurofílicos são reservatórios de enzimas como mieloperoxidase, β-glicuronidase, elastase e catepsina G. Os grânulos específicos servem como reservatórios para lisozima e lactoferrina. Neutrófilos mortos são o principal componente do pus.

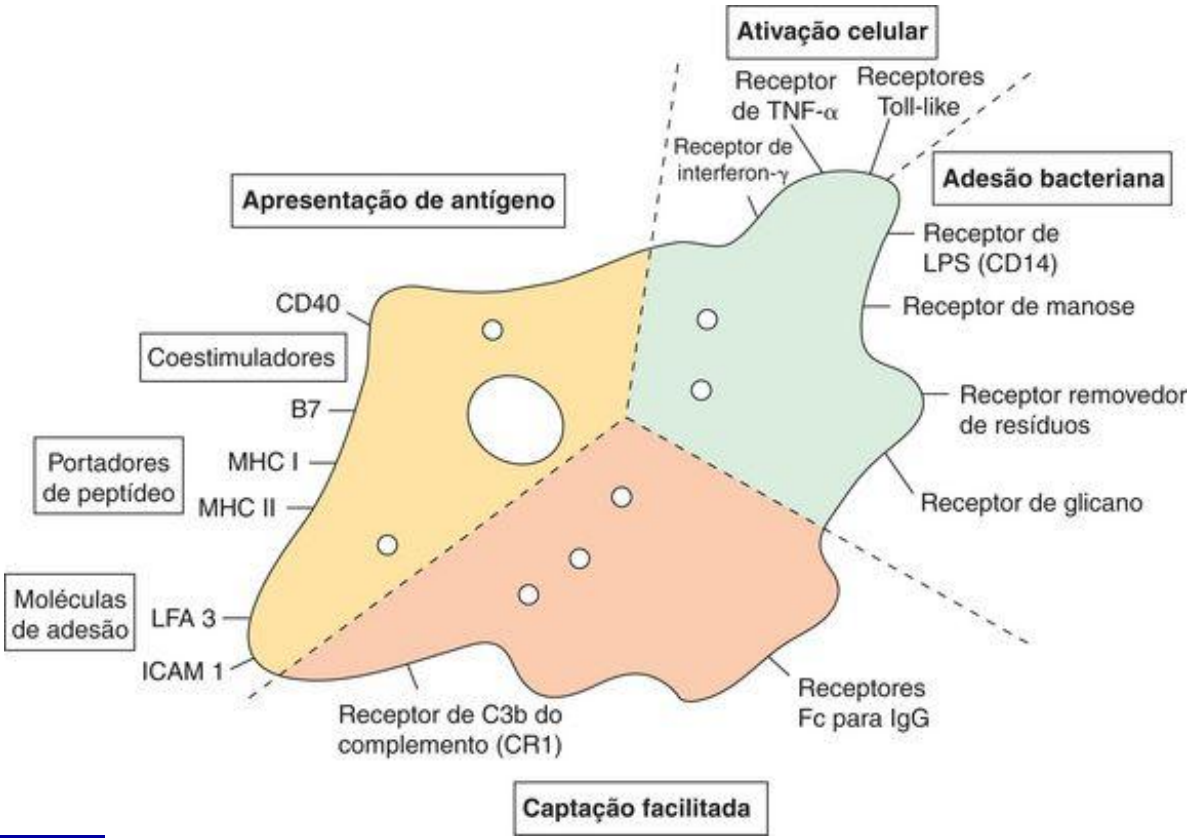


Figura 9-6 Estruturas da superfície do macrófago medeiam a função celular. Receptores para componentes bacterianos, anticorpo e complemento (para opsonização) promovem ativação e fagocitose de antígeno; outros receptores promovem apresentação de antígeno e ativação de células T. A célula dendrítica compartilha muitas dessas características. *MHC*, principal histocompatibilidade antigênica I ou II; *LFA*, antígeno associado à função leucocitária; *ICAM*, molécula de adesão intercelular; *LPS*, lipopolissacarídeo; *Ig*, imunoglobulina; *TNF*, fator de necrose tumoral.

O s **eosinófilos** são células altamente granuladas (11 a 15μm de diâmetro) com um núcleo bilobulado que se cora com o corante ácido eosina Y. Também são fagocíticos, móveis e granulados. Os grânulos contêm fosfatase ácida, peroxidase e proteínas básicas

eosinofílicas. Os eosinófilos desempenham um papel na defesa contra **infecções parasitárias**. As proteínas básicas eosinofílicas são tóxicas para muitos parasitas. Os **basófilos**, outro tipo de granulócito, não são fagocíticos, mas liberam o conteúdo de seus grânulos durante respostas alérgicas (hipersensibilidade do tipo 1).

Sistema Fagocítico Mononuclear

O **sistema fagocítico mononuclear** é composto por células mieloides e consiste em monócitos (Fig. 9-1) no sangue e células derivadas de **monócitos**. Diferentes citocinas ou ambientes teciduais promovem a diferenciação de células-tronco mieloides e monócitos nos vários macrófagos e células dendríticas. Essas células incluem *macrófagos, macrófagos alveolares nos pulmões, células de Kupffer no fígado, células mesangiais intraglomerulares no rim*, **histiócitos no tecido conjuntivo, osteoclastos, células sinoviais e células da microglia no cérebro. Macrófagos alveolares e da serosa (p. ex., peritoneais)** são exemplos de macrófagos "errantes". A **microglia cerebral** corresponde às células que entram no cérebro próximas do momento do nascimento e se diferenciam em células fixas. Algumas **células dendríticas** são mieloides e podem ser derivadas de monócitos. Estas formas maduras possuem diferentes morfologias correspondentes à sua localização final e função tecidual, podendo expressar um subgrupo de atividades de macrófago ou marcadores de superfície celular.

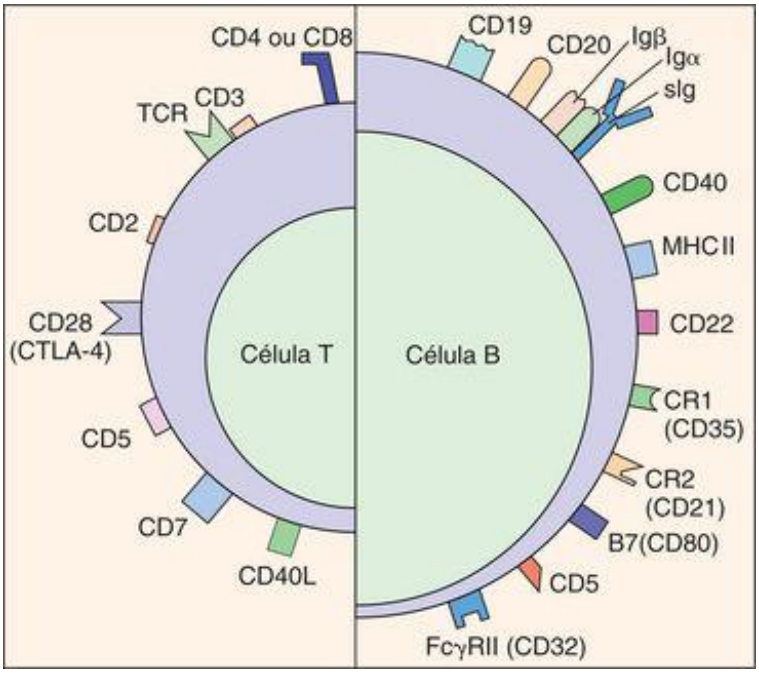


Figura 9-7 Marcadores de superfície de células B e T humanas.

Os **monócitos** têm de 10 a 18μm de diâmetro, com um núcleo de um unilobulado em forma de rim. Eles representam de 3% a 8% dos leucócitos do sangue periférico. Os monócitos seguem os neutrófilos como um componente celular inicial de inflamação.

Os **macrófagos** são células de vida longa que são fagocíticas, contêm lisossomos e, ao contrário dos neutrófilos, possuem mitocôndrias. Os macrófagos possuem as seguintes funções básicas: (1) fagocitose; (2) apresentação de antígenos a células T para iniciar respostas imunes específicas; e (3) secreção de citocinas para ativar e promover respostas inatas e imunes (Fig. 9-6). Os macrófagos expressam receptores de superfície celular para a porção Fc da imunoglobulina (Ig) G (**Fc-γ RI, Fc-γ RII, Fc-γ RIII**) e para o produto C3b da cascata de complemento (**CR1, CR3**). Esses receptores facilitam a fagocitose de antígenos, bactérias ou vírus cobertos com essas proteínas. **Receptores *Toll-like* e outros receptores de reconhecimento de padrão** reconhecem padrões moleculares associados a patógenos e ativam respostas protetoras. Os macrófagos também expressam a **molécula MHC classe II**, que permite que essas células apresentem antígenos às células T auxiliares CD4 para expandir a resposta imune. Ao detectarem bactérias, os macrófagos secretam **interleucina-1, interleucina-6, fator de necrose tumoral, interleucina-12** e outras moléculas que estimulam respostas imunes e inflamatórias, incluindo febre. Uma linfocina derivada de célula

T, **interferon-γ**, ativa macrófagos. **Macrófagos ativados** possuem capacidade fagocítica, de morte e de apresentação de antígeno acentuadas.

Células Dendríticas

A s **células dendríticas (DCs)** de origens mieloide e linfoide possuem tentáculos semelhantes aos de um polvo e são APCs profissionais que podem também produzir citocinas. Diferentes tipos de células dendríticas imaturas e maduras são encontrados em tecido e no sangue; eles incluem **células de Langerhans** na pele, **células dérmicas intersticiais**, células **dendríticas esplênicas marginais**, e células dendríticas no **fígado, timo, centros germinativos dos linfonodos** e **sangue. Células dendríticas plasmocitoides** estão presentes no sangue e produzem grandes quantidades de interferon alfa e citocinas em resposta a infecções virais ou outras infecções. **Células dendríticas foliculares** presentes em linfonodos e no baço não são de origem hematopoiética, mas possuem tentáculos e uma superfície "aderente" para concentrar e apresentar antígenos a células B. As **DCs imaturas** capturam e fagocitam antígenos eficientemente, liberam citocinas para ativar e conduzir a resposta imune subsequente, e então amadurecem em células dendríticas. Essas células se movem para regiões dos linfonodos ricas em células T, para apresentar antígeno nas suas moléculas MHC classe I e classe II. As células dendríticas são as únicas apresentadoras de antígeno que podem iniciar uma resposta imune com um linfócito T *naïve* e determinar o tipo de resposta (TH1, TH2, Treg).

Linfócitos

Os linfócitos têm de 6 a 10μm de diâmetro, que é menor que o dos leucócitos. As duas principais classes de linfócitos, **células B** e **células T**, possuem um núcleo grande e um citoplasma menor, agranular. Embora as células B e T sejam indistinguíveis por suas características morfológicas, elas podem ser diferenciadas com base na função e nos marcadores de superfície (Tab. 9-5). Células linfoides que não são células B ou T (células não B/não T, ou células nulas) são linfócitos grandes e granulares (LGLs), também conhecidos como **células *natural killer* (NK)**.

Tabela 9-5 Comparação entre Células B e T

Propriedade	Células T	Células B
Origem	Medula óssea	Medula óssea
Maturação	Timo	Equivalente da bursa: medula óssea, placas de Peyer
	Auxiliares: produção de citocina para início e promoção de resposta imune DTH: promoção e amplificação da	

Funções	resposta inflamatória CTL: citólise restrita por MHC classe I NKT: resposta rápida à infecção Treg: controle e supressão de célula T e outras respostas	**Produção de anticorpo** Apresentação de antígeno a células T
Resposta protetora	Resolução de infecções intracelulares e fúngicas	Anticorpo protege contra novo desafio, bloqueiam a disseminação do agente no sangue, opsonizam etc.
Produtos*	Citocinas, interferon-γ, fatores de crescimento, substâncias citolíticas (perforina, granzimas)	IgM, IgD, IgG, IgA, ou IgE
Marcadores de superfície distintivos	CD2 (receptor de hemácia de carneiro), TCR, CD3, CD4, ou CD8	Anticorpo de superfície, receptores de complemento, moléculas MHC classe II
Subpopulações	TH0 CD4: precursor auxiliar TH1 CD4: ativa o crescimento de células B, T e NK, ativa macrófagos, e respostas CTLs e DTH, e produção de IgG TH2 CD4: ativa o crescimento de células B e T, produção de IgG, IgE e IgA TH17 CD4: inflamação Treg CD4 CD25: supressão CD8: células T citotóxicas (CTL) CD8: células supressoras NKT: resposta rápida à infecção Células de memória: resposta anamnéstica, de vida longa	Células B: anticorpo, apresentação de antígeno Plasmócito: fábricas de anticorpos, terminalmente diferenciadas Células de memória: resposta anamnéstica, de vida longa

CTL, Linfócito citotóxico; DTH, hipersensibilidade do tipo tardio; Ig, imunoglobulina; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; TCR, receptor de célula T.

* *Dependendo da subpopulação.*

A função principal das **células B** é **produzir anticorpo**, mas também internalizam antígeno, processando-o e apresentando-o às células T para expandir a resposta imune. As células B podem ser identificadas pela presença de imunoglobulinas, moléculas MHC classe II, e receptores dos produtos C3b e C3d da cascata de complemento (CR1, CR2) nas suas superfícies celulares (Fig. 9-7). O nome “célula B” é derivado de seu sítio de diferenciação nas

aves, a *b*ursa de Fabricius, e a medula óssea (*b*one marrow em inglês) nos mamíferos. A diferenciação de células B também ocorre no fígado fetal e no baço fetal. Células B ativadas se desenvolvem em **células de memória**, que expressam o marcador de superfície celular CD45RO e circulam até serem ativadas por antígeno específico, ou então se diferenciam terminalmente em plasmócitos. Os **plasmócitos** possuem núcleos pequenos e um grande citoplasma para o seu trabalho como produtoras de anticorpo.

As **células T** são assim chamadas porque se desenvolvem no *t*imo. As células T têm as duas seguintes funções principais em resposta a antígenos estranhos:

1. Controlar, suprimir (quando necessário) e ativar respostas imunes e inflamatórias por interações célula-célula e pela liberação de citocinas.

2. Matar diretamente células infectadas por vírus, células estranhas (p. ex., enxertos de tecido) e tumores.

As células T constituem 60% a 80% dos linfócitos do sangue periférico.

As células T eram inicialmente distinguidas das células B com base na sua capacidade de ligar e cercar a si mesmas (formando rosetas) com hemácias de carneiro por meio da molécula CD2. Todas as células T expressam um **receptor de célula T (TCR)** ligante de antígeno, que se assemelha a um anticorpo embora seja diferente, e proteínas **associadas a CD2** e **CD3** na sua superfície celular (Fig. 9-7). As células T são divididas em três grupos principais com base no tipo de TCR e na expressão da superfície celular de duas proteínas, CD4 e CD8. A maioria dos linfócitos expressa o **TCR** αβ. **Células T que expressam CD4** são basicamente células produtoras de citocina que ajudam a iniciar e amadurecer respostas imunes, ativam macrófagos para induzir respostas de hipersensibilidade do tipo tardia (DTH), e um subgrupo dessas células suprime respostas. As células T CD4 podem ainda ser divididas nos subgrupos TH0, TH1, TH2, TH17 e Treg, de acordo com o espectro de citocinas que elas secretam e com o tipo de resposta imune que elas promovem. As células TH1 promovem respostas locais, inflamatórias celulares e de anticorpo e DTH, enquanto as células TH2 promovem produção de anticorpos. As células TH17 ativam respostas de neutrófilos e as células Treg promovem tolerância de células T. As **células T CD8** também liberam citocinas, mas são mais bem conhecidas por sua capacidade de reconhecer e matar células infectadas por vírus, transplantes de tecidos estranhos (enxertos não próprios) e células tumorais como células T *killer* citotóxicas. As células T CD8 também são responsáveis por suprimir respostas imunes. As células T produzem ainda **células de memória** que expressam CD45RO. As células T efetoras CD4 e CD8 terminalmente diferenciadas expressam a molécula MHC de classe II. Um número variável de células T expressa o **TCR** γδ mas não expressa CD4 ou CD8. Essas células geralmente residem na pele e mucosas e são importantes para a imunidade inata. As células **NKT** são células T, que compartilham características com células NK.

Os linfócitos grandes granulares de células NK lembram as células T CD8 na função citolítica contra células infectadas por vírus e células tumorais, mas diferem no mecanismo de identificação da célula-alvo. As células NK também possuem receptores Fc, que são usados em morte dependente de anticorpo e por isso são também chamadas **células de citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC ou K)**. Os grânulos citoplásmicos contêm proteínas citolíticas que vão mediar a morte.

Questões

Um professor estava ministrando um curso introdutório e descreveu as diferentes células imunes com os seguintes apelidos. Explique por que os apelidos são apropriados ou por que não são.

1. Macrófago: Pac-Man (um personagem de jogo de computador que normalmente come pontos mas come caras maus quando ativado)

1. O macrófago é um fagócito o qual quando ativado por interferon gama se torna capaz de eliminar micróbios fagocitados, bem como produzir citocinas.

2. Linfonodo: departamento de polícia

2. O linfonodo é um repositor de células B e T. Na evidência de infecção, células linfáticas ou dendríticas bem como outras células apresentadoras de antígeno “informam” o linfonodo o qual ativa as células T que por sua vez se comunicam com outras células através das citocinas (como um rádio), encaminhado-as para “resolver o problema”.

3. Célula T CD4: sargento do balcão/escrivão

3. As células CD4 T são comunicadas sobre o “problema microbiológico” pela célula apresentadora de antígeno e então determina que outras células “se responsabilizem” pela produção de citocina.

4. Célula T CD8: “guarda de ronda”/patrulheiro

4. As células CD8 T é ativada no linfonodo e então se move para a periferia para “patrulhar” vírus infectados ou células tumorais e assim “prende o infrator”, inativando-o com um “abraço” de apoptose.

5. Célula B: empresa de *design* e construção de produto

5. Células B e pré-B alteram o DNA dos seus genes de imunoglobulinas produzindo “projetos” de um anticorpo específico. Estas alterações são pequenas modificações (mutações somáticas) ou mudança de classe de imunoglobulina e ocorrem quando o “mercado” (células T ativadas por citocinas) informa-lhes que é necessário, mas sem modificar o “tema geral” do produto (mudanças na região variável e manutenção da região constante).

6. Plasmócito: fábrica

6. O plasmócito é uma fábrica de produção de imunoglobulina com um pequeno “escritório” (núcleo) e muitas “linhas de produção” (ribossomas) para “montagem” de anticorpo.

7. Mastócito: unidade química nuclear ativável

7. Os mastócitos possuem receptores Fc para IgE os quais vais “desengatilhar” a liberação de histaminas e outros agentes, conforme a sinalização de algum alérgeno.

8. Neutrófilo: coletor e desinfetador de lixo

8. O neutrófilo é muito eficiente na fagocitose e morte bacteriana.

9. Célula dendrítica: quadro de avisos

9. A célula dendrítica fagocita os antígenos “conduzindo-os” até os linfonodos para “mostrá-las” as células CD4 e CD8 T.

Bibliografia

Abbas AK, et al. Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2007.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease. Sunderland: Mass, Sinauer Associates, 2007.

Janeway CA, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 6th ed., New York: Current Biology and Garland, 2004.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby Immunology, 6th ed., New York: WH Freeman, 2007.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed., Philadelphia: Elsevier, 2005.

Rosenthal KS, Wilkinson JG. Flow cytometry and immunospeak. *Infect Dis Clin Pract*. 2007;15:183-191.

Rosenthal KS. Vaccines make good immune theater: Immunization as described in a three-act play. *Infect Dis Clin Pract*. 2006;14:35-45.

Rosenthal KS. Are microbial symptoms “self-inflicted”?: The consequences of immunopathology. *Infect Dis Clin Pract*. 2005;13:306-310.

Sompayrac L. How the Immune System Works, 2nd ed, Malden, Mass: Blackwell Scientific, 2003.

Trends in Immunology: Issues contain understandable reviews on current topics in immunology.

10 Respostas Imunes Humorais

O componente molecular básico da resposta imune humoral é o anticorpo. As células B e os plasmócitos sintetizam as moléculas de anticorpo em resposta ao desafio por parte do antígeno. Os anticorpos promovem a proteção contra um novo desafio por parte de um agente infeccioso, bloqueiam a disseminação do agente no sangue e facilitam a eliminação desse agente infeccioso. Para realizar estas tarefas, deve estar disponível um repertório incrivelmente grande de moléculas de anticorpos para reconhecer o número enorme de agentes infecciosos e moléculas que desafiam nossos corpos. Além de interagir especificamente com estruturas estranhas, as moléculas de anticorpo devem interagir com os sistemas e as células do hospedeiro (p. ex., complemento, macrófagos) para promover a depuração do antígeno e a ativação das respostas imunes subsequentes (Quadro 10-1). As moléculas de anticorpo também agem como receptores de superfície celular que estimulam as fábricas de anticorpo de célula B apropriadas a crescerem e produzirem mais anticorpo em resposta ao desafio antigênico.

Quadro 10-1 Ação Antimicrobiana dos Anticorpos

São opsônicos: promovem a ingestão e a morte pelas células fagocíticas (IgG)

Neutralizam (por bloqueio da fixação) as toxinas e os vírus

Aglutinam bactéria: pode auxiliar na remoção

Tornam imóveis os organismos móveis

Combinam-se com os antígenos na superfície microbiana e ativam a cascata do complemento, induzindo dessa forma uma resposta inflamatória, trazendo fagócitos novos e anticorpos séricos para o local

Combinam-se com antígenos na superfície microbiana, ativam a cascata do complemento e ancoram o complexo de ataque à membrana envolvendo de C5b a C9.

Imunógenos, Antígenos e Epítopos

Quase todas as proteínas e carboidratos associados a um agente infeccioso, seja uma bactéria, fungo, vírus ou parasita, são consideradas estranhas ao hospedeiro humano, tendo o potencial de induzir uma resposta imune. Uma proteína ou carboidrato que desafie o sistema imune e que possa iniciar uma resposta imune é chamada **imunógeno** (Quadro 10-2). Os imunógenos podem conter mais de um antígeno (p. ex., bactérias). Um **antígeno** é uma molécula reconhecida por anticorpos ou células T específicos. Um **epítopo** (**determinante antigênico**) é a verdadeira estrutura molecular que interage com uma única molécula de anticorpo ou receptor de célula T. Dentro de uma proteína, um epítopo pode ser formado por uma sequência específica **(epítopo linear)** ou por uma estrutura tridimensional **(epítopo conformacional)**. Geralmente, os antígenos e imunógenos contêm vários epítopos, cada um sendo capaz de se ligar a uma molécula de anticorpo diferente. Como será descrito mais adiante neste Capítulo, um **anticorpo monoclonal** reconhece um único epítopo.

Quadro 10-2 Definições

Adjuvante: substância que promove a resposta imune ao imunógeno

Antígeno: substância reconhecida pela resposta imune

Carreador: proteína modificada por hapteno para desencadear resposta

Epítopo: estrutura molecular reconhecida pela resposta imune

Hapteno: imunógeno incompleto que não pode iniciar resposta, mas que pode ser reconhecido pelo anticorpo

Imunógeno: substância capaz de desencadear uma resposta imune

Antígenos T-dependentes: antígenos que devem ser apresentados às células T e B para a produção de anticorpo

Antígenos T-independentes: antígenos com estruturas grandes e repetitivas (p. ex., bactérias, flagelina, lipopolissacarídeo, polissacarídeo)

Nem todas as moléculas são imunógenos. Em geral, *as proteínas são os melhores imunógenos, os carboidratos são imunógenos mais fracos e os lipídios e ácidos nucleicos são imunógenos ruins*. Os **haptenos (imunógenos incompletos)** quase sempre são pequenos demais para imunizar (*i.e.*, iniciar uma resposta) um indivíduo, mas podem ser reconhecidos por anticorpo. Os haptenos podem se tornar imunogênicos pela ligação com uma **molécula carreadora**, tal como uma proteína. Por exemplo, o dinitrofenol conjugado à albumina sérica bovina é um imunógeno do hapteno dinitrofenol.

Durante a imunização artificial (p. ex., vacinas), um adjuvante é utilizado para acentuar a resposta ao antígeno. Os **adjuvantes** usualmente prolongam a presença do antígeno no tecido, promovem a absorção do imunógeno ou ativam as células dendríticas (DCs), macrófagos e linfócitos. Alguns adjuvantes imitam os ativadores (p. ex., ligantes microbianos para os receptores *Toll-like*) presentes numa imunização natural.

Algumas moléculas não irão despertar uma resposta imune num indivíduo. Durante o crescimento do feto, o corpo desenvolve **tolerância imune central** contra os autoantígenos e quaisquer antígenos estranhos que possam ser introduzidos antes da maturação do sistema imune. No decorrer da vida, se desenvolve a **tolerância periférica** contra outras proteínas para impedir as respostas descontroladas ou autoimunes. Por exemplo, a nossa resposta imune é tolerante em relação à comida que ingerimos; alternativamente, a ingestão

de carne bovina induziria uma resposta antimuscular.

O tipo de resposta imune iniciada por um imunógeno depende de sua estrutura molecular. Uma resposta de anticorpo primitiva, porém rápida, pode ser iniciada contra *polissacarídeos bacterianos (cápsula), peptidoglicano ou flagelina*. Denominadas **antígenos T-independentes**, estas moléculas possuem uma estrutura grande e repetitiva suficiente para ativar as células B diretamente, para formar anticorpos sem a participação da célula T auxiliar. Nestes casos, a resposta é limitada à produção do anticorpo **IgM** e não consegue estimular uma **resposta anamnéstica (de reforço)**. A transição de uma resposta IgM para uma resposta IgG, IgE ou IgA resulta de uma grande mudança na célula B e é equivalente à diferenciação da célula. Isto requer o auxílio fornecido pelas interações da célula T e pelas citocinas. Portanto, o antígeno deve ser reconhecido e estimular as células T e B. Os **antígenos T-dependentes** são proteínas; estimulam todas as cinco classes de imunoglobulinas e podem desencadear uma resposta anamnéstica (reforço secundário).

Além da estrutura do antígeno, a quantidade, a via de administração e outros fatores influenciam o tipo de resposta imune, incluindo os tipos de anticorpo produzidos. Por exemplo, a administração oral ou nasal de uma vacina através das membranas mucosas promove a produção de uma forma secretora de **IgA** (sIgA) que não seria produzida no desafio intramuscular.

Tipos e Estruturas das Imunoglobulinas

As imunoglobulinas se compõem de pelo menos duas cadeias pesadas e duas cadeias leves, um dímero de dímeros. Elas são subdivididas em classes e subclasses com base na estrutura e na distinção antigênica de suas cadeias pesadas. IgG, IgM e IgA são as formas de anticorpo principais, enquanto a IgD e a IgE correspondem a menos de 1% das imunoglobulinas totais. As classes IgA e IgG de imunoglobulinas são divididas ainda em subclasses, com base nas diferenças na porção Fc. Existem quatro subclasses de IgG, designadas como IgG1 até IgG4 e duas subclasses de IgA (IgA1 e IgA2) (Fig. 10-1).

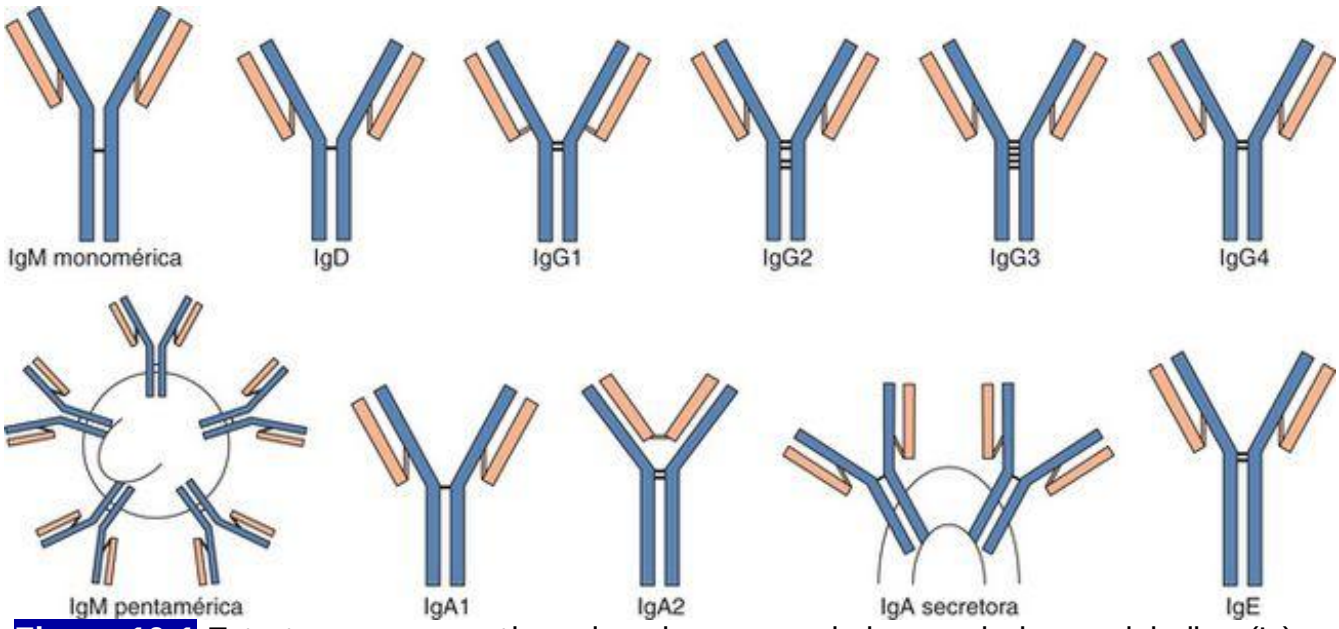


Figura 10-1 Estruturas comparativas das classes e subclasses de imunoglobulina (Ig) no homem. A IgA e a IgM são mantidas em multímeros pela cadeia J. A IgA pode adquirir o componente secretor para a passagem das células epiteliais.

As moléculas de anticorpo têm a forma de um "Y" com duas regiões estruturais principais que medeiam as duas funções principais da molécula (Fig. 10-1; Tab. 10-1). A **região variável/ sítio de combinação ao antígeno** deve ser capaz de identificar e interagir especificamente com um epítopo num antígeno. Uma grande quantidade de moléculas de anticorpo diferentes, cada uma com uma região variável diferente, é produzida em cada indivíduo para reconhecer a quantidade aparentemente infinita de antígenos distintos na natureza. A **porção Fc** (base do "Y" no anticorpo) interage com os sistemas e células do hospedeiro para promover a depuração do antígeno e a ativação das respostas imunes subsequentes. A porção Fc é responsável pela fixação do complemento e pela ligação da molécula aos receptores de imunoglobulina de superfície celular (**FcR**) nos macrófagos, células *natural killer* e células T. Na IgG e na IgA, a porção Fc interage com outras proteínas para promover a transferência através da placenta e da mucosa, respectivamente (Tab. 10-2). Além disso, cada um dos diferentes tipos de anticorpo pode ser sintetizado com uma **porção transmembrana** para torná-lo um receptor de antígeno na superfície celular.

Tabela 10-1 Imunoglobulinas

Quadro 10-1. Ação Antimicrobiana dos Anticorpos

São opsônicos: promovem a ingestão e a morte pelas células fagocíticas (IgG)

Neutralizam (por bloqueio da fixação) as toxinas e os vírus

Aglutinam bactéria: pode auxiliar na remoção

Tornam imóveis os organismos móveis

Combinam-se com os antígenos na superfície microbiana e ativam a cascata do complemento, induzindo dessa forma uma resposta inflamatória, trazendo fagócitos novos e anticorpos séricos para o local

Combinam-se com antígenos na superfície microbiana, ativam a cascata do complemento e ancoram o complexo de ataque à membrana envolvendo de C5b a C9.

Tabela 10.1. Imunoglobulinas

Ig	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA
Associação de subclasse à célula T auxiliar CD4	T-independente e TH1	–	TH1, TH2	TH2	TH2
Ig total (%)	5–10	<1	85	<1	5–15
Massa molecular (kDa)	900	185	154	190	160 (+ dímero)
Classe da cadeia H	μ	δ	γ	ε	α
Subclasse	–	–	γ–1, γ–2, γ–3, γ–4	–	α–1, α–2
Meia vida sérica (dias)	5	2–3	23	2–3	6
Principal sítio de ação	Soro	Receptor de células B	Soro e tecido	Mastócitos	Secreções
Principal efeito biológico	Resistência: precipitina, resposta primária	Ativação de célula B	Resistência: opsonina, resposta secundária	Anafilaxia	Resistência: proteção das membranas mucosas
Fixação do complemento	++++	–	+++	–	+
Opsonina para macrófago, PMN			+		
Secreção mucosa	–	–	–	–	+
Atravessa a placenta	–	–	+	–	–

PMN, neutrófilo polimorfonuclear (leucócito); +/–, atividade relativa.

Tabela 10-2 Interações de Fc com Componentes Imunes

Componente Imune	Interação	Função
Receptor de Fc	Macrófagos	Opsonização
	PMNs	Opsonização
	Células T	Ativação
	Células NK (citotoxicidade celular dependente do anticorpo)	Morte
	Mastócitos para imunoglobulina E	Reações alérgicas, antiparasitárias
Complemento	Sistema complemento	Opsonização, morte (especialmente das bactérias)

NK, natural killer; *PMN, neutrófilos polimorfonucleares*.

A IgG e a IgA possuem uma **região em dobradiça** flexível, rica em prolina e suscetível à clivagem por enzimas proteolíticas. A digestão das moléculas de IgG com **papaína** resulta em dois fragmentos **Fab** e um fragmento **Fc** (Fig. 10-2). Cada fragmento Fab possui um sítio de ligação a antígeno. A **pepsina** cliva a molécula, produzindo um fragmento **F(ab′)**$_2$ com dois sítios de ligação a antígeno e um fragmento **pFc′**.

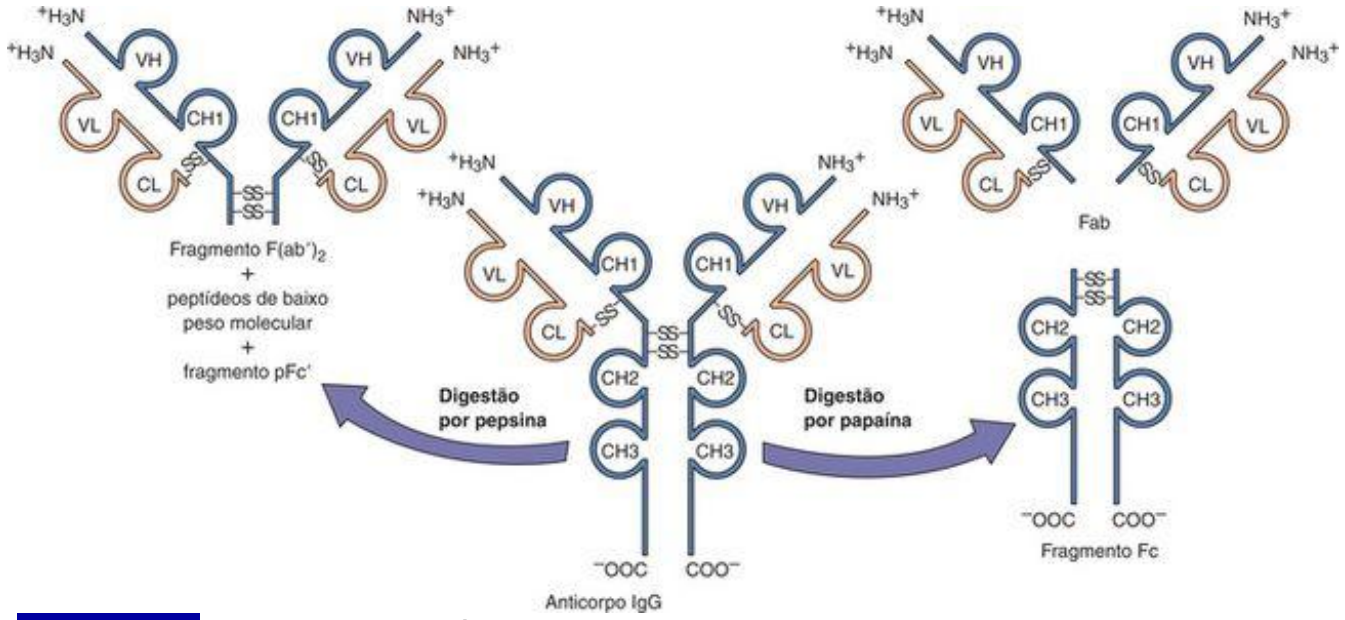


Figura 10-2 Digestão proteolítica da imunoglobulina G (IgG). O tratamento com pepsina produz um fragmento $F(ab')_2$ dimérico. O tratamento com papaína produz fragmentos Fab monovalentes e um fragmento Fc. Os fragmentos $F(ab')_2$ e Fab se ligam ao antígeno, mas carecem de uma região Fc funcional. A cadeia pesada é representada em *azul*; a cadeia leve em *laranja*.

Os diferentes tipos e partes de imunoglobulina também podem ser diferenciados pelo uso de anticorpos dirigidos contra diferentes porções da molécula. Os **isotipos (IgM, IgD, IgG, IgA e IgE**) são determinados pelos anticorpos contra a porção Fc da molécula (com *iso* significando o mesmo para todas as pessoas). As diferenças **alotípicas** ocorrem nas moléculas de anticorpo com o mesmo isotipo, mas que contêm sequências proteicas que variam de uma pessoa para a outra (além da região de ligação a antígeno). (*Cada uma delas ["allo"] não pode ter a mesma IgG.)* O **idiotipo** se refere às sequências proteicas na região variável que geram a grande quantidade de regiões de ligação a antígeno. (*Existem muitos idiotipos diferentes no mundo.)*

Em base molecular, cada molécula de anticorpo é constituída por cadeias pesadas e leves codificadas por genes diferentes. A unidade básica de imunoglobulina consiste em **duas cadeias pesadas (H)** e **duas cadeias leves (L)**. A IgM e a IgA consistem em multímeros desta estrutura básica. As cadeias pesadas e leve da imunoglobulina são mantidas juntas por **pontes dissulfeto intercadeias**. Dois tipos de cadeias leves — κ **e** λ — estão presentes nas cinco classes de imunoglobulina, embora apenas um tipo esteja presente em uma molécula individual. Aproximadamente 60% das moléculas de imunoglobulina humana têm cadeias leves κ e 40% têm cadeias leves λ.

Existem **cinco tipos de cadeia pesada**, um para cada isotipo de anticorpo (**IgM, μ; IgG, γ; IgD, δ; IgA, α; IgE, ε)**. As pontes dissulfeto intercadeia definem os domínios moleculares dentro de cada cadeia. As cadeias leves possuem um domínio constante e um variável. As cadeias pesadas possuem um domínio variável e três (IgG, IgA) ou quatro (IgM, IgE) domínios constantes. Os domínios variáveis nas cadeias pesadas e leves interagem para formar o sítio de ligação ao antígeno. Os domínios constantes de cada cadeia correspondem à porção Fc, proporcionam a estrutura molecular para a imunoglobulina e definem a interação da molécula de anticorpo com os sistemas do hospedeiro, daí resultando sua função final. A cadeia pesada das diferentes moléculas de anticorpo também pode ser sintetizada com uma região transmembrana para tornar o anticorpo um receptor de superfície celular antígeno-específico na célula B.

Imunoglobulina D

A IgD, que possui uma massa molecular de 185kDa, representa menos de 1% das imunoglobulinas séricas. A IgD existe basicamente como uma IgD de membrana, que atua, com a IgM, como um receptor de antígeno nas membranas das células B primitivas para ajudar a iniciar as respostas de anticorpo, ativando o crescimento da célula B. A IgD e a IgM são os únicos isotipos que podem ser expressos conjuntamente por uma mesma célula.

Imunoglobulina M

A IgM é o primeiro anticorpo produzido em resposta ao desafio antigênico e pode ser produzida de maneira independente da célula T. A IgM contribui com 5% a 10% das imunoglobulinas totais nos adultos e possui uma meia-vida de 5 dias. Ela é uma **molécula pentamérica** com cinco unidades de imunoglobulina unidas por pontes dissulfeto e pela **cadeia J**, com uma massa molecular total de 900kDa. Teoricamente, esta imunoglobulina possui 10 sítios de ligação ao antígeno. A IgM é a imunoglobulina mais eficiente para fixar (ligar) o complemento. Um único pentâmero de IgM pode ativar a via clássica do complemento. A IgM monomérica é encontrada com a IgD na superfície da célula B, onde atua como um receptor para antígeno. Como a IgM é relativamente grande, ele permanece no sangue e não se difunde eficientemente para dentro do tecido. A IgM é particularmente importante para a imunidade contra os antígenos polissacarídeos no exterior dos microrganismos patogênicos. Ela também promove a fagocitose e a bacteriólise ao ativar o complemento através de sua porção Fc. A IgM também é o componente principal dos fatores reumatoides (autoanticorpos).

Imunoglobulina G

A IgG compreende aproximadamente 85% das imunoglobulinas nos adultos. Ela possui uma massa molecular de 154kDa, com base em duas cadeias L de 22.000Da cada uma e duas cadeias H de 55.000Da cada. As quatro subclasses de IgG diferem em estrutura (Fig. 10-1), concentração relativa e função. A produção de IgG requer o auxílio da célula T. A IgG, como uma classe de moléculas de anticorpo, possui a maior meia-vida (23 dias) das cinco classes de imunoglobulina, atravessa a placenta e é o anticorpo principal na **resposta anamnéstica ou de reforço**. A IgG exibe grande avidez (capacidade de ligação) pelos antígenos, fixa o complemento, estimula a quimiotaxia e age como uma opsonina para facilitar a fagocitose.

Imunoglobulina A

A IgA compreende de 5% a 15% das imunoglobulinas séricas e possui uma meia-vida de 6 dias. Possui uma massa molecular de 160kDa e uma estrutura monomérica básica de quatro cadeias. Entretanto, ela pode ocorrer como monômeros, dímeros, trímeros e multímeros combinados pela cadeia J (similar à IgM). Além da IgA sérica, uma **IgA secretora** aparece nas secreções do corpo e proporciona imunidade localizada. A produção de IgA requer auxílio especializado da célula T e estimulação da mucosa. Os adjuvantes, como a toxina da cólera e as bactérias *Salmonella* atenuadas, podem promover uma resposta de IgA. A IgA se liga a um **receptor poli-Ig** nas células epiteliais para o transporte através da célula. O receptor poli-Ig permanece ligado à IgA e depois é clivado para se tornar o **componente secretor** quando a IgA secretora é secretada da célula. Um adulto secreta aproximadamente 2g de IgA por dia. A IgA secretora aparece no colostro, nas secreções intestinais e respiratórias, na saliva, nas lagrimas e em outras secreções. Os indivíduos deficientes em IgA têm uma incidência aumentada de infecções do trato respiratório.

Imunoglobulina E

A IgE contribui com 1% das imunoglobulinas totais e possui uma meia-vida de aproximadamente 2,5 dias. A maioria da IgE está ligada aos receptores Fc nos **mastócitos**, nos quais ela age como um receptor para os alérgenos e antígenos dos parasitas. Quando antígenos suficientes se ligam à IgE no mastócito, a célula libera histamina, prostaglandina, fator de ativação de plaqueta e citocinas. A IgE é importante para a proteção contra infecções parasitárias, sendo responsável pela **hipersensibilidade anafilática** (Tipo 1) (reações alérgicas rápidas).

Imunogenética

A resposta de anticorpo pode reconhecer algo como 10^8 estruturas, mas pode ainda amplificar e focar especificamente uma resposta direcionada a um desafio específico. Os mecanismos para a geração desse repertório de anticorpo e as diferentes subclasses de imunoglobulina estão ligados a eventos genéticos aleatórios que acompanham o desenvolvimento (diferenciação) da célula B (Fig. 10-3).

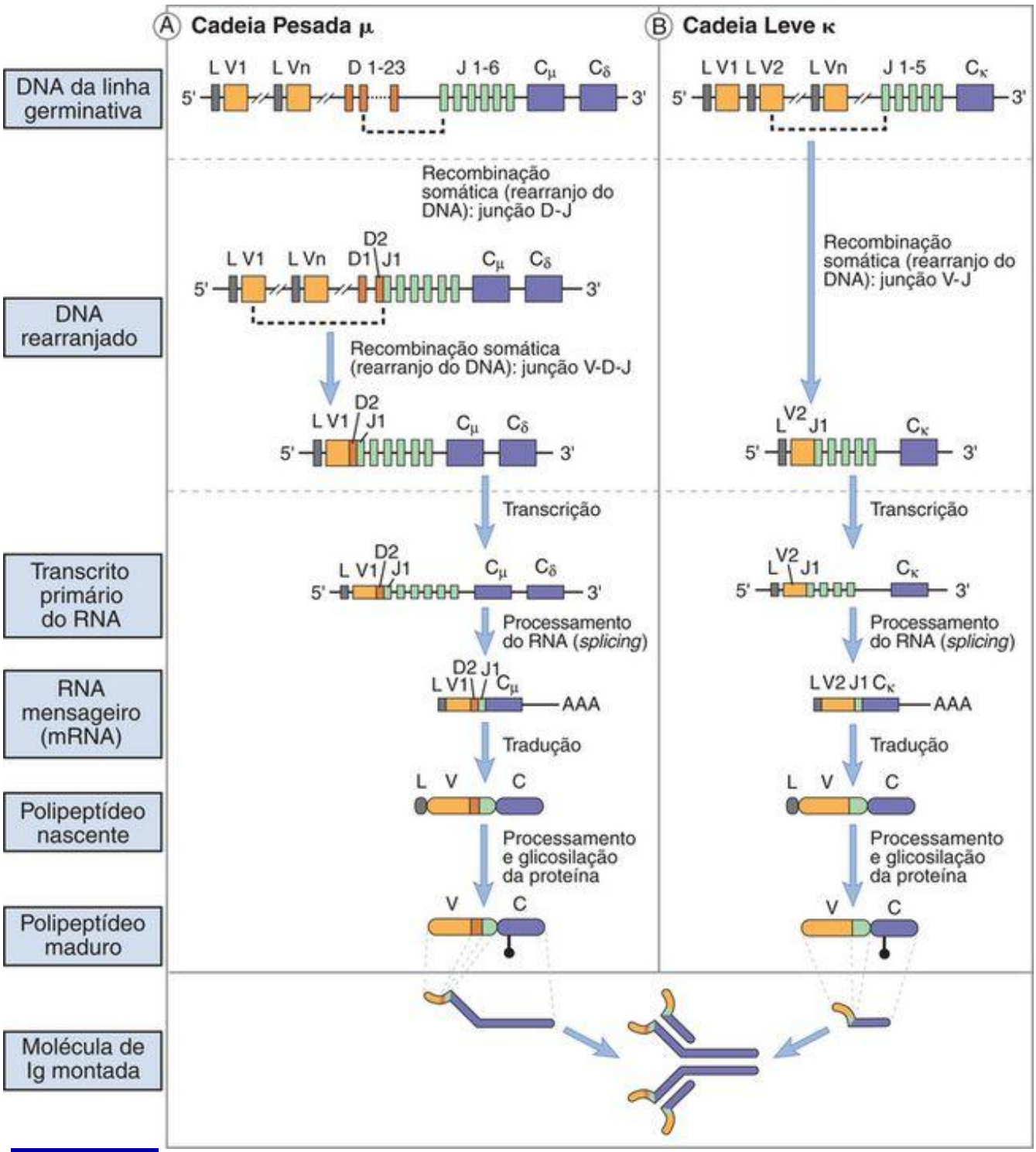


Figura 10-3 O auxílio da célula T induz à diferenciação da célula B e promove a recombinação genética e a mudança de classe da Ig. Os genes das regiões de mudança na frente dos genes da região constante (incluindo as subclasses da imunoglobulina [Ig] G) permitem a ligação da região VDJ pré-formada com diferentes genes da região constante da

cadeia pesada, removendo geneticamente os genes μ, δ e demais genes intervenientes. Isto produz um gene de imunoglobulina com a mesma região VDJ (exceto pela mutação somática), mas diferentes genes de cadeia pesada. A recomposição do RNA mensageiro (mRNA) produz o mRNA final de IgM e IgD.

(Redesenhado de Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S: Cellular and Molecular Immunology, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2007.)

Os cromossomos humanos 2, 22 e 14 contêm genes de imunoglobulina para as cadeias κ, λ e H, respectivamente. As **formas de linha germinativa** desses genes consistem em conjuntos diferentes e separados de blocos de construção genéticos para as cadeias leves **(segmentos gênicos V e J)** e pesadas **(segmentos gênicos V, D e J)**, que são geneticamente recombinados para produzir as regiões variáveis da imunoglobulina. Estas regiões variáveis são associadas então aos segmentos gênicos constantes da região C. Para a cadeia leve κ, existem 300 segmentos gênicos V, 5 segmentos gênicos J e 1 segmento gênico C. O número de segmentos gênicos V e J de λ é mais limitado. Na cadeia pesada, existem de 300 a 1.000 genes V, 12 genes D e 6 genes J (cadeia pesada), mas apenas 9 genes C (um para cada classe e subclasse de anticorpo [**μ; δ; γ_3, γ_1, γ_2 e γ_4; ε; α_1 e α_2**]). Além disso, os segmentos gênicos dos peptídeos transmembrana podem ser ligados aos genes de cadeia pesada para permitir que a molécula do anticorpo se insira na membrana da célula B como um receptor de ativação do antígeno.

A produção da molécula final do anticorpo nas células pré-B e B requer recombinação genética do ácido desoxirribonucleico (DNA) e processamento pós-transcricional do ácido ribonucleico (RNA) para montar o gene da imunoglobulina e produzir o RNA mensageiro (mRNA) funcional (Fig. 10-3). Cada um dos segmentos V, D e J é circundado por sequências de DNA que promovem a **recombinação direcional e a perda das sequências de DNA intervenientes**. Cada um dos sítios de recombinação é unido por nucleotídeos inseridos aleatoriamente, o que pode aumentar a diversidade das sequências ou romper o gene, dependendo do número de nucleotídeos inseridos. A justaposição dos segmentos gênicos V e J das cadeias leves e dos segmentos gênicos V, D e J das cadeias pesadas escolhidos aleatoriamente produz a região variável das cadeias de imunoglobulina. Estas reações de recombinação são análogas, o que permite parear e costurar padrões semelhantes de um longo retalho de tecido e depois cortar as alças intervenientes de tecido extra. A **mutação somática** do gene de imunoglobulina também pode ocorrer mais tarde nas células B ativadas e em crescimento, contribuindo para o número enorme de sequências codificantes possíveis para a região variável e para fazer o ajuste fino de uma resposta imune específica. As sequências da região variável (VDJ) são ligadas por recombinação às sequências μ; δ; γ_3, γ_1, γ_2 e γ_4; ε; ou α_1 e α_2 dos segmentos gênicos C para produzir um gene de cadeia pesada. Nas células pré-B e nas células B imaturas, os mRNAs são produzidos e contêm os segmentos gênicos da região variável conectados às sequências gênicas C para μ e δ. O processamento do mRNA remove μ ou δ, como se fosse um íntron, para produzir a imunoglobulina final. A célula pré-B expressa IgM citoplasmática, enquanto a célula B expressa IgM citoplasmática e de superfície celular e IgD de superfície celular. IgM e IgD são o único par de isotipos que pode ser expresso na mesma célula.

A **mudança de classe** (IgM para IgG, IgE ou IgA) ocorre nas células B maduras em resposta às diferentes citocinas produzidas pelas células T auxiliares TH1 ou TH2 CD4 (Fig. 10-3). Cada um dos segmentos gênicos C, exceto para δ, é precedido por uma sequência de DNA chamada **sítio de mudança**. Após o sinal de citocina apropriado, a mudança em frente à sequência μ se recombina com a mudança em frente às sequências γ_3, γ_1, γ_2 ou γ_4; ε; ou α_1 ou α_2, criando uma alça de DNA que é removida subsequentemente. O processamento do transcrito de RNA leva ao mRNA final para a proteína da cadeia pesada de imunoglobulina. Por exemplo, a produção de IgG1 resultaria da excisão do DNA contendo os segmentos gênicos C_μ C_δ, e $C_{\gamma 3}$ para ligar a região variável ao segmento gênico $C\gamma_1$. **A mudança de classe não altera a região variável**.

As etapas finais na diferenciação da célula B para células de memória ou plasmócitos não alteram o gene de anticorpo. As **células de memória** são células de vida longa,

respondedoras ao antígeno, que expressam o marcador de superfície CD45RO. As células de memória podem ser ativadas em resposta ao antígeno no decorrer da vida, para se dividirem e produzirem o seu anticorpo específico. Os **plasmócitos** são células B diferenciadas terminalmente com um pequeno núcleo, mas com um grande citoplasma preenchido com retículo endoplasmático. Os plasmócitos são fábricas de anticorpo.

Resposta de Anticorpo

Um repertório inicial de imunoglobulinas IgM e IgD é gerado nas células pré-B pelos eventos genéticos previamente descritos (Fig. 10-4). A expressão de IgM e da IgD de superfície celular acompanha a diferenciação da célula pré-B em célula B. O anticorpo de superfície celular age como um receptor de antígeno para disparar a ativação da célula B através dos seus receptores de transdução de sinal associados, Ig–α (CD79a) e Ig–β (CD79b). Uma cascata de tirosina cinase proteica, fosfolipase C e fluxos de cálcio ativa a transcrição e o crescimento celular para mediar o sinal de ativação. Outras moléculas de superfície, incluindo o receptor de complemento (C3d) CR2 (CD21), amplificam o sinal de ativação. A combinação destes sinais dispara o crescimento e aumenta a quantidade de células que produzem anticorpos para este antígeno. Desta maneira, as células B que melhor reconhecem os diferentes epítopos do antígeno são selecionadas para aumentar em quantidade, num processo chamado **expansão clonal**.

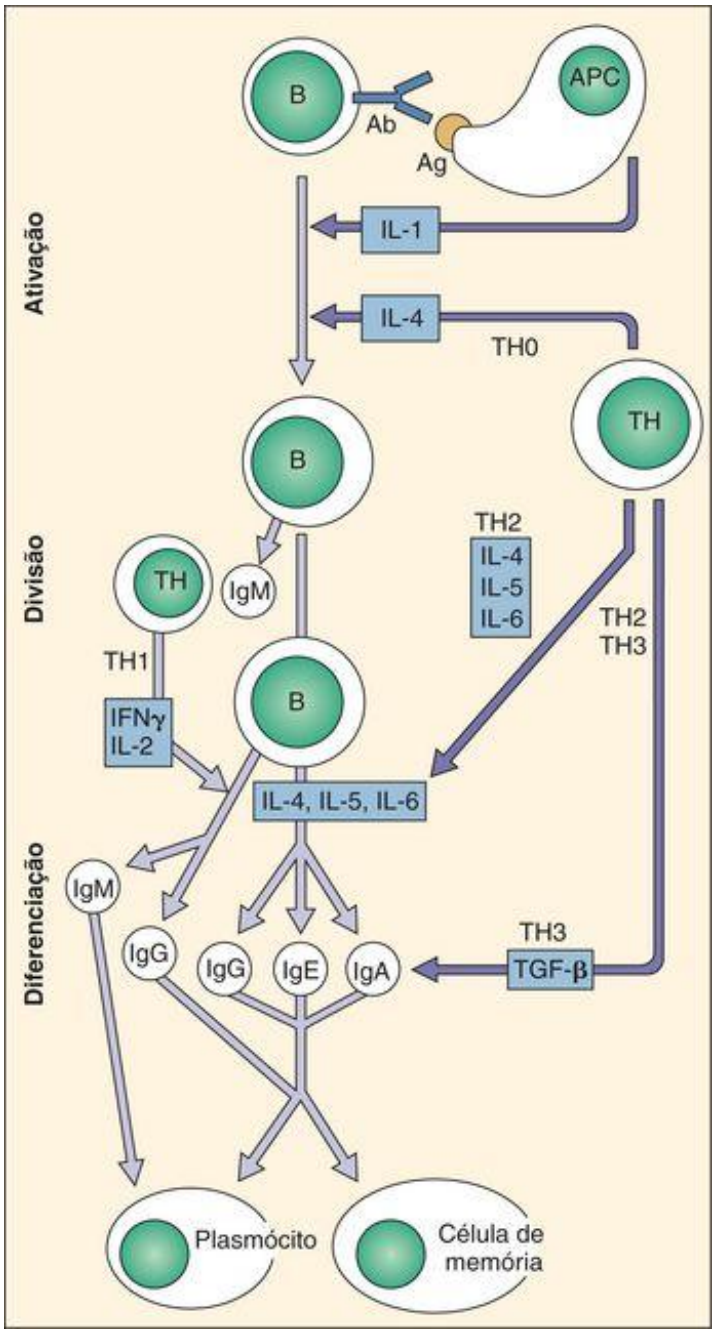


Figura 10-4 Ativação da célula B. A produção de IgM é ativada pela ligação do antígeno, pela ligação cruzada dos receptores de superfície celular e pelo produto C3d do complemento,

endotoxinas e citocinas. A ligação das células T e citocinas associadas com as respostas TH1, TH2 ou TH3 ativa o crescimento e a diferenciação das células B para produzir diferentes isotipos de anticorpo. APC, célula apresentadora de antígeno; IFN_{γ}, interferon-$_{\gamma}$; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; TGF-β, fator β de transformação do crescimento.

A **expansão clonal** das células B antígeno-específicas aumenta a quantidade de fábricas de anticorpo que estão produzindo o anticorpo relevante e, desse modo, a força da resposta de anticorpo é aumentada. A ativação das células B também promove a ***mutação somática*** *da região variável, aumentando a diversidade das moléculas de anticorpo* dirigidas para o antígeno específico. Os clones de célula B que expressam anticorpo com a ligação a antígeno mais forte são estimulados preferencialmente. Isto seleciona uma resposta de anticorpo melhor.

Os **antígenos T-independentes** fazem a ligação cruzada com quantidades suficientes de anticorpo de superfície para estimular o crescimento das células B antígeno-específicas. Por outro lado, a produção de anticorpo para **antígenos T-dependentes** requer interações do receptor de célula B com a célula T auxiliar através de CD40 (na célula B), CD40L (na célula T) e a ação de citocinas. Diferentes combinações de citocinas produzidas pelas células T auxiliares induzem a mudança de classe. *As respostas de TH1 auxiliar (interferon–*γ)*promovem a produção de IgG. As respostas de TH2 auxiliar (IL-4, IL-5, IL-6) promovem a produção de IgG, IgE e IgA. A produção de IgA é promovida especialmente pela IL-5 e pelo fator* β *de transformação do crescimento (TGF–*;β) (TH3). As células de memória são desenvolvidas com o auxílio da célula T. A diferenciação terminal produz a fábrica final de anticorpos, o plasmócito.

Durante uma resposta imune são produzidos anticorpos contra os diferentes epítopos do objeto, proteína ou agente infeccioso estranhos. *O anticorpo específico é uma mistura de muitas moléculas de imunoglobulina diferentes produzidas por muitas células B diferentes* **(anticorpo policlonal)**, com cada molécula de imunoglobulina diferindo em relação ao epítopo que ela reconhece e em relação à força da interação. São criadas moléculas de anticorpo diferentes contra epítopos diferentes no antígeno, sendo que cada uma se liga com forças diferentes (**afinidade**, ligação monovalente a um epítopo; **avidez**, ligação multivalente do anticorpo ao antígeno) ao mesmo antígeno.

Os **anticorpos monoclonais** são anticorpos idênticos produzidos por um único clone de células ou por mielomas (cânceres de plasmócitos) ou hibridomas. Os hibridomas são células clonadas originadas em laboratório, obtidas pela fusão de células do baço produtoras de anticorpo e uma célula de mieloma. Em 1975, Kohler e Millstein desenvolveram a técnica de produção de anticorpos monoclonais a partir de hibridomas de célula B. O hibridoma é imortal e produz um único anticorpo (monoclonal). Esta técnica revolucionou o estudo da imunologia porque permite a seleção (clonagem) de células individuais produtoras de anticorpo e o seu desenvolvimento em fábricas celulares para a produção de grandes quantidades desse anticorpo. Os anticorpos monoclonais têm sido produzidos comercialmente tanto para reagentes diagnósticos quanto para fins terapêuticos.

A resposta primária de anticorpos se caracteriza pela produção inicial de IgM. Conforme a resposta amadurece, a concentração dos anticorpos IgG aumenta rapidamente (Fig. 10-5). Os anticorpos de IgM aparecem no sangue de 3 dias a 2 semanas após a exposição a um novo imunógeno. Os primeiros anticorpos produzidos reagem com o antígeno residual e, portanto, são rapidamente depurados. Após a fase de latência inicial (*Lag*), porém, o título do anticorpo aumenta logaritmicamente até alcançar um patamar.

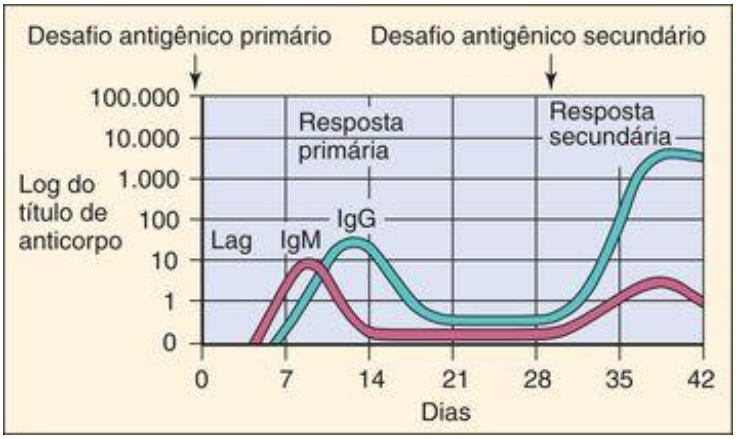
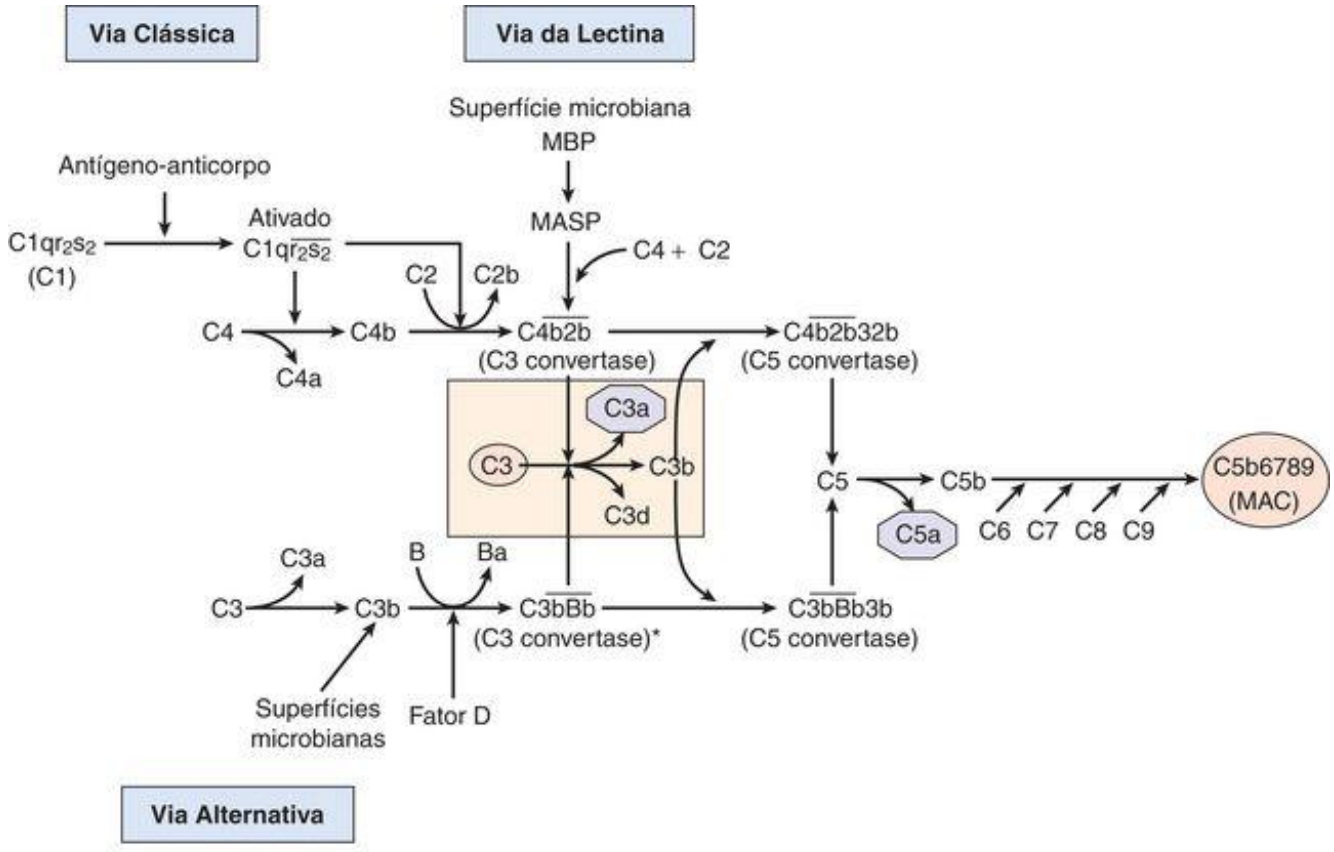


Figura 10-5 Período de tempo das respostas imunes. A resposta primária ocorre após um período de latência (*Lag*). A resposta de imunoglobulina (Ig) M é a primeira resposta. A resposta imune secundária (resposta anamnéstica) alcança um título mais elevado, dura mais e consiste predominantemente em IgG.

A re-exposição a um imunógeno, uma **resposta secundária**, induz uma resposta de anticorpo mais elevada (também chamada **resposta anamnéstica**). Os anticorpos se desenvolvem mais rapidamente, duram mais e alcançam um título mais elevado. Os anticorpos numa resposta secundária são principalmente da classe IgG.

Complemento

O sistema complemento é um alarme e uma arma contra infecção, especialmente infecção bacteriana. O sistema complemento é ativado diretamente pelas bactérias e pelos produtos bacterianos (**via alternativa ou da properdina**), pela ligação da lectina a açucares na superfície celular bacteriana (**proteína de ligação à manose**) ou por complexos de anticorpo e antígeno (**via clássica**) (Fig. 10-6). A ativação por qualquer uma dessas vias inicia uma cascata de eventos proteolíticos que produzem fatores quimiotáticos para atrair ao sítio células fagocíticas e inflamatórias, aumentar a permeabilidade vascular para permitir o acesso ao sítio de infecção, se ligar ao agente para promover a sua fagocitose (**opsonização**) e eliminação matando diretamente o agente infectante. As três vias de ativação do complemento se fundem num ponto comum de junção, a ativação do **componente C3**.



* Estabilizada pela properdina.

Figura 10-6 As vias clássica, da lectina e alternativa do complemento. Apesar dos diferentes ativadores, o objetivo dessas vias é a clivagem do C3 e do C5 para promover quimioatraentes e anafilotoxinas (C3a, C5a) e opsonina (C3b) que adere às membranas, e iniciar o complexo de ataque à membrana para matar as células. MASP, serina protease associada à MBP; MBP, proteína de ligação à manose.

(Redesenhado de Rosenthal KS, Tan JS; Rapid Review Microbiology and Immunology. St Louis, Mosby, 2002.)

Via Alternativa

A via alternativa é ativada diretamente pelas superfícies celulares bacterianas e seus componentes (p. ex., endotoxinas, polissacarídeos microbianos), bem como outros fatores. Esta via pode ser ativada antes do estabelecimento de uma resposta imune às bactérias infectantes porque não depende do anticorpo e não envolve os componentes iniciais do complemento (C1, C2 e C4). A ativação inicial da via alternativa é mediada pela ligação do *fator B da properdina* ao C3b e depois com o *fator D da properdina*, que divide o *fator B* no complexo, levando ao *fragmento ativo Bb* que permanece ligado ao *C3b (unidade de ativação)*. O C3b adere à superfície celular e ancora o complexo. O *Ba* inativo é liberado a partir do complexo, levando à clivagem e à ativação de muitas moléculas de C3 (amplificação). A cascata do complemento continua de um modo análogo ao da via clássica.

Via Clássica

A cascata clássica do complemento é iniciada pela *ligação à porção Fc do anticorpo que está ligada aos antígenos da superfície celular ou num complexo imune com antígenos solúveis*. A agregação do anticorpo (**IgG ou IgM, e não IgA ou IgE**) altera a estrutura da cadeia pesada para permitir a ligação ao complemento (Fig. 10-6).

O primeiro componente do complemento, designado *C1*, consiste num complexo de três proteínas separadas designadas *C1q, C1r e C1s* (Fig. 10-6). Uma molécula de C1q e outra de C1s com duas moléculas de C1r constituem o complexo C1 ou **unidade de reconhecimento**. O C1q facilita a ligação da unidade de reconhecimento aos complexos antígeno-anticorpo da superfície celular. A ativação da cascata clássica do complemento requer a ligação do C1q a dois anticorpos IgG através de suas regiões Fc. Por outro lado, uma única molécula pentamérica de IgM ligada a uma superfície celular pode interagir com o C1q para iniciar a via clássica. A ligação do C1q ativa o C1r (chamado agora *C1r**) e, por sua vez, o C1s (C1s*). O C1s* cliva então o *C4* em C4a e C4b e o *C2* em C2a e C2b. Por convenção, o fragmento b é maior (*bigger*) e ligado (*bound*) a alguma coisa. A capacidade de uma única unidade de reconhecimento de dividir várias moléculas de C2 e C4 representa um mecanismo de amplificação na cascata do complemento. A união de *C4b* e *C2b* produz **C4b2b**, conhecido como **C3 convertase**. Este complexo se liga à membrana celular e cliva *C3* nos fragmentos *C3a* e *C3b*. A proteína C3b possui uma única ligação tioéster que irá ligar covalentemente o C3b a uma superfície celular ou ser hidrolisado. A C3 convertase amplifica a resposta dividindo muitas moléculas de C3. A interação de C3b com o C4b2b ligado à membrana celular produz **C4b2b32b**, a chamada **C5 convertase**. A unidade de ativação divide *C5* nos fragmentos *C5a* e *C5b*, representando ainda outra etapa de amplificação.

Via da Lectina

A via da lectina também é um mecanismo de defesa bacteriano e fúngico. A **proteína de ligação à manose** (conhecida anteriormente como *RaRF*) é uma grande proteína sérica que se liga à manose não reduzida, fucose e glicosamina nas superfícies celulares bacterianas, fúngicas e outras. A proteína de ligação à manose lembra e substitui o componente C1q e ao se ligar às superfícies bacterianas ativa a clivagem da serina protease associada à proteína de ligação à manose. A serina protease associada à proteína de ligação à manose cliva os componentes C4 e C2 para produzir a C3 convertase, o ponto de junção da cascata do complemento.

Atividades Biológicas dos Componentes do Complemento

A clivagem dos componentes C3 e C5 produz fatores importantes que incrementam a depuração do agente infeccioso promovendo o acesso ao sítio da infecção e atraindo as células que medeiam as reações inflamatórias protetoras. O **Cb3** é uma **opsonina** que promove a depuração das bactérias se ligando diretamente à membrana celular para tornar a célula mais atraente para as células fagocíticas, tais como os neutrófilos e macrófagos, os quais possuem receptores para C3b. O C3b pode ser clivado subsequentemente para gerar **C3d**, que é um ativador dos linfócitos B. Os fragmentos **C3a** e **C5a** do complemento servem como **anafilotoxinas** poderosas que estimulam os mastócitos a liberarem histamina, a qual *aumenta a permeabilidade vascular e a contração da musculatura lisa*. O **C3a** e o **C5a** também agem como atraentes (**fatores quimiotáticos**) para os neutrófilos e macrófagos. Estas células também expressam receptores para C3b, são fagocíticas e promovem reações inflamatórias.

Complexo de Ataque à Membrana

O estágio final da via clássica envolve a criação do **complexo de ataque à membrana**, que também é chamado **unidade lítica** (Fig. 10-7). As cinco proteínas terminais do complemento (C5 a C9) se associam num complexo de ataque à membrana nas membranas das células-alvo para mediar a lesão. A montagem do complexo de ataque à membrana começa com a clivagem do C5 nos fragmentos C5a e C5b. Um complexo $(C5b,6,7,8)_1(C9)_n$ se forma e causa um buraco na membrana, levando à lise hipotônica das células. O componente C9 é similar à perforina, que é produzida pelas células T citolíticas e pelas células *natural killer*.

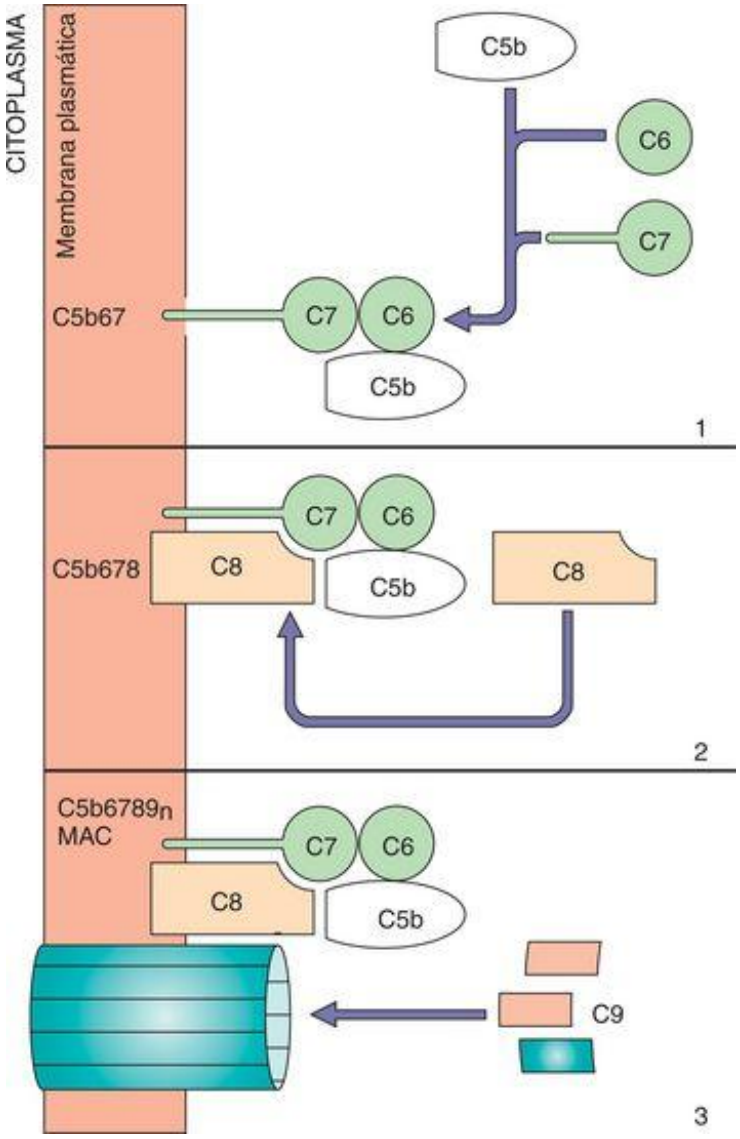


Figura 10-7 Lise celular pelo complemento. A ativação de C5 inicia a construção molecular de um complexo de ataque à membrana (MAC) semelhante a um poço de petróleo.

Regulação da Ativação do Complemento

Os seres humanos possuem vários mecanismos para impedir a geração da C3 convertase visando protegê-los contra a ativação inapropriada do complemento. Estes mecanismos incluem o inibidor de C1, a proteína de ligação a C4, o Fator H, o Fator I e as proteínas de superfície celular que são o fator de aceleração da decomposição (DAF) e a proteína cofator de membrana. Além disso, o CD59 (protectina) impede a formação do complexo de ataque à membrana. A maioria dos agentes infecciosos não possui esses mecanismos protetores e se mantém susceptível ao complemento. Uma deficiência genética nesses sistemas de proteção pode resultar em doença.

Questões

O que há de errado em cada uma das afirmações seguintes e por quê?

1. O laboratório testou um bebê para os anticorpos IgM maternos.

1. Móleculas de IgM são muito grandes para saírem do plasma e cruzarem a placenta.

2. Um pesquisador tentou usar fragmentos $F(ab')_2$ marcados com fluorescência para localizar moléculas classe II do complexo principal de histocompatibilidade na superfície celular das células apresentadoras de antígeno sem fazer a ligação cruzada (ligar duas moléculas entre si) nessas moléculas de superfície celular.

2. Moléculas de imunoglobulinas nativas e os fragmentos $F(ab')_2$ são divalentes ou multivalentes e podem se ligar a mais de uma superfície celular; isto fará uma ligação cruzada de superfícies celulares.

3. Um paciente é diagnosticado como infectado por uma cepa específica de influenza A (A/Bangkok/1/79/H3N2) com base na presença de IgG anti-influenza no soro colhida desse paciente na primeira consulta (com 2 dias de sintomas).

3. A IgG é somente produzida após aproximadamente 6 dias depois da primeira infecção e requer células T auxiliares. IgG poderia estar presente devido a uma infecção prévia. IgM é produzida na fase precoce da infecção como parte de uma resposta primária e é um bom indicador de infecção que esteja ocorrendo pela primeira vez.

4. Um paciente foi considerado incapaz de usar os sistemas complemento devido a uma deficiência de célula T, a qual eliminou a capacidade de promover a mudança de classe das células B.

4. Embora perforinas sejam produzidas por células T e sejam similares à C9, os componentes do complemento são sintetizados pelo fígado e outras células, assim deficiência em células T não deverá afetar os níveis de complemento. Além disso, IgM fixa complemento de forma muito eficiente e é produzida na ausência de células T.

5. A análise dos genes de imunoglobulina das células B extraídas do paciente descrito na afirmação 4 não continha sequências gênicas VDJ recombinadas da região variável.

5. A diferenciação da célula B requer recombinação da região variável VDJ, mas isso ocorre sem células T auxiliares.

6. Um paciente foi considerado portador de uma deficiência de célula B porque os níveis séricos de IgE e IgD foram indetectáveis, independente das concentrações apropriadas de IgG e IgM.

6. A porção Fc do gene da imunoglobulina produz imunoglobulinas da magnitude de IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. Seria improvável que a ausência de expressão em IgD pudesse ocorrer sem perda de todos os outros genes.

Bibliografia

Abbas AK, et al. Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., Philadelphia: Saunders, 2007.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease. Sunderland, Mass: Sinauer, 2007.

Janeway CA, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 6th ed., New York: Current Biology and Garland, 2004.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby Immunology, 6th ed., New York: WH Freeman, 2007.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed., Philadelphia: Saunders, 2005.

Sompayrac L. How the Immune System Works, 2nd ed, Malden, Mass: Blackwell Scientific, 2003.

Trends in Immunology: Issues contain understandable reviews on current topics in immunology.

11 Respostas Imunecelulares

Após um desafio antigênico, o drama da resposta imune se desdobra em vários atos. Os atores incluem células da resposta inata, entre elas neutrófilos, células da linhagem monócito-macrófago, células dendríticas imaturas (iDCs) e células dendríticas maduras (DCs), células *natural killer* (NK), os linfócitos T e B da resposta antígeno-específica, e outras células. Estas são distinguidas por suas estruturas externas, suas roupagens, que também definem seus papeis na resposta imunológica. O primeiro ato inicia no sítio da infecção e envolve as respostas inatas. Os neutrófilos e os macrófagos ativados atuam diretamente sobre a bactéria e a infecção. As células NK proporcionam as respostas iniciais à infecção e matam células infectadas por vírus e células tumorais. As células NK retornam no segundo ato para eliminar células marcadas com anticorpos (citotoxicidade celular dependente de anticorpo [ADCC]). As células dendríticas imaturas funcionam como uma ponte entre as respostas protetoras inatas e antígeno-específicas, pois primeiramente produzem as citocinas para incrementar a ação e depois levam a sua carga fagocitada e pinocitada para o linfonodo, sendo a única célula apresentadora de antígeno (APC) que pode **iniciar** uma resposta imunológica. O segundo ato inclui as respostas imunes adaptativas e começa no linfonodo, onde as DCs maduras apresentam o antígeno aos linfócitos T. O enredo dessa história pode prosseguir para reforçar as respostas locais no sítio inflamatório (TH1) ou iniciar as respostas humorais, sistêmicas (TH2), dependendo do diálogo de citocinas entre a DC e a célula T. As células T desempenham um papel central na ativação e no controle (auxílio) das respostas imunes e inflamatórias através da liberação de citocinas. No terceiro ato, o elenco de células T e linfócitos B que responde à infecção se expande para liberar respostas imunes antígeno-específicas, celulares e de anticorpos, se diferenciando terminalmente em células efetoras e plasmócitos. Os macrófagos e as células B refinam e fortalecem a direção da resposta como APCs. Certos membros do elenco de células B e T mantêm um perfil menos ativo e se tornam células de memória que são capazes de reencenar o drama mais rápida e eficientemente no futuro. Este Capítulo introduzirá o elenco de atores celulares, seus figurinos, o diálogo das citocinas e os papéis que eles desempenham no drama da resposta imune.

Células Dendríticas Imaturas e Células Dendríticas

As células dendríticas fazem a ponte entre as respostas inata e imune, e as citocinas que elas produzem determinam a natureza da resposta da célula T. **As células dendríticas imaturas (iDCs)** proporcionam um sistema de alerta inicial mediado por citocina que amadurecem em **células dendríticas**, que são as células apresentadoras de antígeno finais, as únicas células apresentadoras de antígenos que podem iniciar uma resposta de célula T antígeno-específica (Quadro 11-1). As DCs possuem tentáculos como um polvo (dendritos), uma superfície celular aderente para os antígenos, produzem citocinas e apresentam antígeno às células T e B.

Quadro 11-1 Células Dendríticas

Morfologia: semelhante a um polvo com tentáculos Atividades:

DC imatura:

No sangue e tecidos

Fagocitose e produção de citocina direciona as respostas TH1 ou TH2

DC madura:

Nos tecidos linfoides (regula positivamente moléculas MHC II e B7-1 e B7-2)

Nas áreas de célula T do linfonodo, processa e apresenta antígenos para iniciar a resposta de célula T

MHC I-peptídeo: células T CD8

CD1-glicolipídios: células T CD8

MHC II - peptídeo: células T CD4

Ativa células T *naïve* e determina a resposta através de citocinas específicas

DC folicular:

Nas áreas de células B dos tecidos linfoides (Fc e receptores de complemento CR1, CR2 e CR3, ausência de MHC II)

Apresentação de antígenos aderido à membrana para as células B.

As DCs precursoras de origem mieloide (incluindo os monócitos) ou linfoide circulam na corrente sanguínea e então se diferenciam em DCs imaturas no tecido. Algumas das várias DCs imaturas encontradas no tecido e no sangue são especializadas e incluem: (1) **Células de Langerhans** na pele; (2) **Células intersticiais da derme**; (3) **Células interdigitantes** (no linfonodo e no baço); e (4) **DCs esplênicas marginais**; mas as DCs também estão presentes n o **fígado, timo, centros germinativos dos linfonodos**, e **sangue**. **Essas células apresentam antígenos às células T** nas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) I e II. As **DCs foliculares** (FDC) presentes no linfonodo e no baço são diferentes. As FDCs não exibem moléculas MHC II, mas possuem superfícies celulares adesivas, que capturam o antígeno (através de lectinas e outras moléculas) para apresentá-lo às células B.

As DCs imaturas detectam a presença de microrganismos e liberam citocinas, que determinam se a resposta imune subsequente irá se desenvolver em um tipo TH1 ou TH2, dependendo da natureza dos sinais ativadores. Estas células expressam diferentes combinações de sensores microbianos da família de proteínas dos **receptores *Toll-like* (TLRs)**, bem como outros receptores. Os TLRs incluem 10 diferentes proteínas de superfície celular e intracelulares que detectam a presença da infecção microbiana através da ligação a padrões característicos nas moléculas da face externa das bactérias, fungos e vírus, e mesmo as formas de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA) desses microrganismos, chamadas **padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs)** (Tab.

11-1). Esses padrões estão presentes no componente endotoxina do lipopolissacarídeo (LPS) e no ácido teicoico, glicanos fúngicos, unidades não metiladas de citosina-guanosina do DNA (CpG ODN) comumente encontrados em bactérias, RNA bifilamentar produzido durante a replicação de alguns vírus, e outras moléculas. A ativação do TLR desencadeia uma das duas cascatas de proteínas cinase e outras respostas que resultam na ativação da célula e na produção de citocinas específicas. Os sensores citoplasmáticos de peptidoglicano bacteriano incluem NOD1, NOD2 e criopirina.

Tabela 11-1 Receptores de Padrões Associados a Patógenos

Tabela 11-1. Receptores de Padrões Associados a Patógenos

Receptor Toll-Like*	Tipos de Célula†	Ativadores Microbianos	Ligantes
TLR1	MDTBcG	Bactérias, micobactérias *Neisseria meningitidis*	Lipopeptídios Fatores solúveis
TLR2	MDG	Bactérias Fungos Células	LPS, LTA, PGN etc. Zimosan Células necróticas
TLR3	MDT	Vírus	RNA bifilamentar
TLR4	MDTGBc	Bactérias Vírus	LPS, LTA RSV, glicoproteínas do HCV
TLR5	MDG	Bactérias	Flagelina
TLR6	MDBc	Bactérias Fungos	LTA, lipopeptídeos, zimosan
TLR7	MDBc	Vírus	RNA unifilamentar Imidazoquinolinas
TLR8	MD	Vírus	RNA unifilamentar Imidazoquinolinas
TLR9	MDBc	Bactérias Vírus	DNA não metilado (CpG)
NOD1	MD	Bactérias	Peptidoglicano
NOD2	MD	Bactérias	Peptidoglicano
Criopirina	MD	Bactérias	Peptidoglicano

Ativadores: CMV, Citomegalovírus; dsRNA, RNA bifilamentar; Gram +/−, bactérias Gram positivas e Gram negativas; HCV, vírus da hepatite C; LPS, lipopolissacarídeo; LTA, ácido lipoteicoico; PGN, peptidoglicano; RSV, vírus sincicial respiratório; NOD, domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeo.
**Informações sobre receptores Toll-like, de: Takeda A, Kaisho T, Akira S: Annu Rev Immunol 21:335-376, 2003; Akira S, Takeda K: Nat Rev Immunol 4:499-511, 2003.*
†Tipos celulares: Bc, célula B; D, célula dendrítica; G, granulócito; M, macrófago; T, célula T.

As iDCs estão constantemente adquirindo material antigênico por macropinocitose, pinocitose ou fagocitose de células apoptóticas, resíduos e proteínas no tecido normal e no sítio de infecção ou tumor. Entretanto, sob ativação por uma cascata de TLR em resposta à infecção, a iDC amadurece em uma DC, e seu papel se modifica. A DC perde sua capacidade de fagocitar, impedindo que ela adquira material antigênico irrelevante que não seja resíduo microbiano, e prossegue para o linfonodo. Como uma analogia, a DC imatura se assemelha a um mexilhão, examinando constantemente seu ambiente, filtrando e ingerindo resíduos celulares e microbianos (quando presentes), mas quando avisado por um sinal do TLR de que microrganismos estão presentes, ele libera um alarme na forma de uma citocina local, fecha sua concha e se move para o linfonodo para desencadear uma resposta ao desafio. A DC madura se move para as áreas de célula T dos linfonodos e regula positivamente suas moléculas de superfície celular para apresentação de antígeno (moléculas MHC classe II, e moléculas B7-1 e B7-2 [coestimulatórias]). As DCs maduras ativadas por microrganismos liberam citocinas (p. ex., IL-12), que ativam as respostas para reforçar as defesas locais do hospedeiro (respostas TH1). As DCs apresentam material antigênico ligado a moléculas MHC classe I e CD1 a células T CD8 e NKT, e nas moléculas MHC classe II a células T CD4. As DCs são tão eficazes na apresentação de antígeno, que 10 células carregadas com antígenos são

suficientes para iniciar uma imunidade protetora contra um desafio bacteriano letal em um camundongo.

Células da Linhagem Monócito-Macrófago

Os **monócitos** são células mieloides que se desenvolvem a partir da mesma linhagem que os granulócitos polimorfonucleares. Os monócitos amadurecem em diferentes tipos de **macrófagos**, em outras células da linhagem de macrófagos, e em células dendríticas, que diferem em função e localização tecidual. Os marcadores de superfície nos monócitos-macrófagos correspondem às funções celulares. Estas células expressam as seguintes proteínas:

1. **Receptores de opsoninas** (p. ex., receptores para Fc de imunoglobulinas [Fc-γ RI, Fc-γ RII, Fc-γ RIII] e **receptores de complemento** [CR1, CR3])

2. **Lectinas** (proteínas específicas de ligação a açúcares, como receptores de manosil-fucosil)

3. **Receptores *Toll-like***, que reconhecem **padrões moleculares associados ao patógeno** fornecendo sinais para ativação celular

4. Um **receptor para proteína de ligação ao lipopolissacarídeo (CD14)** para facilitar a captação bacteriana e promover a ativação

5. Moléculas de adesão para promover as interações célula-célula; por exemplo, antígeno associado à função do leucócito (LFA-1)

6. As proteínas MHC classe II para permitir **apresentação de antígeno** a células T e os correceptores B7 e CD40 para ativação

A ligação e a ingestão de microrganismos por monócitos e macrófagos promovem a liberação de interleucina-1 (IL-1), IL-12 e fator de necrose tumoral (TNF), que iniciam as reações inflamatórias. O interferon-γ (IFN-γ), fabricado por células NK ou células T, ativa o mecanismo de morte no macrófago (macrófago ativado irritado) e a produção de mais IL-12, o que reforça as respostas imunes TH1 CD4. A apresentação, pelo macrófago, de peptídeos antigênicos nas moléculas MHC II e a ligação de suas moléculas CD40 ao CD40L nas células TH1 CD4 promove a produção de IFN-γ para continuar a ativação do macrófago. Os **macrófagos ativados** reforçam as reações inflamatórias locais produzindo várias quimiocinas para atrair neutrófilos, DCs imaturas, células NK e células T ativadas. A ativação dos macrófagos torna-os matadores mais eficientes de microrganismos fagocitados, células infectadas por vírus e células tumorais. Os macrófagos ativados por IL-4 e IL-13 sustentam as respostas antiparasitárias TH2. A estimulação contínua dos macrófagos pelas células T, como no caso de uma infecção micobacteriana não resolvida, promove a fusão de macrófagos em **células gigantes multinucleadas** e grandes macrófagos chamados **células epitelioides** que circundam a infecção e formam um **granuloma**.

Células *Natural Killer*

As **células NK** constituem uma parte importante do sistema imune natural (inato). As células NK proporcionam uma resposta celular precoce a uma infecção viral, possuem atividade antitumoral e amplificam as reações inflamatórias após uma infecção bacteriana. As células NK também são responsáveis pela **ADCC**, na qual se ligam e matam células revestidas por anticorpos.

As células NK são linfócitos granulares grandes (LGLs) que compartilham muitas características com as células T, exceto o mecanismo de reconhecimento da célula-alvo. As células NK são estimuladas por (1) IFN-α e IFN-β (produzidos no início da resposta a infecções virais e outras); (2) TNF-α; (3) IL-12, IL-15 e IL-18 (produzidas por pré-DCs e macrófagos ativados); e (4) IL-2 (produzida por células TH1 CD4). As células NK expressam muitos dos mesmos marcadores de superfície celular que as células T (p. ex., CD2, CD7, receptor de IL-2 [IL-2R], e **FasL** [ligante de Fas]), mas também o **receptor Fc para IgG (CD16)**, receptores de complemento para ADCC e receptores de inibição e de ativação específicos da célula NK (incluindo os receptores tipo imunoglobulina da célula NK [KIR]). As células NK ativadas produzem IFN-γ, IL-1 e fator estimulador de colônia granulócito-macrófago (GM-CSF). Essas citocinas reforçam as respostas protetoras iniciais locais (TH1) incrementando a produção de IL-12 por pré-DCs e macrófagos ativados. Os grânulos em uma célula NK contêm **perforina**, uma proteína formadora de poros, e **granzimas** (esterases), que são semelhantes ao conteúdo dos grânulos de um linfócito T citotóxico CD8 (CTL). Essas moléculas promovem a morte da célula-alvo.

Ao contrário das células T, as células NK não expressam um TCR ou CD3 e não podem sintetizar IL-2. Elas também não reconhecem um antígeno específico e nem necessitam da apresentação de antígeno por moléculas MHC. O sistema NK não envolve memória ou requer sensibilização e não pode ser estimulado por imunização específica.

A célula NK vê cada célula como uma vítima em potencial, especialmente aquelas que aparecem sob estresse, a menos que receba um sinal inibidor por parte da célula-alvo. As células NK interagem intimamente com a célula-alvo se ligando a carboidratos e proteínas de superfície na membrana da célula. A interação de uma molécula MHC classe I na célula-alvo com um **receptor inibidor** KIR atua como a comunicação de uma senha secreta, indicando que está tudo normal, proporcionando um sinal inibidor que impede a célula NK de matar a célula-alvo. Células infectadas por vírus, como células tumorais, expressam "receptores relacionados ao estresse" e são frequentemente deficientes em moléculas MHC I e se tornam alvos para a célula NK. A ligação da célula NK a células-alvo recobertas com anticorpos (ADCC) também inicia a morte, mas isso não é controlado por um sinal inibidor. Os **mecanismos de morte** são semelhantes aos dos CTLs. Uma sinapse (bolso) é formada entre a célula NK e a célula-alvo, e **perforina e granzimas** são liberadas para romper a célula-alvo e induzir a apoptose. Além disso, a interação de **FasL** na célula NK com a proteína **Fas** na célula-alvo pode também induzir a apoptose. (Veja a discussão de células T CD8 mais adiante neste capítulo).

Células T

As células T são os diretores e também desempenham um papel central no drama da resposta imune. As células T foram inicialmente distinguidas das células B com base em sua capacidade de se ligar a hemácias de carneiro através da molécula CD2 e formar roseta. Essas células se comunicam através de interações diretas célula-célula e com citocinas. As células T são definidas através do uso de anticorpos que distinguem suas moléculas de superfície celular. As proteínas de superfície celular da célula T incluem: (1) **o receptor de célula T (TCR)**; (2) os correceptores CD4 e CD8; (3) proteínas acessórias que promovem o reconhecimento e a ativação; (4) receptores de citocina; e (5) proteínas de adesão. Todas essas proteínas determinam os tipos de interações célula-célula para o linfócito T e portanto as funções da célula.

O Desenvolvimento das Células T

Os precursores da célula T se desenvolvem em células T no timo (Fig. 11-1; Quadro 11-2). O contato com o epitélio tímico e hormônios como timosina, timulina e timopoietina II no timo promove uma extensa proliferação e diferenciação das populações de células T do indivíduo durante o desenvolvimento fetal. Enquanto os precursores das células T estão no timo, eventos genéticos semelhantes aos que ocorrem para as imunoglobulinas geram numerosos TCRs, cada um expresso em um clone diferente de célula T. As células T que não podem interagir com moléculas MHC não crescem, e aquelas que reagem com o próprio hospedeiro (autorreativas) são forçadas a cometer suicídio (apoptose). As células T remanescentes se diferenciam nas subpopulações de células T. As células T podem ser distinguidas pelo tipo de receptor antigênico de célula T, quer consistindo em **cadeias** γ **e** δ, quer consistindo em **cadeias** α **e** β, e também, para as células T α/β, pela presença dos **correceptores CD4** ou **CD8**. As células T podem ser ainda distinguidas pelas citocinas que produzem.

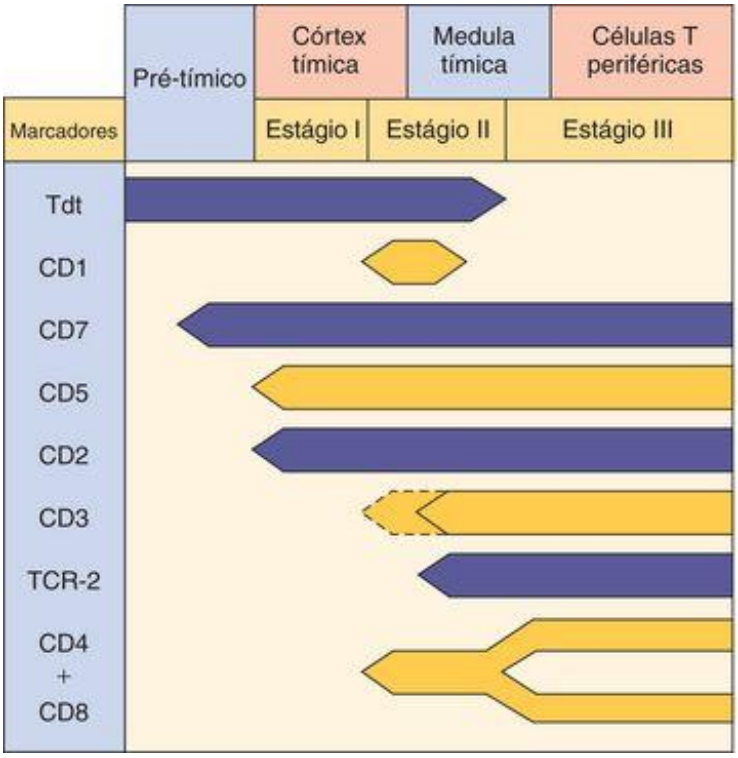


Figura 11-1 Desenvolvimento da célula T humana. Os marcadores de célula T são úteis para a identificação dos estágios de diferenciação da célula T e para a caracterização das leucemias e dos linfomas de células T. Tdt, desoxinucleotidil transferase citoplasmática terminal.

Quadro 11-2 Células T

Células T γ/δ:

- TCR γ/δ reativo a metabólitos microbianos
- Respostas locais: residentes no sangue e tecidos
- Respostas mais rápidas do que as das células T α/β
- Produzem IFN-γ; ativam DCs e macrófagos

Células T α/β:

- **CD4:** TCR α/β reativo com peptídeos apresentados pela APC no MHC II
- Ativada nos linfonodos, prossegue então para o tecido

Citocinas ativam e direcionam a resposta imune (TH1, TH2, TH17)
Citotóxicas através de interações Fas-ligante de Fas

Células Treg CD4 CD25:

Controlam e limitam a expansão da resposta imune; promovem o desenvolvimento de tolerância e de células de memória.

Células TH17 CD4: células produtoras de IL-17 que reforçam as respostas inflamatórias, especialmente em ambientes imunossupressores como os olhos

CD8: TCR α/β reativo com peptídeos apresentados no MHC I
Ativadas nos linfonodos, prosseguem então para o tecido
Produzem citocinas semelhantes às das células CD4
Citotóxicas através da perforina e das granzimas, e da indução da apoptose pela interação Fas-ligante de Fas

Células NKT: TCR α/β reativo com glicolipídios (micobactérias) em moléculas CD1
Matam células tumorais e infectadas com vírus de forma semelhante às células NK
Proporcionam suporte inicial para as respostas antibacterianas

As células T que expressam **TCR** γ/δ estão presentes no sangue, epitélio mucoso e outros tecidos e são importantes para estimular a imunidade inata e das mucosas. Essas células correspondem a 5% dos linfócitos circulantes, mas chegam de 20% a 60% das células T durante certas infecções bacterianas e de outros tipos. O TCR γ/δ detecta metabólitos microbianos incomuns e inicia as respostas imunemediadas por citocina.

O **TCR** α/β é expresso na maioria das células T, e essas células são principalmente responsáveis pelas respostas imunes ativadas pelo antígeno. As células T com TCR α/β são ainda distinguidas pela expressão de uma molécula CD4 ou CD8.

As células T auxiliares (**CD4**) ativam e controlam as respostas imunes e inflamatórias através de interações específicas célula-célula liberando citocinas (mensageiros solúveis). As células T auxiliares interagem com peptídeos antigênicos apresentados em moléculas MHC classe II expressas nas APCs (DCs, macrófagos e células B) (Fig. 11-2). O vocabulário de citocinas secretadas por uma célula T CD4 específica, em resposta a um desafio antigênico, define o tipo dessa célula T CD4. As células **TH0** respondem ao antígeno e podem ser convertidas tanto em células TH1 quanto em células TH2, dependendo das citocinas produzidas pelas células apresentadoras de antígeno. As **células TH1** promovem respostas inflamatórias, que são especialmente importantes para o controle de infecções intracelulares (micobacterianas e virais) e fúngicas, favorecendo a produção de certos subtipos de anticorpos IgG. As **células TH2** promovem as respostas de anticorpo. Um subtipo **TH3** também foi descrito; ele ajuda a promover a produção de imunoglobulina (Ig) A. As células **TH17** secretam IL-17 e IL-23 em resposta à infecção bacteriana para promover inflamação. As células T reguladoras (**Treg**) expressam CD4 e CD25, impedindo a falsa ativação das células T, controlando a resposta imune. As respostas TH1 e TH2 são antagonistas, e as respostas TH3 suprimem as respostas TH1 e TH2.

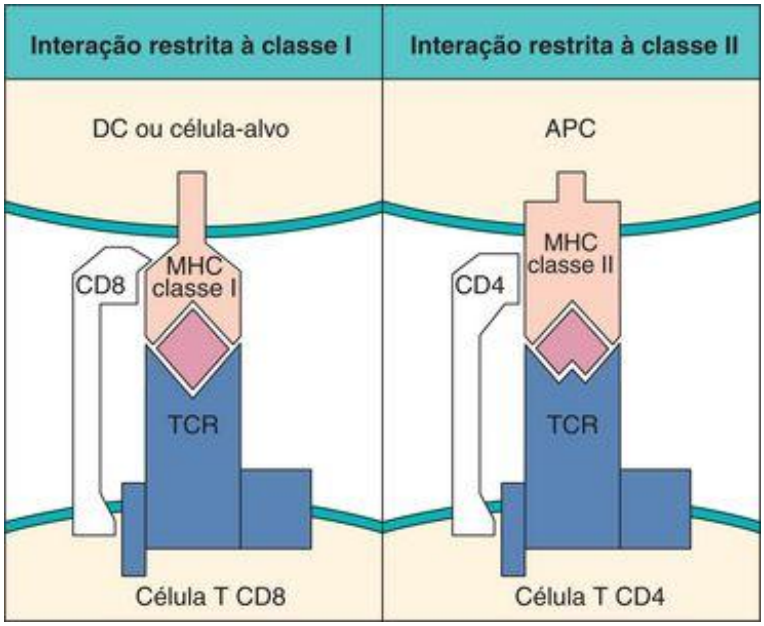


Figura 11-2 Restrição do MHC e apresentação de antígeno às células T. *Esquerda*, peptídeos antigênicos ligados a moléculas MHC classe I são apresentados ao receptor de célula T (TCR) nas células T CD8 *killer*/supressoras. *Direita*, peptídeos antigênicos ligados a moléculas MHC classe II na célula apresentadora de antígeno (APC) (célula B, célula dendrítica ou macrófago) são apresentados a células T auxiliares CD4 e células T da hipersensibilidade do tipo tardio.

As células T **CD8** são classificadas como células T citolíticas e supressoras, mas podem produzir citocinas do mesmo modo que as células CD4. As células T CD8 ativadas "patrulham" o organismo em busca de células infectadas por vírus ou tumorais, que são identificadas por peptídeos antigênicos apresentados por moléculas MHC classe I. As moléculas MHC classe I são encontradas em todas as células nucleadas.

Receptores de Superfície Celular das Células T

O **complexo TCR** é uma combinação da estrutura de reconhecimento antigênico (TCR) e do maquinário de ativação celular (**CD3**) (Fig. 11-3). A especificidade do TCR determina a resposta antigênica da célula T. Cada molécula de TCR é constituída por 2 cadeias polipeptídicas diferentes. A exemplo do que ocorre com o anticorpo (como descrito no Capítulo 12), cada cadeia de TCR possui uma região constante e uma região variável. O repertório dos TCRs é muito grande e pode identificar um número espantoso de especificidades antigênicas (estima-se que seja capaz de reconhecer 10^{15} epítopos diferentes). Os mecanismos genéticos de desenvolvimento dessa diversidade também são semelhantes àqueles vistos nos anticorpos (Fig. 11-4). O gene do TCR é constituído por múltiplos segmentos V (V_1, V_2, V_3 ... V_n), D e J. Nos estágios iniciais de desenvolvimento da célula T, um segmento V em particular se recombina geneticamente com um ou mais segmentos D, deletando segmentos V e D intervenientes, se recombinando com um segmento J para formar um gene de TCR único. Assim como no anticorpo, a inserção aleatória de nucleotídeos nas junções de recombinação aumenta o potencial da diversidade e a possibilidade de produção de TCRs inativos. Apenas as células com TCRs funcionais sobreviverão. Cada clone de célula T expressa um TCR único.

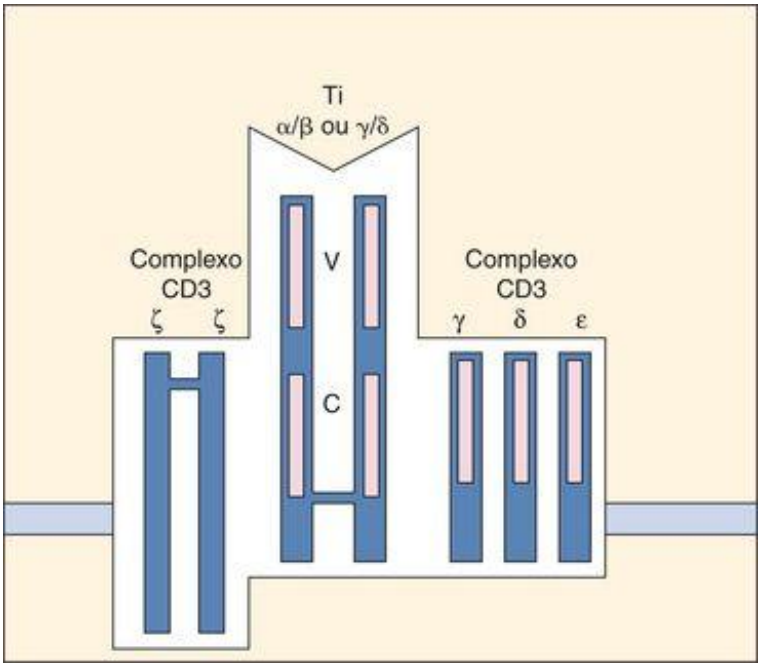


Figura 11-3 Receptor de célula T (TCR). O TCR consiste em diferentes subunidades. O reconhecimento antigênico ocorre através das subunidades α/β ou γ/δ. O complexo CD3 de subunidades γ, δ, ε e ζ promove a ativação da célula T. C, região constante; V, região variável.

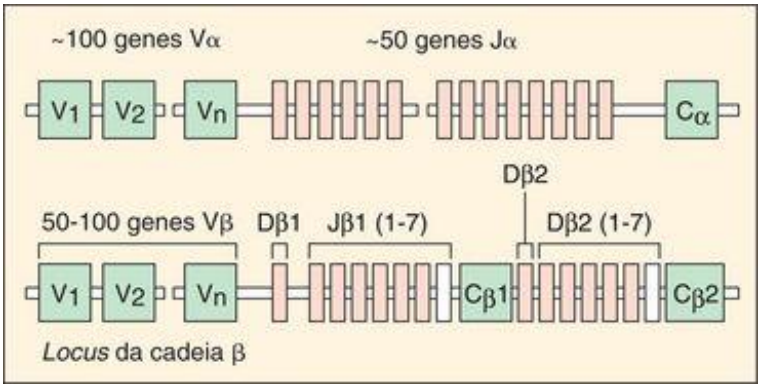


Figura 11-4 Estrutura do gene do receptor de célula T (TCR) embrionário. Observe a semelhança na estrutura com os genes das imunoglobulinas. A recombinação desses segmentos também gera um repertório de reconhecimento diferente.

O **complexo CD3** é encontrado em todas as células T e consiste nas cadeias polipeptídicas γ, δ, ε e ζ. O complexo CD3 é a **unidade de transdução do sinal** para o TCR. As **proteínas tiro sina-quinases** (ZAP70, Lck) se associam ao complexo CD3 quando o antígeno está ligado ao complexo TCR, promovendo uma cascata de fosforilações de proteínas, ativação da fosfolipase C (PLC) e outros eventos. Os produtos da clivagem do trifosfato de inositol pela PLC causam a liberação do cálcio e ativam a proteína cinase C e a **calcineurina**, uma proteína-fosfatase. A calcineurina é um alvo para as drogas imunossupressoras ciclosporina e tacrolimus. A ativação de proteínas G de membrana como Ras e as consequências das cascatas descritas previamente resultam na ativação de fatores de transcrição específicos no núcleo, na ativação da célula T e na produção de IL-2 e seu receptor, IL-2R. Essas etapas estão esquematizadas na Figura 11-5.

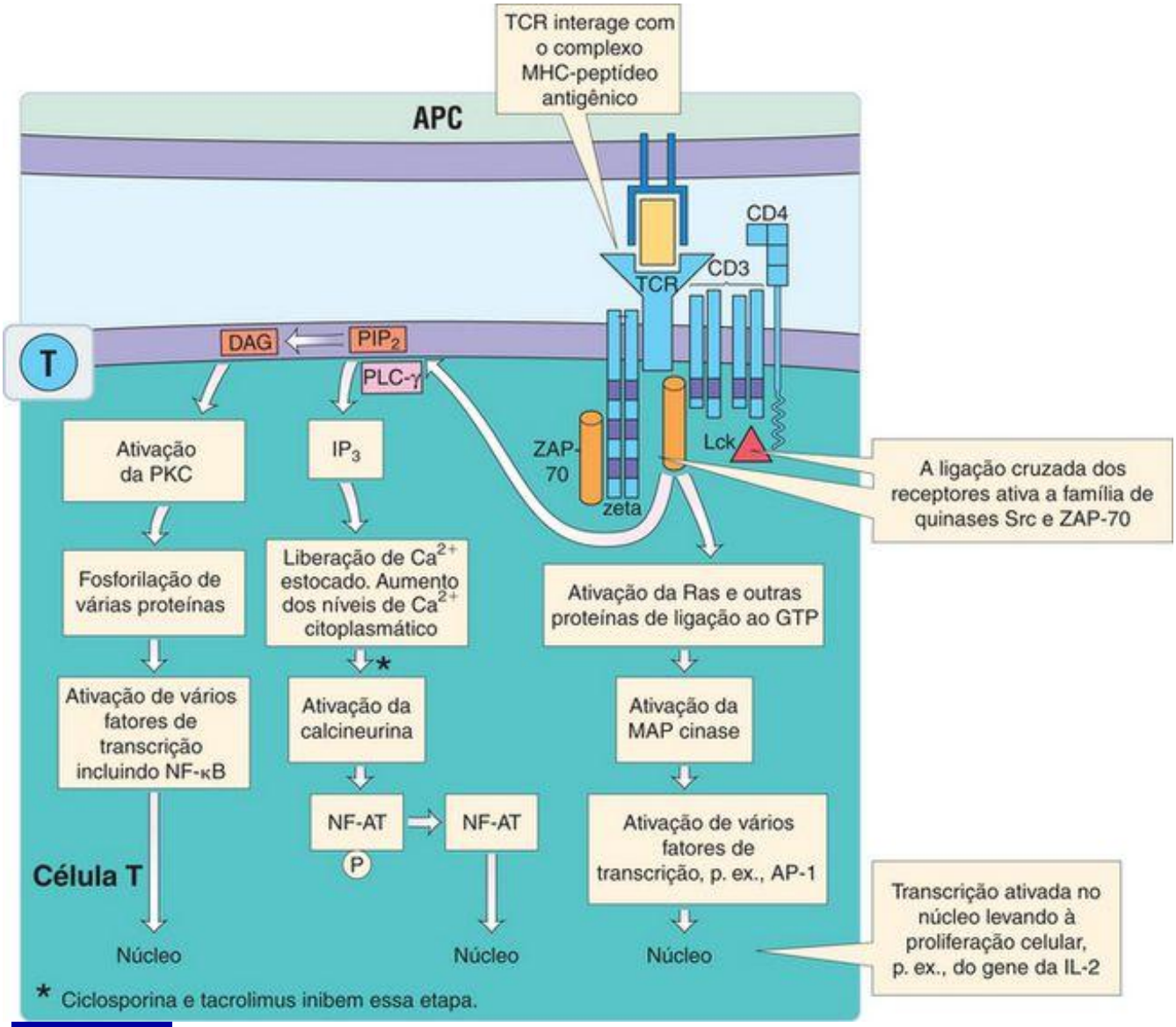


Figura 11-5 Vias de ativação das células T. A ligação do complexo MHC II - peptídeo ao CD4 e ao TCR ativa as cascatas de cinase e a fosfolipase C para ativar o NF-AT, NF-κβ, AP-1 e outros fatores de transcrição. DAG, diacilglicerol; PIP2, fosfatidil inositol 4,5-bifosfato; IP3, inositol 1,4,5-trifosfato; PLC-γ, fosfolipase C gama; MAP cinase, proteína cinase ativada por mitógeno; NF-AT, fator nucelar de células T ativadas; NF-κB, fator nuclear kappa B; AP-1, Proteína de ativação 1.

(Modificado de Nairn R, Helbert M: Immunology for Medical Students, end ed. Philadelphia, Mosby, 2007.)

As **proteínas CD4** e **CD8** são correceptores para o TCR porque facilitam a interação do TCR com a molécula MHC apresentadora do antígeno e podem acentuar a resposta de ativação. O CD4 se liga a moléculas MHC classe II na superfície das APCs. A molécula CD8 se liga a moléculas MHC classe I na superfície da célula-alvo. As moléculas classe I são expressas em todas as células nucleadas (veja mais sobre o MHC adiante neste capítulo). As caudas citoplasmáticas de CD4 e CD8 se associam a uma proteína tirosina-cinase ($p56^{Lck}$), que acentua a ativação celular induzida pelo TCR, ao se ligar à APC ou à célula-alvo. CD4 ou CD8 são encontradas em células T α/β, mas não em células T γ/δ.

As **moléculas acessórias** expressas na célula T incluem vários receptores de proteína na superfície celular, que interagem com as proteínas nas APCs e nas células-alvo, levando à ativação da célula T, promovendo interações mais firmes entre as células, ou facilitando a morte da célula-alvo. Essas moléculas acessórias são as seguintes:

1. **CD45RA (células T nativas)** ou **CD45RO (células T de memória)**, uma proteína tirosino-fosfatase (PTP) transmembrana.

2. **CD28** ou proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico (**CTLA-4**) (nas células T ativadas), que se liga à proteína B7 nas APCs para liberar um sinal coestimulador ou inibidor para a célula T.

3. **CD154** (**CD40L**), que está presente em todas as células T e promove a ativação ao se ligar com CD40 nas DCs, macrófagos e células B.

4. **FasL**, que inicia a apoptose em uma célula-alvo que expressa **Fas** em sua superfície celular.

As **moléculas de adesão** estreitam a interação da célula T com a APC ou célula-alvo podendo também promover ativação. As moléculas de adesão incluem **LFA-1**, que interage com as **moléculas de adesão intercelular** (**ICAM-1, ICAM-2** e **ICAM-3**) na célula-alvo. O **CD2** foi originalmente identificado por sua capacidade de se ligar a hemácias de carneiro (**receptores de eritrócitos**). O CD2 se liga à LFA-3 na célula-alvo e promove a adesão célula-célula e a ativação da célula T. Os **antígenos muito tardios** (**VLA-4** e **VLA-5**) são expressos em células ativadas mais tardiamente na resposta e se ligam à fibronectina nas células-alvo para acentuar a interação.

As células T expressam receptores para muitas citocinas que ativam e regulam a função da célula T (Tab. 11-2). Os **receptores de citocina** ativam as cascatas de proteína-cinase ao se ligarem com a citocina, para liberar seu sinal para o núcleo. **O receptor de IL-2** (**IL-2R**) é composto de três subunidades. As subunidades β/γ estão presentes na maioria das células T (e também nas células NK) e possuem afinidade intermediária pela IL-2. A subunidade α (**CD25**) é induzida pela ativação celular (um marcador de ativação) para formar um IL-2R α/β/γ de alta afinidade. A ligação da IL-2 ao IL-2R inicia um sinal de estimulação do crescimento para a célula T, que também promove a produção de mais IL-2 e IL-2R. O CD25 também é expresso na subpopulação Treg das células T CD4 (CD4+ CD25+) que regula e suprime a resposta imune.

Tabela 11-2 Citocinas que Modulam a Função da Célula T

Citocina	Origem	Ação
IL-1	APC	Ativação
IL-2	TH1 CD4	Crescimento
IL-4	TH2 CD4	Crescimento e foco em TH2
IL-6	DC etc.	Derruba a supressão pela Treg
IL-10	TH2, Treg	Suprime TH1
IL-12	DC, macrófago	Promove TH1
IL-23	DC	Promove TH17
TGF-β	Treg etc.	Suprime TH1, TH2, promove TH17

Apresentação de Antígeno às Células T

A ativação de uma resposta da célula T antígeno-específica requer uma combinação de interações dos receptores de citocina e célula-célula (Tab. 11-3). Ao contrário da imunoglobulina de superfície celular na célula B, que detecta ("prova" ou "cheira") a presença de moléculas estranhas solúveis que passam em frente à célula, o TCR na célula T deve ser apresentado a um epítopo relevante, que é clivado da proteína e incrustado em um suporte molecular na superfície de uma APC, permitindo que a célula T "toque" e responda a ele. As moléculas **MHC classe I** e **II** constituem o suporte molecular para o peptídeo. A molécula **CD8** nas células T citolíticas supressoras se liga e promove a interação com as moléculas MHC classe I nas células-alvo. A molécula **CD4** nas células T auxiliares DTH se liga e promove interações com as moléculas MHC classe II nas APCs. As moléculas MHC são codificadas nos *loci* gênicos que compreendem o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (Fig. 11-6). O MHC contém um grupo de genes importantes para a resposta imune.

Tabela 11-3 Respostas antígeno-específicas das células T

Ativação de Células T *Naïve* por APC		
A Ativação da Célula T Requer Interações entre Antígeno, Correceptor e Citocina		
DC	*Célula T CD4*	*Função*
Complexo peptídeo-MHC II	TCR/CD4	Especificidade do antígeno
B7	CD28 ou CTLA4	Ativação ou supressão
IL-1	IL-1R	Ativação
IL-6	IL-6R	Supera a tolerância induzida por Treg
Ativação da APC pela Célula T		
Apresentação de Antígeno das APCs Acentuada, Atividade Antimicrobiana dos Macrófagos Acentuada, e Mudança de Classe da Produção de Imunoglobulina pela Célula B Requer Interações entre Antígeno, Correceptor e Citocina		
DC, macrófago ou célula B	*Célula T CD4*	*Função*
Complexo peptídeo-MHC II	TCR/CD4	Especificidade do antígeno
B7-1, B7-2	CD28	Ativação da célula T
CD40	CD40L	Ativação de outras funções na APC
IL-12		Ativação/reforço das respostas TH1
IFN-γ		Ativação de macrófagos e mudança de classe da célula B
IL-4		Funções TH2: crescimento e mudança de classe da célula B
IL-5		Funções TH2: mudança de classe da célula B

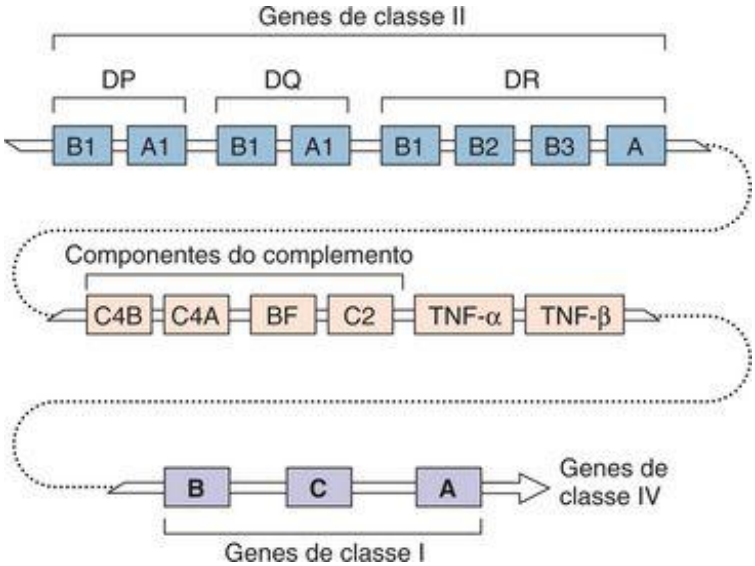


Figura 11-6 Mapa genético do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Os genes das moléculas classe I e classe II, como de componentes do complemento e do fator de

necrose tumoral (TNF) se encontram dentro do complexo de genes do MHC.

As **moléculas MHC classe I** são encontradas em todas as células nucleadas e são os determinantes principais de "próprio" (*self*). A molécula MHC (designada como **HLA** no homem e H-2 no camundongo) classe I consiste de duas cadeias: uma **cadeia pesada variável** e uma **cadeia leve (β_2-microglobulina**) (Fig. 11-7). As diferenças na cadeia pesada da molécula HLA entre os indivíduos (*diferenças alotípicas*) desencadeiam uma resposta da célula T que impede o transplante de órgãos (tecidos). Existem 3 genes principais de HLA classe I: HLA-A, HLA-B e HLA-C e outros genes HLA secundários. Cada célula expressa um par de diferentes proteínas **HLA-A, HLA-B** e **HLA-C**, cada uma herdada de cada um dos pais. *A cadeia pesada da molécula HLA classe I forma uma fenda com extremidades fechadas, como o bolso de um pão sírio, que segura um peptídeo de oito ou nove aminoácidos*. A molécula MHC classe I apresenta peptídeos antigênicos originados no interior da célula (**endógenos**) a células T que expressam CD8. A regulação positiva de moléculas MHC classe I torna a célula um alvo melhor para a ação da célula T. Algumas células (cérebro) e algumas infecções virais (vírus do herpes simples, citomegalovírus) regulam negativamente a expressão de moléculas MHC I para reduzir seu potencial como alvos para as células T.

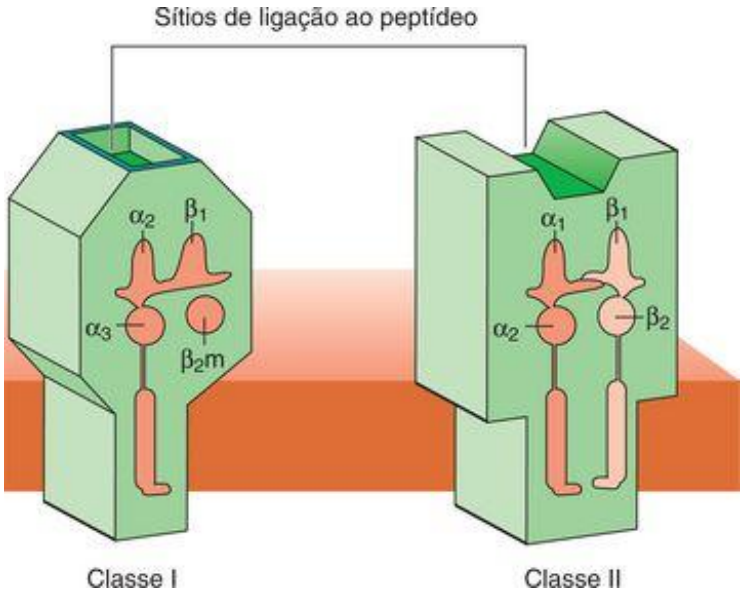


Figura 11-7 Estrutura das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I e classe II. As moléculas MHC classe I consistem em duas subunidades, a cadeia pesada e a β_2-microglobulina. A fenda de ligação é fechada nas extremidades e pode abrigar apenas peptídeos de oito a nove aminoácidos. As moléculas MHC classe II consistem em duas subunidades, α e β, e acomodam peptídeos de 11 ou mais aminoácidos.

As moléculas MHC classe II são normalmente expressas em células apresentadoras de antígeno, células que interagem com linfócitos T CD4 (p. ex., macrófagos, células dendríticas, células B). As moléculas MHC classe II são codificadas pelos *loci* **DP, DQ** e **DR**. As moléculas MHC classe II são um dímero de **subunidades** α **e** β (Fig. 11-7). *Ambas as cadeias da molécula MHC classe II formam uma fenda de ligação ao peptídeo aberta nas extremidades, que lembra um pão de cachorro quente e abriga um peptídeo de 11 a 12 aminoácidos*. A molécula MHC classe II apresenta peptídeos antigênicos ingeridos (**exógenos**) a células T que expressam CD4.

As moléculas MHC CD1 lembram moléculas MHC I, possuem uma cadeia pesada e uma cadeia leve (β_2-microglobulina), mas ligam glicolipídios em vez de peptídeos. As moléculas CD1 são expressas primariamente em DCs e apresentam antígeno para o TCR em células T CD8 ou NKT ($CD4^-$ $CD8^-$). As moléculas CD1 são especialmente importantes para a defesa contra infecções micobacterianas.

Apresentação de Peptídeos por Moléculas MHC Classe I e Classe II

Ao contrário dos anticorpos, que podem reconhecer epítopos conformacionais, os peptídeos antigênicos para as células T devem ser epítopos lineares. Um antígeno para a célula T deve ser um peptídeo de 8 a 12 aminoácidos com um esqueleto hidrofóbico que se liga à fenda molecular da molécula MHC classe I ou classe II e expõe um epítopo para célula T ao TCR. Devido a essas restrições, pode haver apenas um peptídeo antigênico para célula T em uma proteína. Todas as células nucleadas processam proteoliticamente um conjunto de proteínas intracelulares e exibem os peptídeos para as células T CD8 (**via endógena de apresentação de antígeno**) para distinguirem "próprio", "não próprio" (*nonself*), e a presença de infecções intracelulares, enquanto as APCs processam e apresentam proteínas fagocitadas para células T CD4 (**via exógena de apresentação de antígeno**) (Fig. 11-8). As células dendríticas podem cruzar essas vias (**apresentação cruzada**) para apresentar antígenos exógenos para células T CD8 para iniciar respostas antivirais e antitumorais.

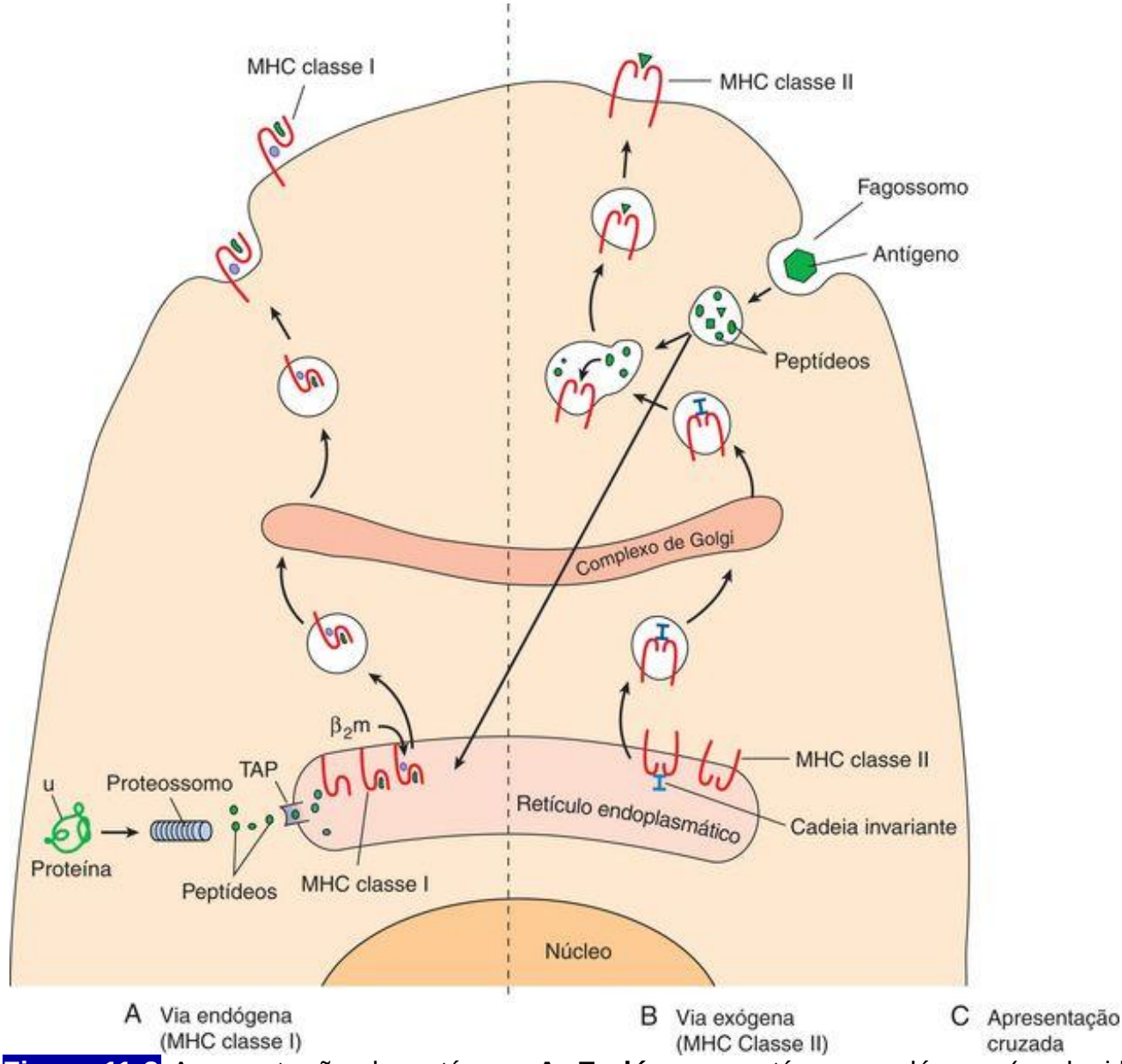


Figura 11-8 Apresentação de antígeno. **A, Endógeno:** antígeno endógeno (produzido pela célula e análogo ao lixo celular) é marcado como alvo pela ligação da ubiquitina (u) para ser digerido no proteossomo. Peptídeos de oito ou nove aminoácidos são transportados através do TAP (transportador associado com o processamento antigênico) para dentro do retículo endoplasmático (RE). O peptídeo se liga a uma fenda na cadeia pesada da molécula

MHC classe I, e a β_2 microglobulina (β_2m) se liga também a essa cadeia pesada (cadeia α). O Complexo é processado através do aparelho de Golgi e transportado para a superfície da célula para ser apresentado às células T CD8. **B, Exógeno:** as moléculas MHC classe II são montadas no RE com uma cadeia proteica invariante que impede a aquisição de um peptídeo no RE. Elas são transportadas em uma vesícula através de complexo de Golgi. O Antígeno exógeno (fagocitado) é degradado nos lisossomos, que então se fundem com uma vesícula contendo as moléculas MHC classe II. A cadeia invariante é degradada e deslocada por peptídeos de 11 a 13 aminoácidos, que se ligam à molécula MHC classe II. O complexo é então transportado para a superfície da célula para apresentação às células T CD4. **C, Apresentação cruzada:** Antígenos exógenos entram no RE de células dendríticas e são apresentados em moléculas MHC I para células T CD8.

As moléculas MHC classe I se ligam e apresentam peptídeos que são degradados a partir de proteínas celulares pelo **proteossomo** (uma máquina de proteases) e então transportados para dentro do retículo endoplasmático (RE) através do **TAP** (transportador associado ao processamento antigênico). A maiorias desses peptídeos se origina de proteínas mal-formadas ou em excesso (lixo) marcadas pela ligação da proteína **ubiquitina**. O peptídeo antigênico se liga à cadeia pesada da molécula MHC classe I. Então a cadeia pesada do MHC classe I pode ser montada adequadamente com a β_2-microglobulina, sair do RE e prosseguir para a membrana da célula.

Durante a **infecção viral**, grandes quantidades de proteínas virais são produzidas e degradadas em peptídeos e se tornam fonte predominante de peptídeos que ocupam as moléculas MHC classe I para serem apresentados às células T CD8. **Células transplantadas (enxertos)** expressam peptídeos em suas moléculas MHC, que são diferentes daquelas do receptor, podendo ser reconhecidas como estranhas. As **células tumorais** quase sempre expressam peptídeos derivados de proteínas anormais ou embrionárias, que podem desencadear respostas no organismo porque o indivíduo não desenvolveu tolerância a essas proteínas. A expressão desses peptídeos "estranhos" no MHC classe I na superfície da célula permite que a célula T "veja" o que está acontecendo dentro da célula.

As **moléculas MHC classe II** apresentam peptídeos de proteínas exógenas que foram adquiridas por macropinocitose, pinocitose ou fagocitose e então degradadas nos lisossomos por APCs. A proteína MHC classe II também é sintetizada no RE mas ao contrário da MHC I, a cadeia invariante se associa com a MHC II para impedir a aquisição do peptídeo. O MHC II adquire seu peptídeo antigênico como resultado de uma fusão da via de transporte vesicular (carregando moléculas MHC classe II recém-sintetizadas) e a via de degradação lisossômica (carregando proteínas fagocitadas e proteolisadas). Os peptídeos antigênicos deslocam um peptídeo da cadeia invariante e se associam com a fenda formada na proteína MHC classe II; o complexo é então transportado para a superfície da célula.

A **apresentação cruzada de antígeno** é usada por células dendríticas para apresentar antígenos a células T CD8 "naïve" para iniciar a resposta a vírus e células tumorais. Após a captura do antígeno (incluindo resíduos de células apoptóticas) na periferia, a proteína é degradada ou seus peptídeos entram no citoplasma e são então transportados através da TAP para dentro do RE para se ligar às moléculas MHC I. As DCs apresentam o peptídeo antigênico às células T CD8 no linfonodo para iniciar a resposta.

A seguinte analogia poderia auxiliar na compreensão da apresentação de antígeno: todas as células degradam seus "lixos" proteicos e então os exibem na superfície celular nas lixeiras MHC classe I. As células T CD8 "policiando" a vizinhança não são alarmadas pelo lixo peptídico normal, diário. Um intruso viral produziria grandes quantidades de lixo peptídico viral (p. ex., latas de cerveja, caixas de pizza) dispostos nos contêineres de lixo molecular MHC classe I, o que iria alertar o policiamento das células T CD8. As APCs (células dendríticas, macrófagos e células B) são semelhantes a coletores de lixo ou trabalhadores do esgoto; eles engolem rapidamente o lixo da vizinhança ou o esgoto linfático, degradam-no, exibem-no em moléculas do MHC classe II e então se movem para um linfonodo para apresentar os peptídeos antigênicos para as células T CD4 na "delegacia de polícia". Antígenos estranhos devem alertar as células T CD4 para liberar citocinas e ativar uma resposta imune.

Ativação das Células T CD4 e sua Resposta ao Antígeno

A ativação das respostas da célula T *naïve* é iniciada por DCs sendo expandida por outras APCs. As células T auxiliares CD4 são ativadas pela interação do TCR com o peptídeo antigênico apresentado por moléculas MHC classe II na APC (Figs. 11-9 e 11-10; veja também a Fig. 11-5). A interação é reforçada pela ligação do CD4 à molécula MHC classe II e pela ligação de proteínas de adesão na célula T e na APC. Um **sinal coestimulatório** é necessário para induzir o crescimento da célula T, como um mecanismo à prova de falha, para garantir uma ativação legítima. Os sinais coestimulatórios são gerados pela interação do CD28 na célula T com as moléculas B7 nas APCs – macrófagos, células dendríticas ou células B – e por citocinas que se ligam a seus receptores. As células T em repouso necessitam de sinais de citocinas (p. ex., IL-1, IL-2, IL-6) para iniciar o crescimento e ultrapassar a supressão reguladora da célula. A ativação adequada da célula T auxiliar promove a produção de IL-2, levando ao crescimento de outras células T e B aumentando a expressão de IL-2Rs na superfície da célula, acentuando a capacidade da própria célula se ligar e manter a ativação pela IL-2. Uma vez ativada, a IL-2 sustenta o crescimento da célula, e outras citocinas influenciam se a célula T auxiliar irá amadurecer como uma célula auxiliar do tipo TH1 ou TH2 (veja a seção seguinte).

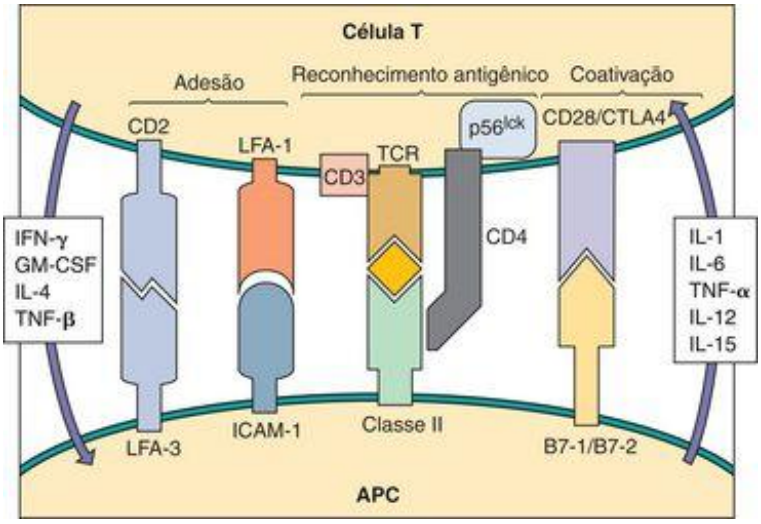


Figura 11-9 As moléculas envolvidas na interação entre células T CD4 e células apresentadoras de antígeno (APCs). As várias citocinas e suas direções de ação são também mostradas. GM-CSF, fator estimulador de colônia granulócito-macrófago; ICAM-1, molécula de adesão intercelular 1; IFN-γ, interferon gama; TNF, fator de necrose tumoral.

(Extraído de Roitt I, et al.; Immunology, 4th Ed. St Louis, Mosby, 1996.)

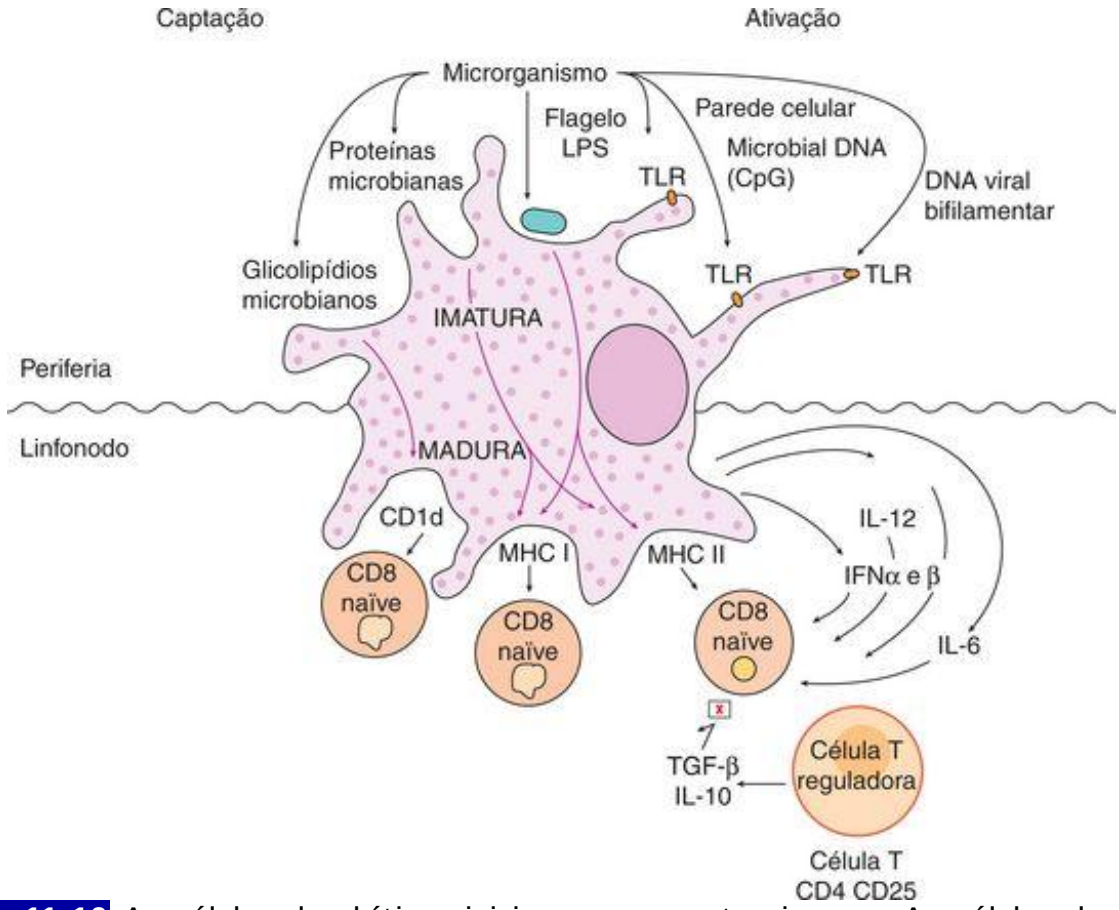


Figura 11-10 As células dendríticas iniciam as respostas imunes. As células dendríticas imaturas constantemente internalizam e processam proteínas, restos celulares e microrganismos, quando presentes. A ligação de componentes microbianos aos receptores *Toll-like* (TLRs) ativa a maturação da DC, de modo que ela para de internalizar qualquer novo material, se move para o linfonodo, regula positivamente as moléculas MHC II, B7 e B7.1 para apresentação de antígeno e produz citocinas para ativar as células T. A liberação e IL-6 inibe a liberação de TGF-β e IL-10 pelas células T reguladoras. As citocinas produzidas pela DC e sua interação com células TH0 inicia as respostas imunes. IL-12 e IL-2 promovem respostas TH1, enquanto IL-4 promove respostas TH2. A maioria das células T se divide para ampliar a resposta, mas algumas permanecem como células de memória. As células de memória podem ser ativadas pela apresentação de antígenos por DC, macrófago ou célula B para uma resposta secundária.

A ativação parcial (interação do receptor de célula T com o peptídeo MHC) sem a citocina adequada ou a coestimulação CD28-B7 leva à **anergia** (incapacidade de responder) ou à morte por apoptose (suicídio celular) da célula T. Este é um mecanismo para (1) eliminar as células T autorreativas no timo; e (2) promover o desenvolvimento de **tolerância** às proteínas próprias. Além disso, a ligação da molécula coestimuladora CTLA-4, em vez de CD28, nas células T com B7 nas células-alvo ou APC pode resultar em anergia contra o antígeno.

Uma vez ativadas, as células T CD4 podem se mover pelo corpo ou para as zonas de célula B dos linfonodos e baço. A apresentação de antígeno inicia interações muito próximas entre a célula T e a APC, permitindo que as moléculas CD40L e CD28 na célula T se liguem às moléculas CD40 e B7 na APC. Essas interações estimulam a ativação da célula T e da APC. Essa interação e as citocinas produzidas pela célula T determinarão a função do macrófago e da DC e qual a imunoglobulina que será produzida pela célula B.

Funções da Célula T Auxiliar CD4

As células T CD4 começam como uma célula TH0 que pode se desenvolver em TH0, TH1, TH2 ou outras células TH com diferentes funções, como pode ser determinado pela célula dendrítica inicial e as interações das citocinas. Os diferentes tipos de células TH são definidos pelas citocinas que elas secretam e, portanto, as respostas que elas induzem (Fig. 11-11; Tabelas 11-2 e 11-4). A compreensão da divisão da produção de citocinas em TH0, TH1 e TH2 é a base para a compreensão da geração das respostas imunes. Todos os três tipos de células T produzem GM-CSF, IL-3, TNF-α e algumas quimiocinas. As células TH0 não estão comprometidas com TH1 ou TH2 e produzem citocinas de ambas as respostas, incluindo IL-2, IFN-γ e IL-4. As células TH0 amadurecem em células TH1 ou células TH2, dependendo do antígeno, como ele é apresentado, do tipo de APC, da concentração de antígeno e acima de tudo do ambiente de citocinas. Uma vez ativadas, as células TH1 e TH2 produ zem citocinas que estimulam seu próprio crescimento e desenvolvimento (autócrinas), mas inibem o desenvolvimento de outros tipos de células T CD4.

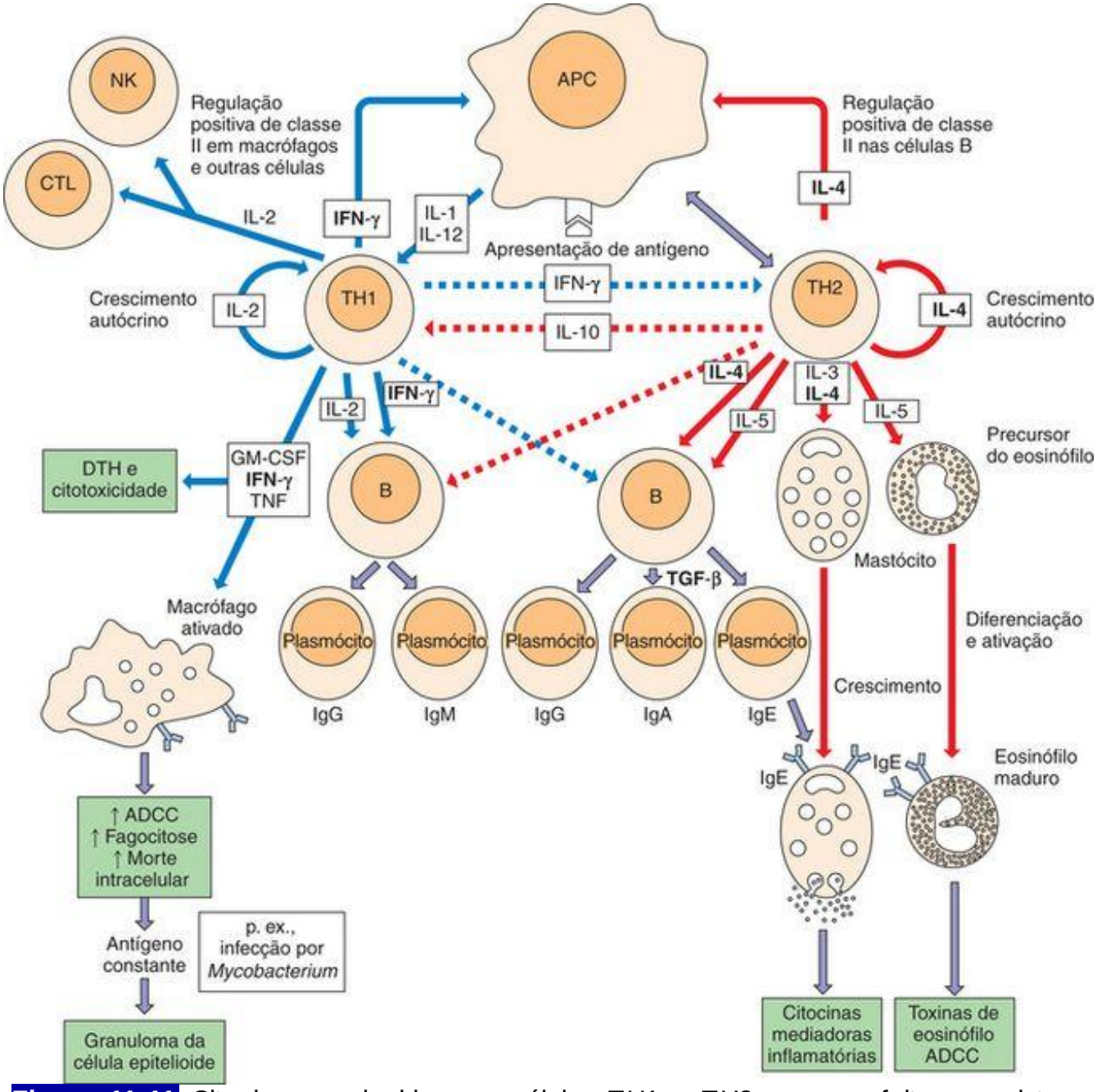


Figura 11-11 Citocinas produzidas por células TH1 e TH2 e seus efeitos no sistema imunológico. As respostas TH1 são iniciadas por IL-12 e interferon-γ e as respostas TH2 por

IL-4. As células TH1 promovem inflamação e produção de complemento e anticorpos de ligação ao macrófago (*linhas azuis sólidas*) e inibem as respostas TH2 (*linhas azuis pontilhadas*). As células TH2 promovem as respostas humorais (*linhas vermelhas sólidas*) e inibem as respostas TH1 (*linhas vermelhas pontilhadas*). Os retângulos coloridos denotam o resultado final. ADCC, citotoxicidade celular dependente de anticorpo; APC, célula apresentadora de antígeno; CTL, célula T citotóxica; DTH, hipersensibilidade do tipo tardio; GM-CSF, fator estimulador de colônias granulócito-macrófago; TNF, fator de necrose tumoral.

Tabela 11-4 Citocinas produzidas pelas células TH0, TH1 e TH2*

Tabela 11-4. Citocinas produzidas pelas células TH0, TH1 e TH2*

Citocina	TH0	TH1	TH2
IFN-γ	+	++	–
IL-2	+	++	–
TNF-β (LT)	+	++	–
Quimiocinas	+	+	–
GM-CSF	+	++	+
TNF-α	+	++	+
IL-3	+	++	++
IL-4	+	–	++
IL-5	+	–	++
IL-6		–	++
IL-10	+	–	++

GM-CSF, Fator estimulador de colônia granulócito-macrófago; IFN, interferon; IL, interleucina; LT, linfotoxina; TNF, fator de necrose tumoral; +, produto secundário; ++, produto principal; –, nenhum produto.
**A capacidade relativa das células TH0, TH1 e TH2 de produzir citocinas diferentes após a ativação.*

As **células TH1** são ativadas por células dendríticas e a resposta reforçada por macrófagos, que produzem **IL-12** e apresentam antígeno para a célula T CD4. As células TH1 são caracterizadas pela secreção de **IL-2, IFN-**γ e **TNF-**β (**linfotoxina**). Essas citocinas estimulam as respostas inflamatórias e a produção de IgM e subclasses específicas de IgG que se ligam a receptores Fc nos neutrófilos e nas células NK e podem fixar complemento. O **IFN-**γ, também conhecido como **fator de ativação do macrófago**, reforça as respostas TH1 promovendo a produção de mais IL-12 e criando um ciclo autossustentável. As células TH1 são inibidas por IL-10, que é produzida pelas células TH2. As células TH1 ativadas também expressam o **FasL**, que pode interagir com **Fas** nas células-alvo para promover sua apoptose (morte).

A **resposta TH1 (1 significando *primeiro*)** *geralmente ocorre primeiro e reforça as respostas locais*. Ela ocorre frequentemente no início de uma infecção. As respostas TH1 amplificam as reações inflamatórias locais e as reações de DTH por ativarem os macrófagos, as células NK e as células T citotóxicas CD8, e também expandem a resposta imune pela estimulação do crescimento de células B e T com IL-2. As respostas inflamatórias e os anticorpos estimulados pelas respostas TH1 são importantes para eliminar infecções intracelulares (p. ex., vírus, bactérias e parasitas) e fungos, mas estão associadas com doenças inflamatórias autoimunes mediadas por células (p. ex., esclerose múltipla, doença de Crohn, artrite reumatoide).

O reforço das respostas antibacterianas também é mediado pelas células TH17. Estas são células T auxiliares CD4 estimuladas por IL-23 ou IL-6 mais TGF-β em vez de IL-12. A IL-23 pertence à mesma família de citocinas que a IL-12. As células TH17 fabricam citocinas como IL-17, IL-6, TNF-α, associadas com inflamação crônica, e quimiocinas pró-inflamatórias em vez de IFN-γ para promover as respostas inflamatórias. As respostas TH17 deveriam também proporcionar proteção em sítios imunológicos privilegiados, como os olhos, que protegem a si mesmos contra respostas TH1 deletérias com TGF-β.

A **resposta TH2 (2 significando *segunda*)** *ocorre mais tarde e age sistemicamente*. A resposta TH2 ocorre na ausência de um sinal de IL-12/IFN-γ das respostas inatas, e então a IL-4 reforça a continuação das respostas TH2. O desenvolvimento da célula TH2 é inibido pelo IFN-γ. A resposta TH2 pode ser estimulada mais tarde em uma infecção, quando o antígeno atinge os linfonodos e é apresentado por DCs, macrófagos e células B. As células B que expressam anticorpos específicos na superfície celular podem capturar, processar e apresentar antígeno para as células TH2 para iniciar um circuito antígeno-específico, estimulando o crescimento e expandindo clonalmente as células T auxiliares e as células B, que são específicas para o mesmo antígeno. As células TH2 liberam as citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 que promovem respostas humorais (sistêmicas). Essas citocinas estimulam a diferenciação da célula B, resultando em deleções no gene da imunoglobulina para mudar da produção de IgM e IgD para a produção de subtipos específicos de IgG, IgE ou IgA. As respostas TH2 podem limitar o desenvolvimento de doenças inflamatórias e autoimunes, mas podem exacerbar uma infecção intracelular (p. ex., *Mycobacterium leprae*) por interromperem prematuramente as respostas protetoras TH1.

As **células TH3** são caracterizadas por produção de IL-5 e fator β transformador de crescimento (TGF-β), que são importantes para promover a diferenciação da célula B para produzir IgA. As células TH3 são também importantes para promover a tolerância imunológica das proteínas dos alimentos. O TGF-β inibe a ação TH1 e TH2 da célula para promover tolerância.

As **células Treg que expressam $CD4^+$ $CD25^+$** são células supressoras antígeno-específicas. Essas células impedem o desenvolvimento de respostas autoimunes através da produção de TGF-β e IL-10, ajudam a manter as respostas de células T sob controle e promovem o desenvolvimento de células de memória.

Células T CD8

As **células T CD8** incluem **CTLs** e **células supressoras**. As CTLs são parte da resposta TH1 e são importantes para eliminar células infectadas por vírus e células tumorais. As células T CD8 podem também secretar citocinas do tipo TH1. Pouco se sabe sobre as células supressoras.

A resposta do CTL é iniciada quando o crescimento das células CD8 *naïve* é estimulado, no linfonodo, pela IL-2 produzida por células T CD4 e pela ativação antígeno-específica por parte das DCs, que podem ser reforçadas pelos macrófagos (Fig. 11-12). A apresentação do antígeno pode ser o resultado de uma infecção viral da APC ou causada por apresentação cruzada de um antígeno adquirido no sítio da infecção ou tumor por uma DC. As células T CD8 ativadas se dividem e se diferenciam em CTLs maduras. Durante um desafio viral no camundongo, os números de CTLs específicas aumentará até 100.000 vezes. Quando a CTL ativada encontra uma célula-alvo, ela se liga firmemente através de interações do TCR com as proteínas MHC classe I que exibem o antígeno e moléculas de adesão em ambas as células (semelhante ao fechamento de um zíper). **Grânulos** contendo moléculas tóxicas, **granzimas** (**esterases**), e uma proteína formadora de poro (**perforina**) se movem para o local de interação e liberam seus conteúdos dentro de bolsos (**sinapse imunológica**) formados entre a célula T e a célula-alvo. A **perforina** gera orifícios na membrana da célula-alvo para permitir que o conteúdo dos grânulos entrem e induzam a **apoptose** (**morte celular programada**) na célula-alvo. As células T CD8 podem também iniciar a apoptose nas células-alvo através de interações do **FasL na célula T com a proteína Fas na superfície da célula-alvo**. O FasL é um membro da família de proteínas TNF, e o Fas é um membro da família de proteínas do receptor de TNF. A apoptose é caracterizada pela degradação do DNA da célula-alvo em fragmentos distintos de aproximadamente 200 pares de base e pela ruptura das membranas internas. A célula se retrai em corpos apoptóticos, que são imediatamente fagocitados por macrófagos e células dendríticas. A apoptose é um método limpo de morte celular, ao contrário da necrose, que sinaliza a ação do neutrófilo e novo dano tecidual. As células T CD4 TH1 e as células NK também expressam FasL e podem iniciar a apoptose nas células-alvo.

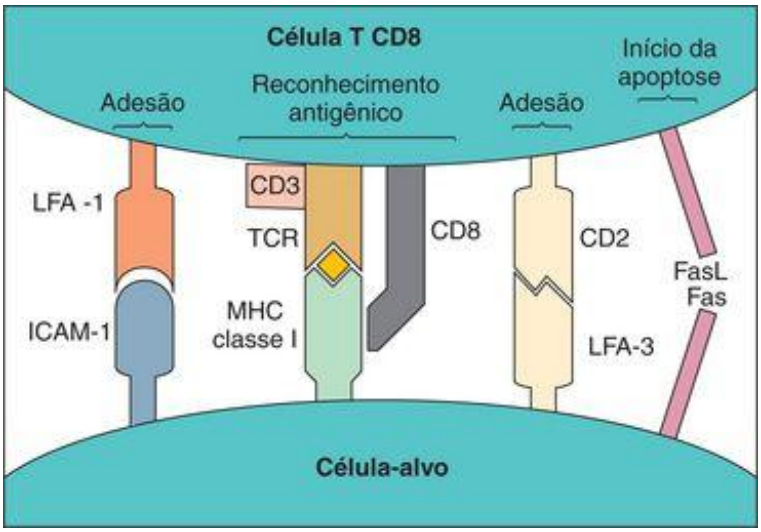


Figura 11-12 Interações entre linfócito T citotóxico CD8 (CTL) e células-alvo. A interação Fas-FasL promove apoptose. ICAM-1, molécula de adesão intercelular 1.

(Extraído de Roitt I, et al.: Immunology, 4th Ed. St Louis, Mosby, 1996.)

As células T supressoras proporcionam regulação antígeno-específica da função da célula T auxiliar através de citocinas inibidoras e outros meios. Do mesmo modo que as CTLs, as células T supressoras interagem com as moléculas MHC classe I.

Células NKT

As células **NKT** são como um híbrido entre as células NK e as células T. Elas expressam um marcador da célula *natural killer*, NK1.1 e um TCRα/β. Ao contrário de outras células T, o repertório do TCR é muito limitado. Elas podem expressar CD4, mas a maioria não apresenta moléculas CD4 e nem CD8 ($CD4^+$ $CD8^+$). Como no TCRγ/δ, o TCR da maioria das células NKT reage com moléculas CD1, que apresentam glicolipídios microbianos e glicopeptídeos. Sob ativação, as células NKT liberam grandes quantidades de IL-4 e IFN-γ. As células NKT auxiliam nas respostas iniciais à infecção e são muito importantes para a defesa contra infecções micobacterianas.

Questões

1. A importância de moléculas específicas pode ser determinada através do desenvolvimento de cepas de camundongo geneticamente deficientes (camundongos *knockout*) ou do estudo de doenças humanas de deficiência genética. Descreva as funções imunológicas que poderiam estar ausentes e os tipos celulares que poderiam ser afetados em um camundongo deficiente nas seguintes moléculas:

a. MHC classe I

b. MHC classe II

c. TCRγ/δ

d. Receptor de IL-2

e. CD4

f. B7-1 e B7-2

g. IFN-γ

h. IL-1

i. CD40L

1.

a. MHC Classe I: perda de células CD8 T; reduzirá dramaticamente a habilidade de destruir células virais infectadas e células tumorais.

b. MHC Class II: deficiência de células CD4 T ou de suas funções; imunodeficiência, deficiência de célula T auxiliar na produção de anticorpos, inabilidade de ativar células CD4 T e células B contra antígenos.

c. TCRγ/δ: aumento da suscetibilidade à infecção bacteriana

d. Receptor IL-2: reduz a habilidade de ativar e expandir o número de células T

e. CD4: deficiência de células CD4 T; imunodeficiência; deficiência de células T auxiliares para produção de anticorpos; inabilidade de ativar células CD4 T e células B contra antígenos.

f. B7-1 e B7-2: reduz a capacidade de ativar células T devido à perda de correceptores nas

células apresentadoras de antígenos

g. IFN-γ: reduz a função dos macrófagos, aumenta a suscetibilidade à infecção bacteriana, similar à doença granulomatosa crônica (a qual é tratada com IFN-γ), aumenta a incidência e severidade de infecções bacterianas intracelulares, virais e fúngicas.

h. IL-1: aumenta suscetibilidade à infecção bacteriana devido a deficiências nas respostas de fase aguda.

i. CD40L: o CD40L na célula T fornece o sinal de ativação para as células B apresentadoras de antígeno, macrófagos ou células dendríticas, o qual aumenta a ativação e é necessário para a troca de classe das células B. A deficiência de CD40L resulta na síndrome HiperIgM, uma falta de todos anticorpos com exceção de IGM.

2. A divisão das respostas da célula T auxiliar em subpopulações TH1 e TH2 proporciona uma das mais úteis abordagens para a compreensão das respostas imunes a um desafio. Qual seria a consequência de cada uma das situações seguintes?

a. Iniciação da resposta TH2 a uma infecção intracelular (p. ex., *Mycobacterium leprae*) antes de uma resposta TH1

b. Resposta TH1 descontrolada a uma infecção fúngica vaginal (p. ex., *Candida albicans*)

c. Resposta TH1 insuficiente a uma infecção viral de um neonato como resultado de baixos níveis de IFN-γ (p. ex., vírus do herpes simples)

d. Imunização com uma mistura de IL-2, GM-CSF e IFN-γ e o antígeno glicoproteína 120 do vírus da imunodeficiência humana, em vez do antígeno sozinho.

2.

a. Uma resposta TH2 é definida pela produção de IL4, IL5, IL6 e IL10. IL4 e IL10 irão impedir a produção de IFN-γ. Isso irá evitar o desenvolvimento das respostas Th1 as quais são necessárias para controlar as infecções bacterianas intracelulares (lepra lepromatosa ocorrerá ao invés da forma mais branda: lepra tuberculosa).

b. Uma resposta TH1 over-reativa irá resultar em prurido intenso.

c. Recém-nascidos são suscetíveis a infecções de risco à vida por vírus envelopados, pois estes vírus conseguem impedir a ação de anticorpos (p. ex., anticorpos maternos). A resposta protetora dependerá da estimulação de IFN-γ dos macrófagos bem como de Th1 a qual é mantida por uma alça de IL12- IFN-γ.

d. IL-2, GM-CSF e IFN-γ irão estimular a resposta Th1 para o HIV gp 120. Estima-se que estas proteínas ajam como adjuvantes, promovendo resposta protetora pela ativação das células T e células dendríticas.

3. A manipulação da apresentação de antígeno pode modificar a resposta imunológica subsequente de modo a incrementar ou inibir a resposta. Quais seriam as consequências dos seguintes bloqueios para a resposta subsequente?

a. Bloqueio da TAP

b. Inibição da expressão da cadeia invariante

c. Ausência de β_2-microglobulina

d. Inibição de proteases lisossômicas.

3.

a. O bloqueio da TAP impede a distribuição de peptídeos antigênicos dentro do retículo endoplasmático os quais são necessários para a ligação das moléculas de MHC I. Este mecanismo de evasão da resposta imune é utilizado pelo vírus herpes simples que codifica para uma proteína a qual bloqueia a TAP das células humanas.

b. Inibição da expressão da cadeia não variável resultará na aquisição de peptídeos antigênicos endógenos pelas moléculas MHC II no retículo endoplasmático no endossoma. A cadeia não variável preenche o espaço do peptídeo antigênico ligante à molécula MHC II até ser clivado e removido no endossoma onde MHC II adquire peptídeos de proteínas fagocitadas.

c. A falta de beta-2-microglobulina evitará a expressão de moléculas de MHC I na superfície da célula. A ligação de beta-2-microglobulina à cadeia pesada de MHC I é necessária para a saída da molécula do retículo endoplasmático. Beta-2-microglobulina é também expressa em outras proteínas as quais serão afetadas no caso de sua deficiência.

d. Inibição das proteases lisossomais irá impedir a produção de peptídeos que ocupam moléculas MHC II e isto, por consequência, impedirá a geração de resposta de células CD4 T àquelas proteínas.

Bibliografia

Abbas AK, et al. Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2007.

Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:499-511.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease. Sunderland, Mass: Sinauer, 2007.

Janeway CA, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 6th ed., New York: Current Biology and Garland, 2004.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby Immunology, 6th ed., New York: WH Freeman, 2007.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed., Philadelphia: Elsevier, 2005.

Sompayrac L. How the Immune System Works, 2nd ed, Malden, Mass: Blackwell Scientific, 2003.

Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:335-376.

12 Respostas Imunes aos Agentes Infecciosos

Os capítulos anteriores nesta seção apresentaram os diferentes atores imunológicos e suas características. Este capítulo descreve os diferentes papéis que exercem na proteção do hospedeiro contra a infecção, suas interações e as consequências imunopatogênicas que podem surgir como resultado da resposta. A importância de cada um dos componentes da resposta do hospedeiro varia de acordo com os diferentes agentes infecciosos (Tab. 12-1), sendo que se torna óbvia quando esse hospedeiro é geneticamente deficiente ou quando está bloqueado por quimioterapia, doença ou infecção (p. ex., síndrome da imunodeficiência adquirida - AIDS).

Tabela 12-1 Importância das Defesas Antimicrobianas para os Agentes Infecciosos

Tabela 12-1. Importância das Defesas Antimicrobianas para os Agentes Infecciosos

	Bactérias	Bactérias Intracelulares	Vírus	Fungos	Parasitas
Complemento	+	–	–	–	–
Interferon-α/β	–	–	++++	–	–
Neutrófilos	++++	–	–	+	+
Macrófagos	++	+++	++	++	+
Células NK	–	–	+++	–	–
TH1 CD4, DTH	–	++	+++	+*	+
CTL CD8	–	++	++++	–	–
Anticorpo	++	+	+	+	++ (IgE)†

CTL, linfócitos T citolíticos; NK, natural killer.
**Pela ativação dos macrófagos.*
†A imunoglobulina E e os mastócitos são especialmente importantes nas infecções por verme.

Os seres humanos possuem três linhas básicas de proteção contra a invasão por parte de agentes infecciosos, que são:

1. **Barreiras naturais**, como a pele, o muco, o epitélio ciliado, o ácido gástrico e a bile, que restringem a entrada do agente.

2. **Defesas imunes inatas, não específicas ao antígeno**, como febre, interferon, complemento, neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células *natural killer* (NK), que proporcionam respostas locais rápidas ao desafio por parte de um invasor.

3. **Respostas imunes adaptativas específicas ao antígeno**, como os anticorpos e as células T, que visam, atacam e eliminam de forma específica, os invasores que conseguem passar pelas duas primeiras defesas.

Barreiras contra Infecção

A **pele** e as **membranas mucosas** servem como barreiras para a maioria dos agentes infecciosos (Fig. 12-1 e Tab. 12-2), salvo algumas exceções (p. ex., papilomavirus, dermatófitos [fungos "que amam a pele"]). Os ácidos graxos livres produzidos nas glândulas sebáceas e pelos organismos na superfície da pele, o ácido lático na transpiração e o pH baixo juntamente com o ambiente relativamente seco da pele criam condições desfavoráveis à sobrevivência da maioria dos organismos.

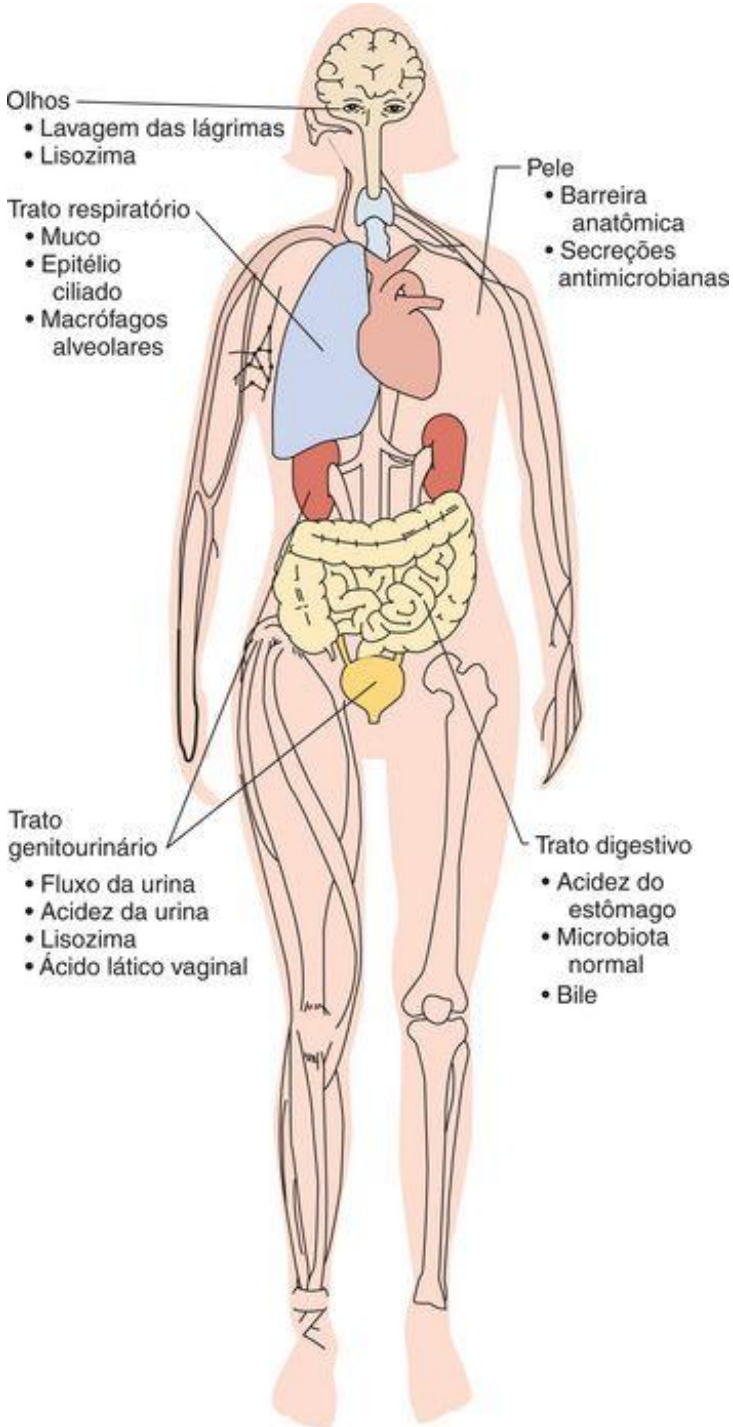


Figura 12-1 Barreiras de defesa do corpo humano.

Tabela 12-2 Mecanismos não específicos de Defesa Humoral

Fator	Função	Fonte
Lisozima	Catalisa a hidrólise do peptidoglicano bacteriano	Lágrimas, saliva, secreções nasais, fluidos corporais, grânulos lisossômicos
Lactoferrina, transferrina	Liga-se ao ferro e compete com os microrganismos por ele	Grânulos específicos de PMNs
Lactoperoxidase	Pode ser inibidora para muitos microrganismos	Leite e saliva
β-Lisina	É eficaz principalmente contra as bactérias gram positivas	Trombócitos, soro normal
Fatores quimiotáticos	Induzem a migração direta dos PMNs, monócitos e outras células	Substâncias bacterianas, produtos da lesão celular, proteínas desnaturadas, complemento e quimiocinas
Properdina	Ativa o complemento na ausência de complexo antígeno-anticorpo	Plasma normal
Peptídeos catiônicos	Rompe membranas, bloqueia as atividades de transporte celular	Grânulos polimorfonucleares (defensinas etc.)

PMNs, Neutrófilos polimorfonucleares (leucócitos).

O epitélio mucoso que cobre os orifícios do corpo é protegido por secreções de muco e por cílios. Por exemplo, as vias pulmonares são revestidas com muco, que é transportado continuamente em direção à boca pelas células epiteliais ciliadas. As partículas grandes transportadas pelo ar são capturadas pelo muco, enquanto as partículas pequenas (de 0,05 a 3 mícrons [µm], do tamanho dos vírus ou bactérias) que alcançam os alvéolos são fagocitadas por macrófagos e transportadas para fora das vias aéreas. Algumas bactérias e vírus (p. ex., *Bordetella pertussis*, vírus influenza), a fumaça do cigarro ou outros poluentes podem interferir nesse mecanismo de depuração ao danificarem as células epiteliais ciliadas, tornando o paciente suscetível à pneumonia bacteriana secundária. As substâncias antimicrobianas (peptídeos catiônicos [**defensinas**], lisozima, lactoferrina e a [IgA] secretora) encontradas nas secreções existentes nas superfícies mucosas (p. ex., lágrimas, muco e saliva) também proporcionam proteção. Várias defensinas podem romper as membranas bacterianas, virais e fúngicas. A lisozima induz a lise da bactéria clivando o esqueleto de polissacarídeos do peptidoglicano das bactérias Gram positivas. A lactoferrina, uma proteína de ligação ao ferro, priva os micróbios do ferro livre de que necessitam para o seu crescimento.

O **ambiente ácido** do estômago, bexiga e rins, além da **bile** dos intestinos, torna muitos vírus e bactérias inativos. O **fluxo urinário** também limita o estabelecimen to da infecção.

A temperatura corporal e especialmente a **febre** limitam ou impedem o crescimento de muitos micróbios. Além disso, a resposta imune é mais eficiente em temperaturas elevadas.

Respostas Antibacterianas

A Figura 12-2 ilustra a progressão das respostas protetoras a um desafio bacteriano. A proteção é iniciada pela ativação local das respostas inata e inflamatória e evolui para as respostas de fase aguda e específicas ao antígeno numa escala sistêmica. O Quadro 12-1 apresenta um resumo das respostas antibacterianas.

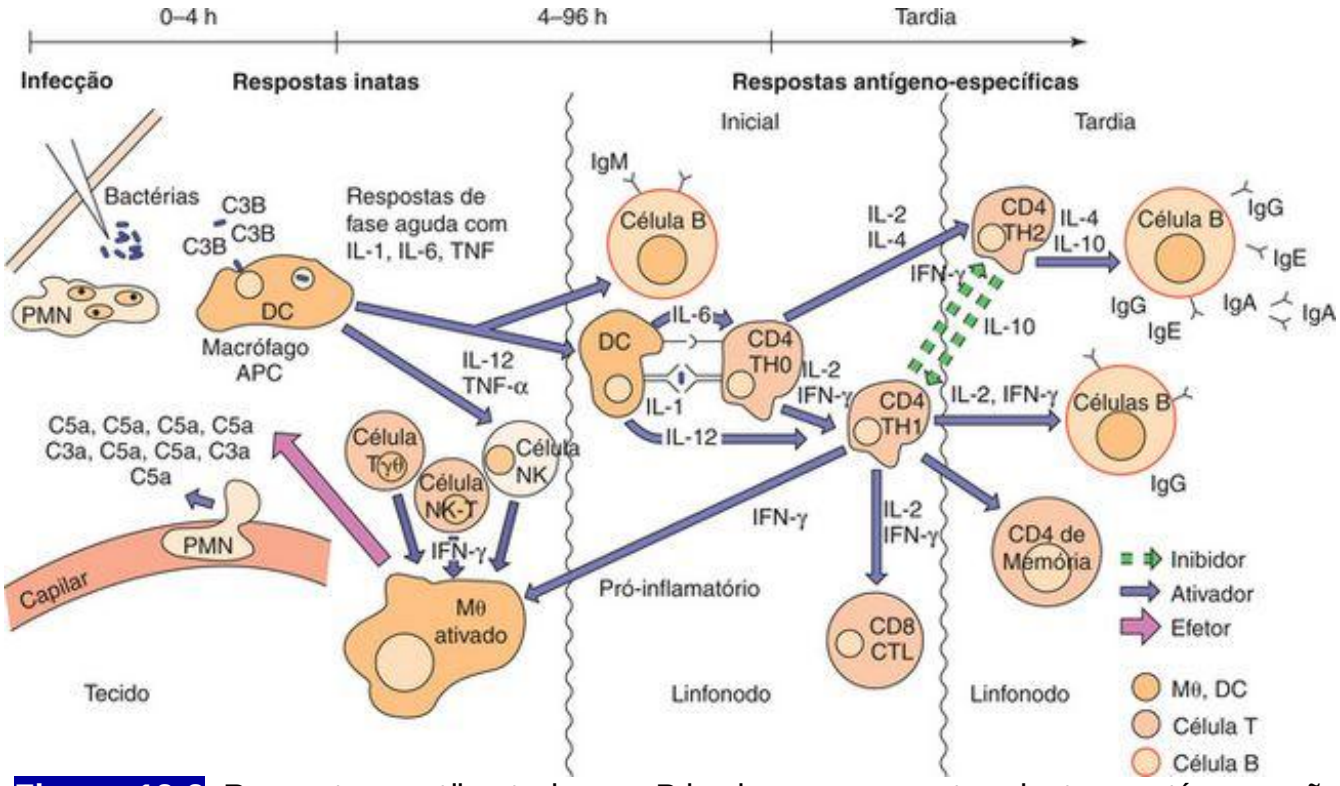


Figura 12-2 Respostas antibacterianas. Primeiro, as respostas inatas antígeno não específicas atraem e promovem as respostas de neutrófilo polimorfonuclear (PMN) e de macrófago (Mθ). As células dendríticas (DC) e o antígeno alcançam o linfonodo para ativar as respostas imunes iniciais (TH1 e imunoglobulina M[IgM]). Mais tarde, as respostas de anticorpo TH2 sistêmicas e as células de memória se desenvolvem. O intervalo de tempo dos eventos está indicado no topo da figura CTL, linfócito T citotóxico; IFN, interferon; IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral.

Quadro 12-1 Resumo das Respostas Antibacterianas

Complemento

Vias alternativa e da lectina ativadas pelas superfícies bacterianas

Via clássica ativada mais tarde pelos complexos antígeno-anticorpo

Produção de proteínas quimiotáticas e anafilotóxicas (C3a, C5a)

Opsonização de bactérias (C3b)

Promoção da morte das bactérias gram-negativas

Ativação das células B (C3d)

Neutrófilos

Célula fagocítica antibacteriana importante

Eliminação através de mecanismos dependentes de oxigênio e independentes de oxigênio

Células Dendríticas

Produção de citocinas e interferon (IFN)–α

Iniciação das respostas imunes

Macrófagos

Célula fagocítica antibacteriana importante

Eliminação através de mecanismos dependentes de oxigênio

Produção das interleucinas IL-1, IL-6 e IL-12; fator de necrose tumoral (TNF)-α e TNF-β, e de IFN-α

Ativação das respostas de fase aguda e inflamatória

Apresentação de antígeno para a célula T CD4

Células T

Resposta de célula T γ/λ aos metabólitos bacterianos

Resposta de célula T *natural killer* (NK)-1 à apresentação de glicolipídeos micobacterianos por CD1

Respostas TH1 CD4 importantes nas infecções bacterianas, especialmente intracelulares

Resposta TH2 CD4 importante para as proteções de anticorpo

Resposta TH17 CD4 ativa os neutrófilos

Anticorpo

Ligação às estruturas de superfície das bactérias (fímbria, ácido lipoteicoico, cápsula)

Bloqueio da fixação

Opsonização das bactérias para fagocitose

Promoção da ação do complemento

Promoção da depuração das bactérias

Neutralização das toxinas e enzimas tóxicas

Ativação da Resposta

Os componentes bacterianos são excelentes ativadores das respostas protetoras e inflamatórias inatas e não específicas ao antí geno (Quadro 12-2). As paredes celulares bacterianas (fragmentos de ácido teicoico e de peptidoglicano das bactérias Gram positivas) e especialmente os lipopolissacarídeos (LPS) das paredes celulares bacterianas Gram negativas contêm estruturas repetitivas que podem ser reconhecidas pelos **receptores de reconhecimento de padrão molecular associado ao patógeno (PAMP)**, incluindo os **receptores *Toll-like* (TLRs)** da superfície celular (Tab. 11-1) e os receptores de peptidoglicano citoplasmáticos NOD1, NOD2 e criopirina. A ligação desses PAMPs aos receptores nos macrófagos, células de Langerhans e células dendríticas ativa as cascatas de cinase que promovem a produção de citocina (incluindo IL-1, IL-6 e TNF), as respostas protetoras e a maturação das células dendríticas. O **LPS (endotoxina)** se liga ao TLR4 e a outros receptores PAMP, sendo um ativador muito forte das células dendríticas, macrófagos, células B e outras células selecionadas (p. ex., células endoteliais). As células NK, NKT e T γ/δ residentes no tecido também respondem, produzem citocinas e reforçam as respostas celulares.

Quadro 12-2 Componentes Bacterianos que Ativam Respostas Protetoras

Ativação Direta através dos TLRs e Outros Receptores

Lipopolissacarídeo (endotoxina)

Ácido lipoteicoico

Lipoarabinomanana

Glicolipídeos e glicopeptídeos

Poliânions

Peptídeos *N*-Formil (formil-metionil-leucil-fenilalanina)

Fragmentos de peptidoglicano

Quimiotaxia via C3a, C5a e Outros Mecanismos

Fragmentos de peptidoglicano

Ativação de superfície celular das vias alternativas do complemento

A **via alternativa do complemento (properdina)** pode ser ativada pelo ácido teicoico, peptidoglicano e LPS na ausência do anticorpo e, com a **proteína de ligação à manose**, pode ativar a via clássica do complemento. A ativação do **sistema do complemento** (Cap. 10) é uma defesa antibacteriana bastante precoce e importante. O complemento ativa as respostas inflamatórias e também pode matar diretamente as bactérias Gram negativas e, com bem menos eficiência, as bactérias Gram positivas (o peptidoglicano espesso das bactérias Gram positivas as protege da lise). A ativação da cascata do complemento pelas bactérias Gram positivas ou Gram negativas proporciona os seguintes fatores de proteção:

1. **Fatores quimiotáticos (C5a)** para atrair os neutrófilos e macrófagos para o local da infecção

2. **Anafilatoxinas (C3a e C5a)** para estimular a liberação de histamina pelos mastócitos e, com isso, aumentar a permeabilidade vascular, permitindo o acesso ao local da infecção

3. **Opsoninas (C3b)**, que se ligam às bactérias e promovem a sua fagocitose

4. Um ativador de célula B (C3d)

O anticorpo (**IgM** ou **IgG**), que aparece mais tarde na infecção, aumenta a resposta do complemento através da ativação da **cascata clássica do complemento**.

Quimiotaxia e Migração de Leucócitos

Os fatores quimiotáticos produzidos em resposta à infecção e às respostas inflamatórias, como os componentes do complemento (C3a, C5a), os produtos bacterianos (p. ex., formil-metionil-leucil-fenilalanina [f-met-leu-fen]) e as citocinas são poderosos quimioatraentes para neutrófilos, macrófagos e, mais adiante na resposta, os linfócitos. As **quimiocinas** são proteínas adesivas que estabelecem uma "trilha" iluminada quimicamente para guiar estas células ao local da infecção, além de ativá-las. As quimiocinas e o **fator α de necrose tumoral (TNF-α)** fazem com que as células endoteliais que revestem os capilares (perto da inflamação) e que os leucócitos de passagem expressem moléculas de adesão complementares ("Velcro" molecular). Os leucócitos reduzem a velocidade, rolam, se fixam ao revestimento e depois extravasam através da parede capilar *(i.e.*, passam através dela) para o local da inflamação (num processo chamado **diapedese**) (Fig. 12-3).

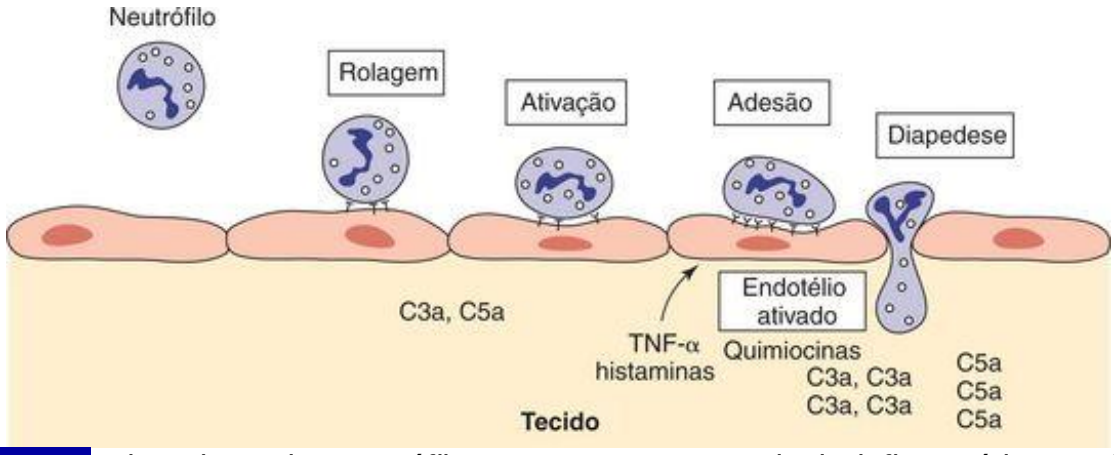


Figura 12-3 Diapedese do neutrófilo em resposta aos sinais inflamatórios. O fator de necrose tumoral α (TNF-α) e as quimiocinas ativam a expressão de selectinas e de moléculas de adesão intercelular (ICAM-1) no endotélio perto da inflamação e seus ligantes no neutrófilo: integrinas, L-selectina e LFA-1 (antígeno associado à função do leucócito). O neutrófilo se liga cada vez mais firmemente ao endotélio até encontrar o seu caminho através do mesmo.

Respostas Fagocíticas

Os neutrófilos polimorfonucleares (PMNs), os monócitos e ocasionalmente os eosinófilos são as primeiras células a chegarem ao local em resposta à infecção; mais tarde, são seguidas pelos macrófagos. Os **neutrófilos** proporcionam uma resposta antibacteriana e uma contribuição importantes para a inflamação. Um número elevado de neutrófilos no sangue, nos líquidos corporais (p. ex., líquido cerebrospinal) ou no tecido indica uma infecção bacteriana. A mobilização dos neutrófilos é acompanhada por um "desvio para a esquerda", um aumento na quantidade de **formas em bastão** imaturas liberadas da medula óssea (*esquerda* se refere ao início de um gráfico do desenvolvimento do neutrófilo).

A **fagocitose** das bactérias pelos macrófagos e neutrófilos envolve três etapas: fixação, internalização e digestão. A **fixação das bactérias** ao macrófago é mediada pelos receptores de carboidratos bacterianos (**lectinas** [proteínas específicas de ligação ao açúcar]), receptores de fibronectina (especialmente para o *Staphylococcus aureus*) e **receptores de opsoninas**, incluindo o complemento (C3b), a proteína de ligação à manose e a porção Fc do anticorpo. Depois da fixação, uma porção de membrana plasmática envolve a partícula, formando um **vacúolo fagocítico** ao redor do microrganismo. Este vacúolo se funde com os **lisossomos primários** (macrófagos) ou **grânulos** (PMNs), permitindo a inativação e a digestão dos conteúdos vacuolares.

A morte por fagocitose pode prescindir ou não do oxigênio, dependendo dos produtos químicos antimicrobianos produzidos pelos grânulos (Fig. 12-4). A ativação dos macrófagos é promovida pelo interferon-γ (IFN-γ) (melhor), pelo fator de estimulação de colônia granulócito-macrófago (GM-CSF), pelo TNF-α e pela linfotoxina (TNF-β), que são produzidos no início da infecção pelas células NK e NKT ou mais tarde pelas células T CD4. A ativação dos macrófagos é necessária para que os mesmos eliminem os microrganismos internalizados.

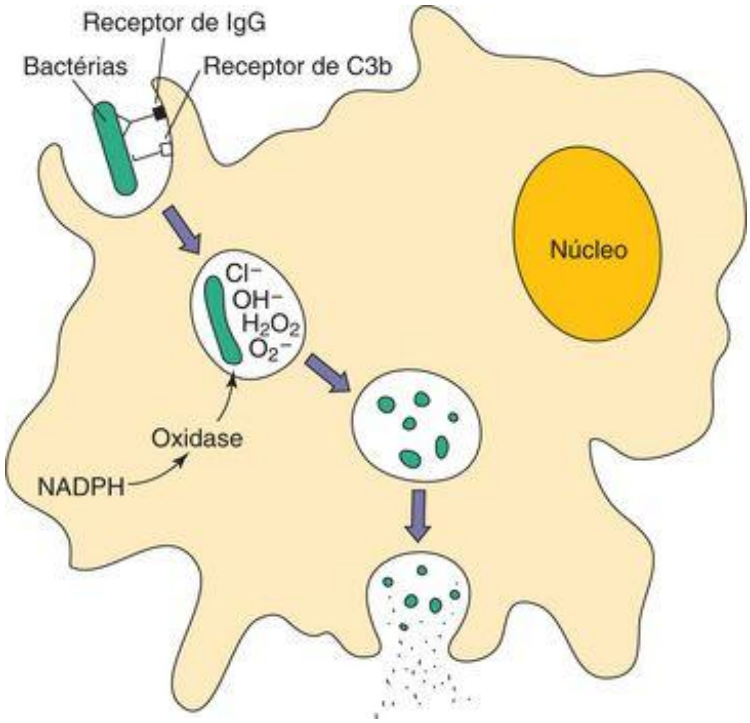


Figura 12-4 Fagocitose e eliminação das bactérias. As bactérias são ligadas diretamente ou opsonizadas pela proteína de ligação à manose, receptores de imunoglobulina G (IgG) e/ou de C3b promovendo a adesão e a captação pelos fagócitos. Dentro do fagossomo, mecanismos dependentes de oxigênio e independentes de oxigênio matam e degradam as bactérias. NADPH, forma reduzida da nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato.

A **eliminação dependente de oxigênio** é ativada por uma poderosa explosão oxidativa que culmina na formação de peróxido de hidrogênio e outras substâncias antimicrobianas

(Quadro 12-3). No neutrófilo, mas não no macrófago, o peróxido de hidrogênio com a **mieloperoxidase** (liberada pelos grânulos primários durante a fusão com o fagolisossomo) transforma os íons cloreto em íons hipoclorosos que matam os microrganismos. O **óxido nítrico** produzido pelos neutrófilos e os macrófagos ativados possui atividade antimicrobiana, sendo também uma molécula de segundo mensageiro importante (como o monofosfato de adenosina cíclica [AMPc], que aumenta a resposta inflamatória e as demais respostas.

Quadro 12-3 Compostos Antibacterianos do Fagolisossomo

Compostos Dependentes de Oxigênio

Peróxido de hidrogênio: NADPH oxidase e NADH oxidase

Superóxido

Radicais hidroxila ($\bullet OH^-$)

Haletos ativados (Cl^-, I^-, Br^-): mieloperoxidase (neutrófilo)

Óxido nitroso

Compostos Independentes de Oxigênio

Ácidos

Lisossomo (degrada o peptidoglicano bacteriano)

Lactoferrina (quela o ferro)

Defensinas e outras proteínas catiônicas (danifica as membranas)

Proteases, elastase, catepsina G

O **neutrófilo** também pode mediar a **eliminação independente do oxigênio** na fusão do fagossomo com os grânulos azurofílicos contendo proteínas catiônicas (p. ex., catepsina G) e com os grânulos específicos contendo lisozima e lactoferrina. Estas proteínas matam as bactérias Gram negativas ao romperem a integridade de sua membrana celular, mas são bem menos eficazes contra as bactérias Gram positivas, que são eliminadas principalmente através do mecanismo dependente do oxigênio.

Os neutrófilos contribuem para a inflamação de diversas maneiras. As prostaglandinas e os leucotrienos, que aumentam a permeabilidade vascular, são liberados, provocando inchaço (edema) e estimulando os receptores da dor. Além disso, durante a fagocitose os grânulos podem extravasar seus conteúdos, provocando dano tecidual. Os neutrófilos possuem vida curta; neutrófilos mortos produzem **pus**.

Além dos macrófagos do tecido, os **macrófagos esplênicos** são importantes para remover as bactérias, especialmente as encapsuladas, do sangue. Os indivíduos asplênicos (congênita ou cirurgicamente) são altamente suscetíveis à pneumonia, meningite e outras manifestações de *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis* e outras bactérias encapsuladas.

Respostas Induzidas por Citocina

O LPS e outros componentes da parede celular bacteriana estimulam as células dendríticas imaturas e os macrófagos a liberar interleucinas IL-1, IL-6, TNF-α e quimiocinas. Estas citocinas são **pirogênios endógenos** porque promovem a produção de **febre** e acentuam a resposta inflamatória ao ativarem subsequentemente os macrófagos e promoverem a resposta de fase aguda. A **resposta de fase aguda** (Quadro 12-4) é disparada pela IL-1, IL-6, TNF-α, inflamação, lesão ao tecido, prostaglandina E_2 e interferons associados à infecção (Quadro 12-5). A resposta de fase aguda promove mudanças que dão suporte às defesas do hospedeiro e que incluem febre, anorexia, sonolência, alterações metabólicas e produção de proteínas. As proteínas de fase aguda produzidas e liberadas no soro incluem a proteína C-reativa, os componentes do complemento, as proteínas de coagulação, as proteínas de ligação ao LPS, as proteínas de transporte, os inibidores de protease e as proteínas de adesão. A **proteína C-reativa** forma um complexo com os polissacarídeos das muitas bactérias e fungos e ativa a via do complemento, facilitando a remoção desses organismos do corpo através da maior fagocitose. As proteínas da fase aguda reforçam as defesas inatas contra a infecção, mas sua produção excessiva durante a sepse (induzida pelo endotoxina) pode causar problemas graves como o choque.

Quadro 12-4 Produtos Secretados dos Macrófagos com um Efeito Protetor no Corpo

CSF, fator de estimulação de colônia; G, granulócito; IL, interleucina; M, macrófago; TNF, fator de necrose tumoral.

Citocinas de fase aguda: IL-6, TNF-α e IL-1 (pirogênios endógenos)

Outras citocinas: IL-12, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, interferon-α

Fatores citotóxicos
- Metabólitos do oxigênio:
  - Peróxido de hidrogênio
  - Ânion superóxido
  - Óxido nítrico
- Enzimas hidrolíticas:
  - Colagenase
  - Lípase
  - Fosfatase
- Componentes do complemento:
  - C1 até C5
  - Properdina
  - Fatores B, D, H e I
- Fatores de coagulação
- Proteínas plasmáticas
- Metabólitos do ácido araquidônico:
  - Prostaglandina
  - Tromboxano
  - Leucotrienos

Quadro 12-5 Proteínas de Fase Aguda

α_1–Antitripsina

α_1–Glicoproteína

Amiloides A e P

Antitrombina III

Proteína C-reativa

Inibidor de esterase C1

Complemento C2, C3, C4, C5, C9

Ceruloplasmina

Fibrinogênio

Haptoglobina

Orosomucoide

Plasminogênio

Transferrina

Proteína de ligação a lipopolissacarídeo

Proteína de ligação à manose

As células dendríticas imaturas, os macrófagos e outras células da linhagem dos macrófagos exercem muitos papéis além da fagocitose das bactérias e dos antígenos (Fig. 12-5), sendo importante na transição entre as respostas antígeno-inespecífica e antígeno-específica. As células dendríticas imaturas e os macrófagos produzem IL-12, que ativam as células NK no local da infecção e iniciam a resposta TH1.

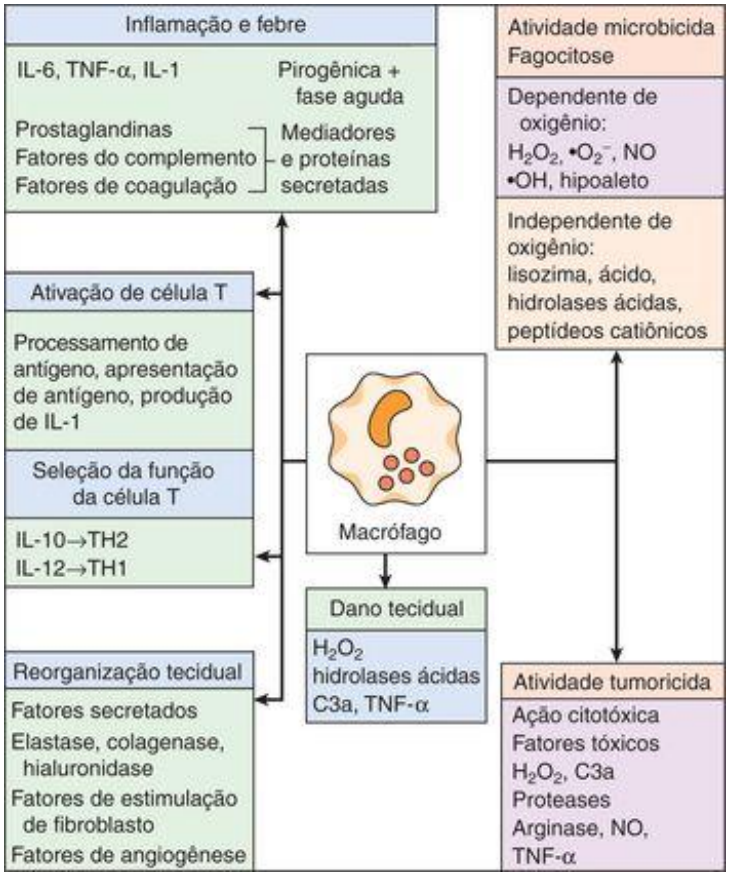


Figura 12-5 As muitas funções dos macrófagos e membros da família dos macrófagos. IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral.

(Fonte: Roitt et al: Immunology, 4ª ed. St. Louis, Mosby, 1996.)

As **células T** γ/δ no tecido e no sangue percebem os metabólitos de amina fosforilada de algumas bactérias (*Escherichia coli*, micobactérias), mas não de outras (estreptococos, estafilococos). As células dendríticas podem apresentar glicolipídios bacterianos para ativar as células **NK1-T**. Estas células T e NK produzem IFN-γ, que ativa os macrófagos e as células dendríticas para reforçar um ciclo TH1 protetor de citocinas e reações inflamatórias celulares locais.

Inflamação Aguda

A **inflamação aguda** é um mecanismo de defesa precoce para conter uma infecção, impedir a sua disseminação a partir do foco inicial e sinalizar as respostas imunes específicas subsequentes. Os três eventos principais na inflamação aguda são (1) expansão dos capilares para aumentar o fluxo sanguíneo (provocando rubor ou exantema e liberando calor); (2) aumento na permeabilidade da estrutura microvascular para permitir a saída de fluido, proteínas plasmáticas e leucócitos da circulação (intu mescimento ou edema); e (3) recrutamento de neutrófilos, como acúmulo e resposta à infecção no local da lesão.

As respostas inflamatórias são benéficas, mas estão associadas à dor, rubor, calor e inchaço, podendo causar também dano tecidual. Os mediadores da inflamação se encontram relacionados na Tabela 12-3. O dano tecidual é provocado até certo ponto pelo complemento e pelos macrófagos, mas principalmente pelos neutrófilos. Os neutrófilos mortos são um componente importante do **pus**. As cininas e os fatores de coagulação induzidos pelo dano tecidual (p. ex., fator XII [fator de Hageman], bradicinina, fibrinopeptídeos) também estão envolvidos na inflamação. Estes fatores aumentam a permeabilidade vascular e são quimiotáticos para os leucócitos. Os produtos do metabolismo do ácido araquidônico também afetam a inflamação. A ciclooxigenase-2 (COX-2) e a 5-lipooxigenase convertem o ácido araquidônico em **prostaglandinas e leucotrienos**, respectivamente, que podem mediar cada aspecto da inflamação aguda. O curso da inflamação pode ser seguido pelo aumento rápido nas proteínas da fase aguda, especialmente a proteína C-reativa (aumentando mil vezes em 24 a 48 horas) e o amiloide A sérico.

Tabela 12-3 Mediadores da Inflamação Aguda e Crônica

Ação	Mediadores
Inflamação Aguda	
Permeabilidade vascular aumentada	Histamina, bradicinina, C3a, C5a, leucotrienos, PAF, Substância P

Vasodilatação	Histamina, prostaglandinas, PAF, Óxido nítrico
Dor	Bradicinina, prostaglandinas
Adesão leucocitária	LTB4, IL-1, TNF–α, C5a
Quimiotaxia leucocitária	C5a, C3a, IL-8, Quimiocinas, PAF, Leucotrieno B4
Resposta de fase aguda	IL-1, IL-6, TNF–α
Dano tecidual	Proteases, radicais livres, NO, conteúdos dos grânulos do neutrófilo
Febre	IL-1, TNF, prostaglandinas
Inflamação Crônica	
Ativação das células T e macrófagos; processos da fase aguda	Citocinas das células T (IFN–γ, TNF) e dos macrófagos (IL-1, TNF–α, IL-12)

Fonte: Novak R: Crash Course Immunology. Philadelphia, Mosby, 2006.

Resposta Antígeno-específica ao Desafio Bacteriano

Na ingestão das bactérias e na estimulação dos TLRs pelos componentes bacterianos, a célula dendrítica imatura (iDC) amadurece para uma célula dendrítica (DC), para de fagocitar e se move para os linfonodos para processar e liberar o seu antígeno internalizado visando a apresentação às células T (Figs. 12-2 e 12-6). Os peptídeos antigênicos (que possuem mais de 11 aminoácidos) produzidos a partir das proteínas fagocitadas (via exógena) são ligados às moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e apresentados por essas células apresentadoras de antígeno (APCs) às células CD4 TH0 *naïve*. As células T CD4 são ativadas por uma combinação do (1) peptídeo antigênico no complexo MHC II com o receptor antigênico de célula T e a CD4; (2) pelos sinais coestimuladores fornecidos pela interação das moléculas CD28 nas células T com a molécula B7 na DC; e (3) pela IL-1, IL-12 e outras citocinas produzidas pela DC. Além disso, a IL-6 produzida pela DC inibe a produção das citocinas supressoras (fator β de crescimento e transformação [TGF-β] e IL-10) pelas células T reguladoras $CD4^+CD25^+$ para permitir a ativação das células T *naïve*. As células TH0 produzem IL-2, IFN-γ e IL-4. Simultaneamente, os antígenos bacterianos se fixam à superfície da DC ou o antígeno livre interage com as células B que expressam IgM e IgD de superfície específicas para o antígeno e ativam a célula para crescer e produzir IgM. Os polissacarídeos da parede celular microbiana, especialmente o LPS e também o componente C3d do complemento, ativam as células B e promovem as respostas de anticorpo específicas de IgM. Os linfonodos intumescidos são uma indicação da ativação dos linfócitos em resposta ao desafio antigênico.

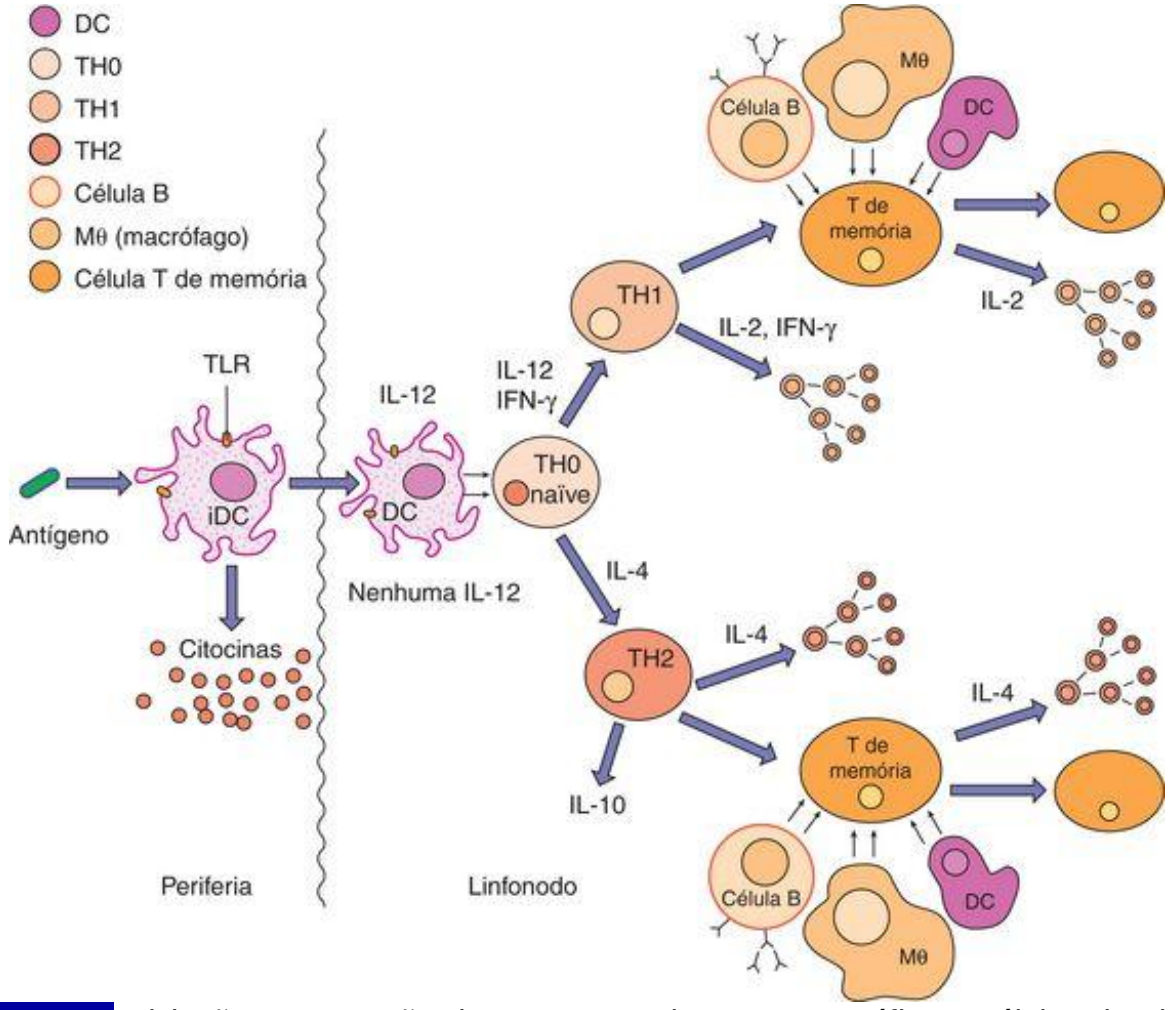


Figura 12-6 Iniciação e expansão das respostas imunes específicas. Células dendríticas imaturas no sítio da infecção adquirem bactérias e resíduos, componentes bacterianos ativam a célula através dos receptores *Toll-like* e as DCs amadurecem, se movem para o linfonodo e

apresentam antígeno para as células T *naïve* para iniciar a resposta antígeno-específica. Durante uma resposta secundária ou de memória, as células B, macrófagos e DCs podem apresentar antígeno para iniciar a resposta.

A conversão das células TH0 em TH1 é promovida pela IL-12 e reforçada pelo IFN-γ. As **células CD4 TH1** (1) promovem e reforçam as respostas inflamatórias (p. ex., ativação do macrófago pelo IFN-γ) e crescimento das células T e B (IL-2) para expandir a resposta imune; e (2) fazem com que as células B produzam anticorpos de ligação ao complemento (IgM, IgG na mudança de classe). Estas respostas são importantes para as fases iniciais de uma defesa antibacteriana. As respostas TH1 também são essenciais para combater as infecções bacterianas intracelulares e as micobactérias, que se escondem do anticorpo. O IFN-γ ativa o macrófago e outros processos inflamatórios (DTH) para matar a célula infectada. A estimulação crônica das células T CD4 TH1 pelos macrófagos que expressam antígeno microbiano (micobacteriano ou histoplásmico) e a produção de IFN-γ podem provocar a transformação de outros macrófagos em células epitelioides e células gigantes, que podem circundar a infecção e produzir um granuloma. *As células T CD8 não são muito importantes para a imunidade antibacteriana*.

As respostas de **célula T CD4 TH2** ocorrem na ausência da IL-12 nos linfonodos mais distantes. Estas respostas também são iniciadas pelas células dendríticas e, depois, pela apresentação de célula B do antígeno. A ligação do antígeno ao anticorpo de superfície celular nas células B ativa essas células e também promove a captação, o processamento do antígeno e a apresentação dos peptídeos antigênicos nas moléculas MHC classe II para a célula CD4 TH2. A célula TH2 produz IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, que aumentam a produção de IgG e, dependendo de outros fatores, a produção de IgE ou IgA. A resposta TH2 também promove a diferenciação terminal das células B em plasmócitos, as fábricas de anticorpos. As **células T reguladoras $CD4^+CD25^+$** restringem ambas as respostas TH1 e TH2 e promovem o desenvolvimento de algumas células antígeno-específicas em células T de memória.

Os **anticorpos** são a proteção básica contra as bactérias extracelulares e a reinfecção. O anticorpo é importante para promover a ativação do complemento, opsonizando as bactérias para a fagocitose, bloqueando a adesão bacteriana e neutralizando (inativando) as exotoxinas (p. ex., tetanospasmina, toxina botulínica) e outras proteínas citotóxicas produzidas pelas bactérias (p. ex., enzimas degradativas). A imunização com vacina usando exotoxinas inativadas (toxoides) é o meio básico de proteção contra os efeitos potencialmente letais das exotoxinas.

Os anticorpos **IgM** são produzidos logo no início da resposta antibacteriana. A IgM ligada às bactérias ativa a cascata clássica do complemento, promovendo não apenas a eliminação direta das bactérias Gram negativas como também as respostas inflamatórias. O tamanho grande da IgM limita a sua capacidade de se espalhar no tecido. Mais adiante na resposta imune, a célula T ajuda a promover a diferenciação da célula B e a mudança de classe da imunoglobulina para produzir IgG. Os anticorpos **IgG** são o anticorpo predominante, especialmente na reincidência do desafio. Os anticorpos IgG, exceto IgG4, fixam o complemento e promovem a absorção fagocítica das bactérias através dos receptores Fc nos macrófagos. A produção de **IgA** requer citocinas TH2 e outros fatores. A IgA é o anticorpo secretor primário, sendo importante para a proteção das membranas mucosas. A IgA secretora adquire o componente secretor que promove a interação e a passagem da IgA através das células epiteliais mucosas. A IgA neutraliza a ligação das bactérias e suas toxinas nas superfícies celulares epiteliais.

Uma resposta primária antígeno-específica à infecção bacteriana leva pelo menos de 5 a 7 dias. O movimento da DC para o linfonodo pode levar de 1 a 3 dias, seguido pela ativação, expansão e maturação da resposta. Na reincidência do desafio infeccioso, as células T de memória podem responder rapidamente à apresentação do antígeno pela DC, pelo macrófago ou pelas células B, e não apenas pela DC; as células B de memória podem responder ao antígeno; e a resposta secundária ocorre em 2 a 3 dias.

Imunopatogenia Bacteriana

A ativação das respostas inflamatória e de fase aguda podem dar início a um dano tecidual e sistêmico significativos. Embora a IL-1, a IL-6 e o TNF-α promovam respostas protetoras a uma infecção local, essas mesmas respostas podem colocar a vida em risco quando ativadas por infecção sistêmica. A ativação dos macrófagos no fígado e no baço pela endotoxina pode promover a liberação de TNF-α no sangue, provocando muitos dos sintomas da **sepse**, incluindo a falência hemodinâmica, o choque e a morte (Cap. 18). Os anticorpos produzidos contra os antígenos bacterianos que compartilham determinantes com as proteínas humanas podem iniciar a destruição do tecido (p. ex., anticorpos produzidos na glomerulonefrite pós-estreptocócica e na febre reumática). A ativação não específica das células T CD4 pelos **superantígenos** (p. ex., toxina da síndrome do choque tóxico do *S. aureus*) promove a produção de grandes quantidades de citocinas e, consequentemente, a morte de grandes quantidades de células T. A liberação súbita e maciça de citocinas ("tempestade de citocinas") pode provocar o choque e o dano tecidual grave (p. ex., síndrome do choque tóxico) (Cap. 18).

Evasão Bacteriana das Respostas Protetoras

O mecanismo usado pelas bactérias para fugir das respostas protetoras do hospedeiro são discutidos no Capítulo 18 como fatores de virulência. Estes mecanismos incluem (1) a inibição da fagocitose e a morte intracelular no fagócito; (2) a inativação da função do complemento; (3) a clivagem da IgA; (4) o crescimento intracelular (escape do anticorpo); e (5) alteração no aspecto antigênico bacteriano. Alguns microrganismos, além das micobactérias (e também das espécies de *Listeria* e *Brucella*), sobrevivem e se multiplicam dentro dos macrófagos, usando-os como uma reserva protetora ou sistema de transporte para ajudar a disseminar os microrganismos pelo corpo. Entretanto, os macrófagos ativados por citocina podem matar os patógenos intracelulares.

Respostas Antivirais

Defesas do Hospedeiro contra a Infecção Viral

A resposta imune é o melhor e, na maioria dos casos, o único meio de controlar uma infecção viral (Fig. 12-7). Infelizmente, também é a fonte da patogenia em muitas doenças virais. As respostas imunes humoral e celular são importantes para a imunidade antiviral. Diferente da infecção bacteriana, o objetivo final da resposta imune numa infecção viral é eliminar tanto o vírus quanto as células do hospedeiro que abrigam ou replicam esse vírus. Os interferons, as células NK, as respostas TH1 CD4 e as células T *killer* citotóxicas CD8 são mais importantes para as infecções virais do que para as infecções bacterianas. A incapacidade de resolver a infecção pode levar à infecção persistente ou crônica ou à morte.

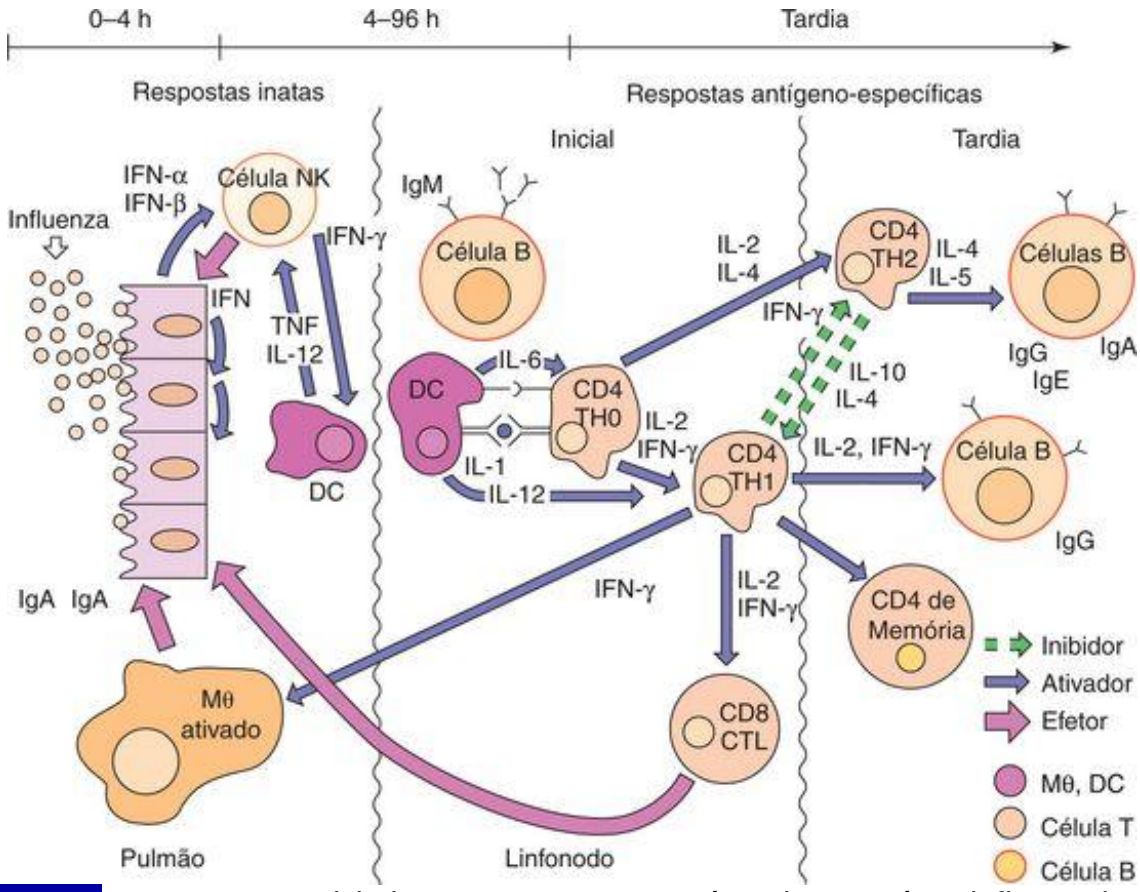


Figura 12-7 Respostas antivirais. A resposta a um vírus (p. ex., vírus influenza) começa com a produção de interferon e com a ação das células NK. A ativação da imunidade antígeno-específica lembra a resposta antibacteriana, exceto pelo fato dos linfócitos T citotóxicos CD8 (CTLs) serem respostas antivirais importantes. O intervalo de tempo dos eventos está indicado no topo da Figura. APC, célula apresentadora de antígeno; HLA, antígeno leucocitário humano; IFN, interferon; Mθ, macrófago; NK, *natural killer*; TNF, fator de necrose tumoral.

Defesas Inatas

A temperatura corporal, a febre, os interferons, as outras citocinas, o sistema fagocítico mononuclear e as células NK proporcionam uma resposta local rápida à infecção viral e também ativam as defesas imunes específicas. Muitas vezes as defesas não específicas são suficientes para controlar uma infecção viral, impedindo assim a ocorrência dos sintomas.

A infecção viral pode induzir a liberação de citocinas (p. ex., TNF, IL-1) e de interferon por células infectadas, células den dríticas imaturas e macrófagos. O RNA viral (especialmente o RNA dupla-fita), o DNA e algumas glicoproteínas virais são ativadores poderosos dos TLRs ligados à membrana, e os ácidos nucleicos virais também podem disparar os receptores citoplasmáticos de padrão do patógeno para promover essas respostas de interferon e citocina. Esses fatores proteicos solúveis disparam respostas iniciais locais e sistêmicas. A indução da febre e a estimulação do sistema imune são dois desses efeitos sistêmicos.

A temperatura corporal e a febre podem limitar a replicação de alguns vírus ou desestabilizá-los. Muitos vírus são menos estáveis (p. ex., vírus do herpes simples) ou não podem se replicar (rinovírus) em temperaturas de 37°C ou superiores.

As células do **sistema fagocítico mononuclear e dendrítico** fagocitam os restos dos vírus e das células por eles infectadas. Os macrófagos no fígado (células de Kupffer) e no baço filtram rapidamente muitos vírus do sangue. O anticorpo e o complemento ligados a um vírus facilitam a sua captação pelos macrófagos (opsonização). As células dendríticas e os macrófagos também apresentam antígeno às células T e liberam IL-1, IL-12 e IFN-α para expandir a resposta inata e iniciar a resposta imune antígeno-específica. Os macrófagos ativados também podem distinguir e matar as células-alvo infectadas.

As **células NK** são ativadas por interferon e pela IL-12 para matar as células infectadas viralmente. A infecção viral pode reduzir a expressão das moléculas do MHC ou podem alterar os carboidratos nas proteínas da superfície celular para fornecer sinais citolíticos para a célula NK.

Interferon

O **interferon** foi descrito pela primeira vez por Isaacs e Lindemann como um fator que "interfere" na replicação de muitos vírus diferentes. O interferon é a *primeira* defesa ativa do corpo contra uma infecção viral, um "sistema de alerta inicial" nos níveis local e sistêmico. *Além de ativar uma defesa antiviral da célula-alvo para bloquear a replicação viral, os interferons ativam a resposta imune e aumentam o reconhecimento, pela célula T, da célula infectada*. O interferon é uma defesa muito importante contra infecção, mas também é a causa dos sintomas sistêmicos associados com muitas infecções virais, como mal-estar, mialgia, calafrios e febre (sintomas não específicos similares à gripe), especialmente durante a viremia.

O IFN consiste numa família de proteínas que pode ser subdividida de acordo com várias propriedades, incluindo o tamanho, a estabilidade, a célula de origem e o modo de ação (Tab. 12-4). O **IFN-**α e o **IFN-**β são interferons do tipo 1 que compartilham muitas propriedades, incluindo a homologia estrutural e o modo de ação. As células B, as células epiteliais, os monócitos, macrófagos e células dendríticas imaturas produzem **IFN-**α. Os fibroblastos e outras células produzem **IFN-**β em resposta à infecção viral e a outros estímulos. O **IFN**-γ é um interferon do tipo 2, uma citocina produzida pela célula T ativada e pelas células NK num estágio mais avançado da infecção. Apesar de o IFN-γ inibir a replicação viral, a sua estrutura e o modo de ação são diferentes dos outros interferons. O IFN-γ também é conhecido como **fator de ativação de macrófago**, sendo um componente determinante da resposta TH1.

Tabela 12-4 Propriedades Básicas dos Interferons Humanos (IFNs)

Tabela 12-4. Propriedades Básicas dos Interferons Humanos (IFNs)

Propriedade	IFN-α	IFN-β	IFN-γ
Designações prévias	IFN leucocitário Tipo I	IFN de fibroblasto Tipo I	IFN imune Tipo I
Genes	>20	1	1
Massa molecular (Da)*			
Subtipos principais	16.000-23.000	23.000	20.000-25.000
Clonado†	19.000	19.000	16.000
Glicosilação	Não‡	Sim	Sim
Estabilidade em pH 2	Estável‡	Estável	Lábil
Indução	Vírus	Vírus	Ativação imune
Fonte principal	Epitélio, Leucócitos	Fibroblasto	Linfócito
Íntrons no gene	Não	Não	Sim
Homologia com o IFN-α humano	100%	30%-50%	<10%

Dados de White DO: Antiviral Chemotherapy, Interferons and Vaccines. Basel, Switzerland, Karger, 1984; Samuel CE: Virology 183:1-11, 1991.
**Massa molecular da forma monomérica.*
†Forma não glicosilada, como a produzida nas bactérias pela tecnologia de DNA recombinante.
‡A maioria dos subtipos, mas não todos.

*O melhor indutor da produção de IFN-*α *e IFN-*β *é o* **RNA dupla-fita (dsRNA)**, *produzido como os intermediários replicativos dos vírus RNA* ou a partir da interação dos RNAs mensageiros (mRNAs) sentido/antissentido para alguns vírus DNA (Quadro 12-6). Uma molécula de dsRNA por célula é suficiente para induzir a produção de interferon. A interação de alguns vírus envelopados (p. ex., vírus do herpes simples e vírus da imunodeficiência humana - HIV) com as células dendríticas imaturas pode promover a produção de IFN-α. Alternativamente, a inibição da síntese proteica numa célula infectada viralmente pode

diminuir a produção de uma proteína repressora do gene do interferon, permitindo a expressão desse gene. Os indutores não virais de interferon incluem os seguintes:

1. Microrganismos intracelulares (p. ex., micobactérias, fungos e protozoários)
2. Ativadores de determinados TLRs ou mitógenos (p. ex., endotoxinas, fito-hemaglutinina)
3. Polinucleotideos bifilamentares (p. ex., poli I:C, poli dA:dT)
4. Polímeros polianiônicos sintéticos (p. ex., polissulfatos, polifosfatos, pirano)
5. Antibióticos (p. ex., canamicina, cicloheximida)
6. Compostos sintéticos de baixo peso molecular (p. ex., tilorona, corantes de acridina)

Quadro 12-6 Interferons

Indução

Ácido ribonucleico dupla-fita (dsRNA) (p. ex., intermediário de vírus RNA)

Inibição viral da síntese proteica celular

Interação de vírus envelopado com a célula dendrítica imatura

Mecanismo de Ação

A célula inicialmente infectada libera interferon

O interferon se liga a um receptor de superfície celular específico em outra célula

O interferon induz o “estado antiviral”:
Síntese da proteína cinase R (PKR), 2′,5′–oligodenilato sintetase e ribonuclease L

A infecção viral da célula ativa estas enzimas

A síntese proteica é inibida para bloquear a replicação viral
Degradação do mRNA (2′,5′–oligoadenilato sintetase e RNAase L)
Inibição da montagem do ribossomo (PKR)

Iniciação das respostas antivirais inata e imune

O IFN-α e o IFN-β podem ser induzidos e liberados em horas de infecção (Fig. 12-8). O interferon se liga a receptores específicos nas células da vizinhança e induz à produção de proteínas antivirais – **o estado antiviral**. Contudo, estas proteínas antivirais não são ativadas até que se liguem ao dsRNA. Os principais efeitos antivirais do interferon são produzidos por duas enzimas, **2′,5′-oligoadenilato sintetase** (uma polimerase incomum) e **proteína cinase R (PKR)** (Fig. 12-9); para o influenza, a **proteína mx** também é importante. A infecção viral da célula e a produção de dsRNA ativam estas enzimas e disparam uma cascata de eventos bioquímicos que leva (1) à inibição da síntese proteica pela fosforilação da PKR de um fator de iniciação ribossômico importante (fator de iniciação do prolongamento 2-alfa [eIF-2α]); e (2) à degradação do mRNA (preferencialmente mRNA viral) pela ribonuclease L, ativada pela 2′,5′-oligoadenosina. Este processo coloca essencialmente a fábrica de síntese proteica celular “em greve” e impede a replicação viral. Deve ser enfatizado que o interferon não bloqueia diretamente a replicação viral. O estado antiviral dura de 2 a 3 dias, o que deve ser suficiente para que a célula degrade e elimine o vírus sem ser morta.

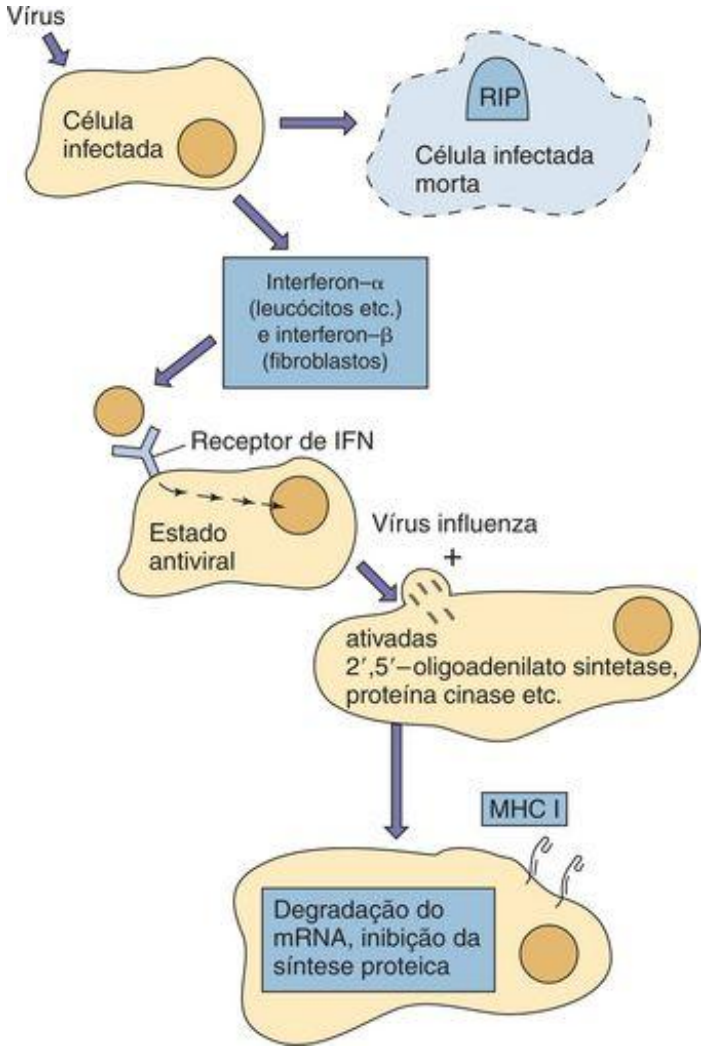


Figura 12-8 Indução do estado antiviral pelo interferon–α ou interferon–β. O interferon é produzido em resposta à infecção viral, mas não afeta a célula inicialmente infectada. O interferon se liga a um receptor de superfície celular em outras células e induz à produção das enzimas antivirais (estado antiviral). A infecção e a produção do RNA dupla-fita induz a atividade antiviral. MHC I, molécula de classe I do complexo principal de histocompatibilidade

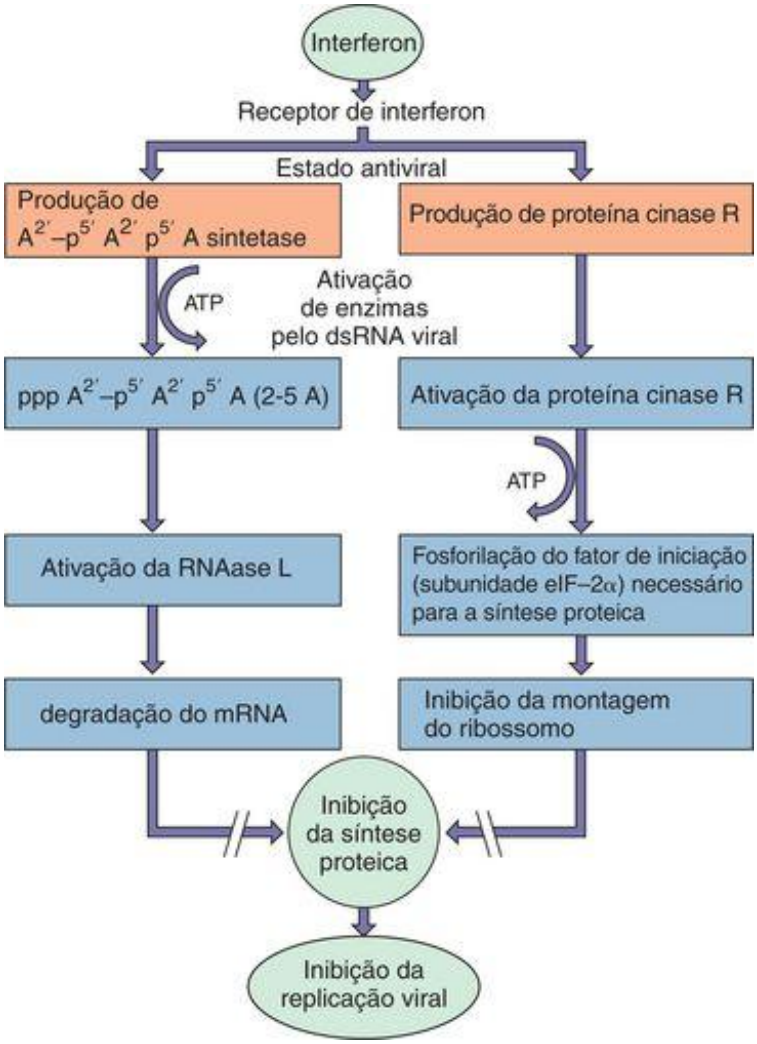


Figura 12-9 As duas vias principais de inibição da síntese proteica viral pelo interferon. Um mecanismo envolve a indução de uma polimerase incomum (2′,5′–oligoadenilato sintetase [2–5A]) que é ativada pelo RNA dupla-fita (dsRNA). A enzima ativada sintetiza uma cadeia de adenina incomum com uma ligação 2′,5′–fosfodiester. O oligômero ativa a RNAase L que degrada o RNA mensageiro (mRNA). O outro mecanismo envolve a indução da proteína cinase R (PKR), que impede a montagem do ribossomo pela fosforilação do fator de iniciação do alongamento (eIF–2α), visando impedir a iniciação da síntese proteica. ATP, trifosfato de adenosina.

Os interferons estimulam a imunidade mediada por célula ao ativarem as células efetoras e melhorarem o reconhecimento da célula-alvo infectada viralmente. Os interferons estimulam as células pré-NK a se diferenciarem em células NK visando *ativar uma defesa inicial, local e natural contra a infecção*. A ativação dos macrófagos pelo IFN-γ promove a produção de mais IFN-α e IFN-β, a secreção de outros modificadores de resposta biológica, a fagocitose e as respostas inflamatórias. O IFN-γ aumenta a expressão das moléculas MHC de classe II no macrófago para ajudar a promover a apresentação do antígeno às células T. O IFN-α e o IFN-β aumentam a expressão das moléculas MHC de classe I, aumentando a capacidade da célula em apresentar antígeno e tornando-a um alvo melhor para as células T citotóxicas (CTLs).

O interferon também possui efeitos reguladores amplamente disseminados no crescimento celular, na síntese proteica e na resposta imune. Todos os três tipos de interferon bloqueiam a proliferação da célula em doses apropriadas.

O interferon recombinante criado por engenharia genética está sendo empregado como uma terapia antiviral em algumas infecções por vírus (p. ex., vírus do papiloma humano e da hepatite C). O tratamento eficaz requer o uso do(s) subtipo(s) correto(s) de interferon e a sua imediata liberação na concentração adequada. O uso do IFN-β para o tratamento da esclerose múltipla se baseia na prevenção da apresentação da proteína básica mielina pelas DCs. Os interferons têm sido empregados em ensaios clínicos para o tratamento de determinados cânceres. Porém, o tratamento com interferon possui efeitos colaterais similares aos da gripe,

como calafrios, febre e fadiga.

Imunidade Antígeno-específica

A imunidade humoral e a imunidade mediada por célula exercem papéis diferentes na resolução das infecções virais (*i.e.*, eliminação do vírus do corpo). A imunidade humoral (anticorpo) age principalmente nos vírions extracelulares, enquanto a imunidade mediada por célula (células T) é direcionada para a célula produtora de vírus (Fig. 12-7).

Imunidade Humoral

Praticamente todas as proteínas virais são estranhas ao hospedeiro, sendo imunogênicas (*i.e.*, capazes de desencadear uma resposta de anticorpo). Entretanto, nem todos os imunógenos desencadeiam a imunidade protetora.

O anticorpo bloqueia a evolução da doença através da **neutralização e da opsonização** dos vírus livres das células. As respostas de anticorpo protetoras são geradas visando as proteínas dos capsídeos virais dos vírus nus e as glicoproteínas dos vírus envelopados que interagem com os receptores da superfície celular (proteínas de fixação viral). Estes anticorpos podem neutralizar o vírus impedindo a interação viral com as células-alvo ou desestabilizando o vírus, iniciando assim a sua degradação. A ligação do anticorpo a estas proteínas também opsoniza o vírus, promovendo a sua captação e depuração pelos macrófagos. O reconhecimento das células infectadas pelo anticorpo também pode promover a citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) pelas células NK. Os anticorpos para outros antígenos virais podem ser úteis para a análise sorológica da infecção viral (Quadro 12-7).

Quadro 12-7 Resumo das Respostas Antivirais

Interferon

O interferon é induzido pelo RNA dupla-fita, pela inibição da síntese proteica celular ou pelo vírus envelopado.

O interferon inicia o estado antiviral nas células circundantes.

O interferon bloqueia a replicação local do vírus.

O interferon inicia as respostas antivirais sistêmicas.

Células *Natural Killer* (NK)

As células NK são ativadas pelo interferon–α (IFN–α) e pela IL-12, ativando os macrófagos (IFN–γ).

As células NK buscam e matam as células infectadas por vírus (especialmente os vírus envelopados).

Macrófagos e Células Dendríticas

Os macrófagos filtram as partículas virais do sangue.

Os macrófagos inativam as partículas virais opsonizadas.

As células dendríticas imaturas (iDCs) produzem IFN–α e outras citocinas.

A DC inicia a resposta das células T CD4 e CD8.

A DC e o macrófago apresentam antígeno para as células T CD4.

Células T

As células T são essenciais para controlar as infecções por vírus envelopados e não citolíticos.

As células T reconhecem os peptídeos virais apresentados pelas moléculas do complexo de principal histocompatibilidade (MHC) nas superfícies das células.

Os peptídeos virais antigênicos (epítopos lineares) podem vir de qualquer proteína viral (p. ex., glicoproteínas, nucleoproteínas).

As respostas TH1 CD4 são mais importantes do que as respostas TH2.

As células T CD8 citotóxicas respondem aos complexos peptídeo viral: proteínas do MHC classe I na superfície da célula.

As respostas TH2 CD4 são importantes para a maturação da resposta de anticorpo.

As respostas TH2 CD4 podem ser prejudiciais se limitarem prematuramente as respostas TH1 inflamatória e citolítica.

Anticorpo

O anticorpo neutraliza o vírus extracelular:

Ele bloqueia as proteínas de fixação do vírus (p. ex., glicoproteínas, proteínas do capsídeo).

Ele desestabiliza a estrutura viral.

O anticorpo opsoniza o vírus para a fagocitose.

O anticorpo promove a morte da célula-alvo pela cascata do complemento e pela citotoxicidade celular dependente de anticorpo.

O anticorpo resolve as infecções virais líticas.

O anticorpo bloqueia a disseminação virêmica para o tecido-alvo.

A IgM é um indicador de infecção recente ou atual.

A IgG é um antiviral mais eficaz do que a IgM.

A IgA secretora é importante para proteger as superfícies mucosas.

O principal papel antiviral do anticorpo é impedir a disseminação do vírus extracelular para as outras células. O anticorpo é especialmente importante na limitação da disseminação do vírus pela **viremia**, impedindo-o de atingir o tecido-alvo para a produção da doença. O anticorpo é mais eficaz na resolução das infecções citolíticas. A resolução ocorre porque o vírus mata a fábrica celular e o anticorpo elimina o vírus extracelular. O anticorpo é a principal defesa iniciada pela vacinação.

Imunidade de Célula T

A imunidade mediada por células T promove as respostas de anticorpo e inflamatória (células T CD4 auxiliares) e mata as células infectadas (células T citotóxicas [CD4 e CD8]) (Quadro 12-7). A resposta **TH1 CD4** geralmente é mais importante do que as respostas TH2 no controle de uma infecção viral, especialmente em relação aos vírus não citolíticos e envelopados. As **CTLs** induzem a apoptose na interação de sua proteína ligante de Fas com a proteína Fas na célula-alvo. As células T **CD8** *killer* também podem matar as células após o seu receptor de célula T se ligar a um peptídeo viral apresentado por uma proteína MHC de classe I. Os peptídeos expressos nos antígenos MHC de classe I são obtidos a partir das proteínas virais sintetizadas dentro da célula infectada (via endógena). *A proteína viral a partir da qual esses peptídeos são derivados pode não desencadear o anticorpo protetor* (p. ex., proteínas de vírion intracelulares ou internas, proteínas nucleares, proteínas inadequadamente dobradas ou processadas [lixo celular]), além das glicoproteínas virais. Por exemplo, a matriz e as nucleoproteínas do vírus influenza e a proteína ICP4 (nuclear) do vírus do herpes simples são alvos para a lise por CTL, mas não desencadeiam anticorpo protetor. É formada uma **sinapse imune** pelas interações do TCR e do MHC I, correceptores, e das moléculas de adesão, sendo que a **perforina**, uma proteína formadora de poro de membrana tipo complemento, e as granzimas (enzimas de degradação) são liberadas neste espaço entre a CTL e a célula-alvo, induzindo a apoptose nesta última.

A resposta de CTL CD8 evoluiu provavelmente como uma defesa contra a infecção viral. A imunidade mediada por célula é especialmente importante na resolução das infecções por vírus formadores de sincícios (p. ex., sarampo, herpes simples e varicela-zóster), que podem se espalhar de célula para célula sem exposição ao anticorpo; por vírus não citolíticos (p. ex., vírus da hepatite A e do sarampo); e para controlar vírus latentes (vírus do herpes e papilomavirus). *AS CTLs matam as células infectadas e, consequentemente, eliminam a fonte de novos vírus*.

Resposta Imune ao Desafio Viral

Desafio Viral Primário

As respostas inatas do hospedeiro são as primeiras respostas ao desafio viral, sendo frequentemente suficientes para limitar a disseminação viral (Fig. 12-7). O **interferon** produzido em resposta à maioria das infecções virais inicia a proteção das células adjacentes, melhora a apresentação de antígeno aumentando a expressão das moléculas do MHC e inicia a depuração das células infectadas ativando as células NK e as respostas antígeno-específicas. O vírus e os componentes virais liberados das células infectadas são fagocitados pelas **células dendríticas imaturas** e as ativam para produzir citocinas, movendo-se depois para os linfonodos. Os macrófagos no fígado e no baço são especialmente importantes para limpar o vírus da corrente sanguínea (filtros). Estas células fagocíticas degradam e processam os antígenos virais. As células dendríticas apresentam os fragmentos peptídicos apropriados ligados às moléculas do MHC de classe II para as células T CD4 e também podem fazer a apresentação cruzada desses antígenos nas moléculas do MHC I para as células T CD8 para iniciar a resposta. As APCs também liberam IL-1, IL-6 e TNF para induzir a febre e, com a IL-12, promover a ativação das células T auxiliares e a produção específica de citocina (resposta TH1). As células T ativadas se movem para o local da infecção e para as áreas de célula B do linfonodo; já os macrófagos e as células B apresentam antígeno e são estimuladas pelas células T.

As respostas antivirais antígeno-específicas são similares às respostas antibacterianas antígeno-específicas, exceto pela célula T CD8 exercer um papel mais importante. A **IgM** é produzida aproximadamente 3 dias após a infecção. Sua produção indica uma infecção primária. A **IgG** e a **IgA** são produzidas de 2 a 3 dias após a IgM. A IgA secretora é criada em resposta a um desafio viral das superfícies mucosas nas aberturas naturais do corpo (*i.e.*, olhos, boca e sistemas respiratório e gastrintestinal). As células T **CD4** e **CD8** ativadas estão presentes aproximadamente ao mesmo tempo da IgG sérica. Durante a infecção, a quantidade de células T CD8 específicas para o antígeno pode aumentar de 50.000 a 100.000 vezes. As células T CD8 antígeno-específicas se movem para o local da infecção e matam as células infectadas viralmente. O reconhecimento e a ligação às células-alvo que expressam peptídeo viral ligado ao MHC de classe I promovem a morte por apoptose das células-alvo, seja através da liberação de perforina e granzimas (para romper a membrana celular) ou pela ligação do ligante de Fas com a Fas na célula-alvo. A resolução da infecção ocorre mais tarde, quando há a disponibilidade de anticorpos suficientes para neutralizar toda a progênie viral ou quando a imunidade celular tiver sido capaz de alcançar e eliminar as células infectadas. Para a resolução da maioria das infecções virais envelopadas e não citolíticas, as respostas mediadas por TH1 são necessárias (além do anticorpo) para eliminar a fábrica viral.

As infecções virais do cérebro e do olho podem provocar danos graves porque esses tecidos não podem ser reparados e são **sítios imunologicamente privilegiados** do corpo. As respostas de célula T são suprimidas para impedir a destruição grave do tecido que acompanha a inflamação. Estes locais dependem do controle da infecção inato, por citocina e anticorpo. Se as res postas mediadas por célula se fizerem necessárias, resulta quase sempre o dano tecidual permanente.

As respostas imunes mediadas por célula e de IgG não aparecem antes de 6 a 8 dias após o desafio viral. Em muitas infecções virais, isto ocorre após as respostas inatas terem controlado a replicação viral. Contudo, em outras infecções virais este período viabiliza a expansão da infecção pelo vírus, a sua disseminação pelo corpo e a infecção do tecido-alvo, causando a doença (p. ex., cérebro: encefalite, fígado: hepatite). A resposta à infecção expandida pode demandar uma resposta imune maior e mais intensa, o que inclui com frequência a imunopatogenia e o dano tecidual que causam os sintomas da doença.

Desafio Viral Secundário

Em toda guerra é mais fácil eliminar um inimigo se a sua identidade e origem forem conhecidas e for impedido o estabelecimento de sua base de operações. De modo semelhante no corpo humano, a imunidade prévia, estabelecida pela infecção ou vacinação prévias, permite a mobilização rápida e específica das defesas para impedir os sintomas da doença, promover a depuração rápida do vírus e bloquear a disseminação virêmica a partir do sítio primário da infecção para o tecido-alvo visando impedir a doença. Como consequência, a maioria dos desafios virais secundários é assintomática. Os anticorpos e as células B e T de memória estão presentes num hospedeiro imune para gerar uma resposta anamnéstica (amplificadora) mais rápida e abrangente ao vírus. A IgA secretora é produzida rapidamente para proporcionar uma defesa importante contra a reinfecção através das aberturas naturais do corpo, mas é produzida apenas temporariamente.

Os fatores do hospedeiro, virais e outros determinam o resultado da resposta imune a uma infecção viral. Os fatores do hospedeiro incluem o *background* genético, o *status* imunológico, a idade e a saúde geral do indivíduo. Os fatores virais incluem a cepa viral, a dose infecciosa e a rota de entrada. O tempo necessário para iniciar a proteção imune, o alcance da resposta, o nível de controle da infecção e o potencial para a imunopatologia (Cap. 48) resultante da infecção diferem após uma infecção primária e um novo desafio.

Mecanismos Virais para Escapar da Resposta Imune

Um fator importante na virulência de um vírus é a sua capacidade de escapar da resolução imune. Os vírus podem escapar da resolução imune fugindo da detecção, impedindo a ativação ou bloqueando o disparo da resposta imune. Exemplos específicos são apresentados na Tab. 12-5. Alguns vírus chegam a codificar proteínas especiais que suprimem a resposta imune.

Tabela 12-5 Exemplos de Evasão Viral das Respostas Imunes

Mecanismo	Exemplos Virais	Ação
Resposta Humoral		
Ocultação do anticorpo	Herpesvirus, retrovírus	Infecção latente
	Vírus do herpes simples, vírus varicela-zóster,	Infecção célula-célula (formação de

anticorpo	paramixovírus, vírus da imunodeficiência humana	sincícios)
Variação antigênica	Lentivírus (vírus da imunodeficiência humana)	Alteração genética após a infecção
	Vírus influenza	Alterações genéticas anuais
Secreção de antígeno bloqueador	Vírus da hepatite B	Antígeno de superfície da hepatite B
Diminuição do complemento	Vírus do herpes simples	Glicoproteína C, que se liga e promove à diminuição do C3
Interferon		
Bloqueio da produção	Vírus da hepatite B	Inibição da transcrição do IFN
	Vírus Epstein-Barr	Análogo da IL-10 (BCRF-1) bloqueia a produção de IFN-γ
Bloqueio da ação	Adenovirus	Inibe a regulação positiva da expressão do MHC, VA1 bloqueia a ativação do RNA dupla-fita da proteína cinase induzida por interferon (PKR)
	Vírus do herpes simples	Inativa a PKR e ativa a fosfatase (PP1) para reverter a inativação do fator de iniciação para a síntese proteica
Função da Célula Imune		
Prejudicar o funcionamento da célula dendrítica (DC)	Sarampo, hepatite C	Indução do IFN-β que inibe o funcionamento da DC
Prejudicar o funcionamento do linfócito	Vírus do herpes simples	Prevenção da morte pelas células T CD8
	Vírus da imunodeficiência humana	Mata as células T CD4 e altera os macrófagos
	Vírus do sarampo	Supressão das células NK, T e B
Fatores imunossupressores	Vírus Epstein-Barr	Supressão por BCRF (similar à IL-10) das respostas de célula T auxiliar TH1 CD4
Apresentação de Antígeno Diminuída		
Expressão reduzida de MHC classe I	Adenovirus 12	Inibição da transcrição da proteína de 19kDa do MHC classe I (gene E3) que se liga à cadeia pesada do MHC classe I bloqueando a migração para a superfície
	Citomegalovírus	A proteína H301 bloqueia a expressão de superfície da β_2-microglobulina e das moléculas de MHC classe I
	Vírus do herpes simples	ICP47 bloqueia o TAP, impedindo que o peptídeo entre no RE e se ligue às moléculas do MHC classe I
Inibição da Inflamação		
	Poxvirus, adenovírus	Bloqueio da ação da IL-1 ou do fator de necrose tumoral

IFN, interferon; IL, interleucina; MHC I, molécula classe I do complexo principal de histocompatibilidade; NK, natural killer; *PMN, neutrófilo polimorfonuclear; TAP, transportador associado com a produção de antígeno; RE, retículo endoplasmático*.

Imunopatogenia Viral

Os sintomas de muitas doenças virais são uma consequência da ação da citocina ou das respostas imunes exageradas. Os sintomas similares aos da gripe do influenza e de qualquer vírus que estabeleça uma viremia (p. ex., arbovírus) são o resultado da resposta do interferon e de outras citocinas induzidas pelo vírus. As interações do anticorpo com grandes quantidades de antígeno viral no sangue, tal como ocorre na infecção pelo vírus da hepatite B, podem levar às doenças do complexo imune. A erupção do sarampo, o amplo dano tecidual no cérebro associado à encefalite pelo vírus do herpes simples (*–ite* significa "inflamação") e o dano tecidual junto com os sintomas da hepatite resultam das respostas imunes mediadas por célula. As respostas de célula NK e de célula T mais agressivas dos adultos exacerbam algumas doenças que são benignas nas crianças, tais como o vírus varicela-zóster, a mononucleose infecciosa por vírus Epstein-Barr e a infecção por hepatite B. Mas a falta de uma resposta como essa nas crianças as torna propensas à infecção crônica da hepatite B porque a resposta é insuficiente para matar as células infectadas e resolver a infecção.

Respostas Imunes Específicas aos Fungos

As respostas protetoras primárias à infecção por fungo são promovidas pelas **reações inflamatórias mediadas por TH1**. Os pacientes deficientes nessas respostas (p. ex., pacientes com AIDS) são mais susceptíveis às infecções por fungo (oportunistas). Os **macrófagos ativados pelo IFN-**γ são importantes para matar os fungos. A produção de proteínas catiônicas pelos neutrófilos pode ser importante para algumas infecções por fungos (p. ex., mucormicose) e o óxido nítrico pode ser importante contra o *Cryptococcus* e outros fungos. O anticorpo, como uma opsonina, pode facilitar a depuração dos fungos.

Respostas Imunes Específicas aos Parasitas

É difícil generalizar em relação aos mecanismos da imunidade antiparasitária porque existem muitos parasitas diferentes possuindo formas distintas e residindo em localizações teciduais diversas durante seus ciclos de vida (Tab. 12-6). A estimulação das *respostas TH1 CD4, de célula T CD8 e de macrófago são importantes nas infecções intracelulares e as respostas de anticorpo TH2 são importantes para os parasitas extracelulares no sangue e nos fluidos*. A ação da **IgE**, do **eosinófilo** e do **mastócito** são especialmente importantes na eliminação das infecções por verme (cestódeos e nematódeos). A eficiência do controle da infecção pode depender de qual resposta é iniciada no hospedeiro. A iniciação da resposta TH2 para a infecção por *Leishmania* resulta na inibição das respostas inflamatórias protetoras e num resultado ruim. Esta observação proporcionou a base para a descoberta de que as respostas TH1 e TH2 são distintas e antagônicas. Os parasitas desenvolveram mecanismos sofisticados para evitar a depuração imune e estabelecem muitas vezes infecções crônicas.

Tabela 12-6 Exemplos de Respostas Imunes Antiparasitárias

Tabela 12-6. Exemplos de Respostas Imunes Antiparasitárias

Parasita	Hábitat	Mecanismo Efetor Principal do Hospedeiro*	Meio de Evitar
Trypanosoma brucei	Corrente sanguínea	Anticorpo + complemento	Variação antigênica
Espécies de *Plasmodium*	Hepatócito, célula sanguínea	Anticorpo, citocinas (TH1)	Variação antigênica, intracelular
Toxoplasma gondii	Macrófago	Metabolitos do O_2, NO, enzimas lisossômicas (TH1)	Inibição da fusão com lisossomos
Trypanosoma cruzi	Muitas células	Metabolitos do O_2, NO, enzimas lisossômicas (TH1)	Fuga para o citoplasma, evitando assim a digestão no lisossomo
Espécies de *Leishmania*	Macrófago	Metabolitos do O_2, NO, enzimas lisossômicas (TH1)	Prejudica a queima de O_2 e a limpeza dos produtos; evita a digestão
Trichinella spiralis	Intestino, sangue, músculo	Células mieloides, anticorpo + complemento (TH2)	Encistamento no músculo
Schistosoma mansoni	Pele, sangue, pulmões, veia porta	Células mieloides, anticorpo + complemento (TH2)	Aquisição dos antígenos do hospedeiro, bloqueio pelos anticorpos; antígenos solúveis e complexos imunes; antioxidantes
Wuchereria bancrofti	Sistema linfático	Células mieloides, anticorpo + complemento (TH2)	Cutícula extracelular espessa; antioxidantes
Helmintos	Intestino	IgE	Cutícula extracelular

Fonte: Roitt et al: Immunology, 4ª ed. St Louis, Mosby, 1996.
** O anticorpo é mais importante para os patógenos extracelulares. A imunidade mediada por célula (resposta TH1) é mais importante para os patógenos intracelulares.*

Os parasitas extracelulares, tais como o *Trypanosoma cruzi, Toxoplasma gondii* e as espécies de *Leishmania* são fagocitados pelos **macrófagos**. O **anticorpo** pode facilitar a captação (opsonização) dos parasitas. A morte dos parasitas se segue à ativação do macrófago pelo IFN-γ (produzido pelas células NK, Tγ/δ ou TH1 CD4) ou pelo TNF-α (produzido por outros macrófagos) e a indução dos **mecanismos de eliminação dependentes de oxigênio** (peróxido, superóxido, óxido nítrico). Os parasitas podem se replicar no macrófago e se esconder da detecção imune subsequente, a menos que o macrófago seja ativado pelas respostas TH1.

A produção de IFN-γ pela TH1 e a ativação dos macrófagos também são essenciais para a defesa contra os protozoários intracelulares e para o desenvolvimento de **granulomas** em

torno dos ovos e dos vermes de *Schistosoma mansoni* no fígado. O granuloma, formado por camadas de células inflamatórias, protege o fígado das toxinas produzidas pelos ovos. Entretanto, o granuloma também provoca a fibrose, a qual interrompe o fornecimento de sangue venoso ao fígado, levando à hipertensão e à cirrose.

Os **neutrófilos** fagocitam e matam os parasitas extracelulares através de mecanismos tanto dependentes quanto independentes do oxigênio. Os **eosinófilos** localizam os parasitas próximos, se ligam à IgG ou IgE na superfície das larvas ou vermes (p. ex., helmintos, *S. mansoni* e *Trichinella spiralis*), se desgranulam fundindo seus grânulos intracelulares com a membrana plasmática e liberam a **proteína básica principal** no espaço intercelular. A proteína básica principal é tóxica para o parasita.

Nas infecções parasitarias por vermes, as citocinas produzidas pelas células T CD4 TH2 são muito importantes na estimulação da produção de IgE e na ativação dos mastócitos (Fig. 12-10). A IgE ligada aos receptores Fc nos mastócitos direciona as células para os antígenos do parasita infectante. No lúmen do intestino, a ligação ao antígeno e a ligação cruzada da IgE na superfície do mastócito estimulam a liberação de histamina e de substâncias tóxicas para o parasita, promovendo a secreção de muco para revestir e promover a expulsão do verme.

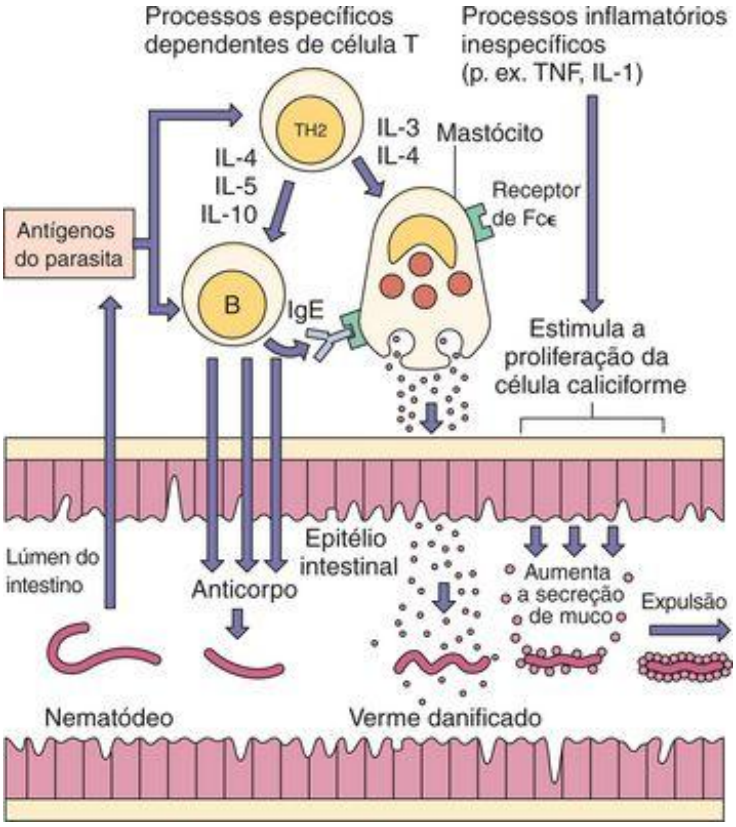


Figura 12-10 Eliminação dos nematódeos do intestino. As respostas TH2 são importantes para a estimulação da produção de anticorpo. O anticorpo pode danificar o verme. A imunoglobulina E (IgE) está associada com os mastócitos, com a liberação de histamina e das substâncias tóxicas. A secreção elevada de muco também promove a expulsão. IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral.

(Fonte: Roitt I et al: Immunology, 4ª ed. St Louis, Mosby, 1996.)

O anticorpo IgG também exerce um papel importante na imunidade antiparasitária como uma opsonina e ativando o complemento na superfície do parasita.

Evasão dos Mecanismos Imunes pelos Parasitas

Os parasitas animais desenvolveram mecanismos notáveis de estabelecimento de infecções crônicas no hospedeiro vertebrado (Tab. 12-6). Estes mecanismos incluem o crescimento intracelular, a inativação da morte por fagocitose, a liberação de antígeno bloqueador (p. ex., *Trypanosoma brucei, Plasmodium falciparum*) e o desenvolvimento de cistos (p. ex., protozoários: *Entamoeba histolytica*; helmintos: *T. spiralis*) para limitar o acesso por parte da resposta imune. Os tripanossomos africanos podem modificar geneticamente os genes do seu antígeno de superfície (glicoproteína de superfície variável) e, consequentemente, mudar a sua aparência antigênica. Os esquistossomos podem se recobrir com antígenos do hospedeiro, incluindo as moléculas do MHC.

Outras Respostas Imunes

As **respostas antitumorais** e a **rejeição dos transplantes de tecido** são mediadas basicamente pelas células T. As células T CD8 citolíticas reconhecem e eliminam os tumores que expressam peptídeos de proteínas embriológicas, proteínas que sofreram mutação ou outras proteínas nas moléculas do MHC de classe I (via endógena de apresentação do peptídeo). Estas proteínas podem ser expressas inadequadamente pela célula tumoral e a resposta imune do hospedeiro pode não ser tolerada para elas. Além disso, o tratamento com IL-2 *in vitro* gera células *killer* ativadas por linfocina (LAK) e células NK direcionadas para as células tumorais; os macrófagos ativados por IFN-γ ("irritados") também podem distinguir e matar células tumorais.

A rejeição, pelas células T, dos **aloenxertos** usados nos transplantes de tecido, é disparada pelo reconhecimento dos peptídeos estranhos expressos nos nas moléculas MHC de classe I estranhas. Além da rejeição do tecido transplantado por parte do hospedeiro, as células do doador de uma transfusão de sangue ou de um transplante de tecido podem reagir ao novo hospedeiro numa **resposta enxerto *versus* hospedeiro (GVH)**. Um teste *in vitro* da ativação de célula T e do crescimento de uma resposta tipo GVH é a **reação linfocitária mista**. A ativação é medida geralmente como síntese de DNA (captação de timidina radioativa).

Imunopatogenia

Respostas de Hipersensibilidade

Uma vez ativada, a resposta imune algumas vezes é difícil de controlar, provocando dano ao tecido. As reações de hipersensibilidade são responsáveis por muitos destes sintomas associados com as infecções microbianas, especialmente as virais. *O mediador e o tempo de resposta* distinguem basicamente os quatro tipos de resposta de hipersensibilidade (Tab. 12-7).

Tabela 12-7 Reações de Hipersensibilidade

Tabela 12-7. Reações de Hipersensibilidade

Tipo de Reação	Tempo de Início	Características-chave	Efeitos Benéficos	Efeitos Patológicos
Tipo I	< 30 min	Liberação de mediadores vasoativos dependente de imunoglobulina E, disparada por antígeno solúvel	Respostas antiparasitárias e neutralização da toxina	Alergias localizadas (p. ex., febre do feno, asma) Anafilaxia sistêmica
Tipo II	< 8 h	Anticorpo ligado à célula promovendo a citotoxicidade mediada por C′ e ADCC	Lise direta e fagocitose das bactérias extracelulares e de outros microrganismos susceptíveis	Destruição dos eritrócitos (p. ex., reações transfusionais, doença do Rh) Dano tecidual específico ao órgão em algumas doenças autoimunes (p. ex., síndrome de Goodpasture)
Tipo III	< 8 h	Complexos antígeno-anticorpo solúveis ativam C′	Reação inflamatória aguda no sítio dos microrganismos extracelulares e sua depuração	Reação de Arthus (localizada) Doença do soro e reações a fármacos (generalizadas) Doenças autoimunes sistêmicas
Tipo IV	24-72 h (aguda) > 1 semana (crônica)	Antígeno solúvel apresentado às células T CD4 por MHC II leva à liberação de citocinas TH1 ativando os macrófagos e os linfócitos T citotóxicos	Proteção contra infecções por fungos, bactérias intracelulares e vírus	Agudos: dermatite de contato, teste cutâneo da tuberculose Crônicos: formação de granuloma, rejeição de enxerto

A hipersensibilidade do tipo I é provocada pela **IgE**, estando associada às reações **alérgicas, atópicas** e **anafiláticas** (Fig. 12-11). As reações alérgicas mediadas por IgE são de início rápido. A IgE se liga aos receptores Fc nos mastócitos e se torna o receptor de superfície celular para os antígenos (**alergenos**). A ligação cruzada de várias moléculas de IgE da superfície celular por um alergeno (p. ex., pólen) dispara a desgranulação, liberando **quimioatraentes** (citocinas, leucotrienos) para atrair os eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares; **ativadores** (histamina, fator de ativação de plaqueta, triptase, cininogenase) para promover a vasodilatação e o edema; e **espasmógenos** (histamina, prostaglandina D_2, leucotrienos) para afetar diretamente a muscula tura lisa dos brônquios e promover a secreção de muco. A dessensibilização (pequenos estímulos alérgicos) produz IgG para se ligar ao alergeno e impedir a sua ligação à IgE. Após 8 a 12 horas, uma reação de fase tardia se desenvolve devido à infiltração de eosinófilos e células TH2 CD4, assim como ao reforço de citocina da inflamação.

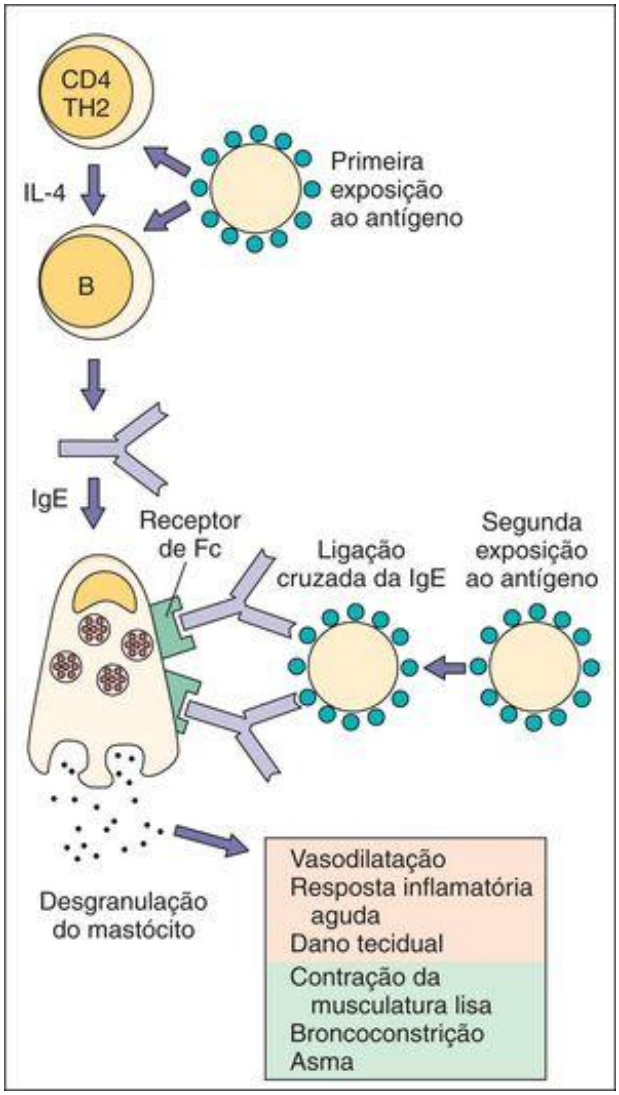


Figura 12-11 Hipersensibilidade do tipo I: reações atópicas e anafiláticas mediadas pela imunoglobulina E (IgE). A IgE produzida em resposta ao desafio inicial se liga aos receptores de Fc nos mastócitos e basófilos. A ligação do alergeno à IgE da superfície celular promove a liberação de histamina e prostaglandinas dos grânulos, gerando os sintomas. Alguns exemplos são a febre do feno, a asma, a alergia à penicilina e a reação às ferroadas de abelha. IL, interleucina.

A **hipersensibilidade do tipo II** é provocada pela **ligação do anticorpo** às moléculas da superfície celular e pela ativação subsequente das *respostas citolíticas pela* **cascata clássica do complemento** *ou pelos mecanismos celulares* (Fig. 12-12). Estas reações ocorrem até 8 horas após um transplante de tecido ou sangue ou como parte de uma doença crônica. Alguns exemplos destas reações são (1) a *miastenia gravis* (devido aos anticorpos para receptores de acetilcolina nos neurônios), (2) a anemia hemolítica autoimune e (3) a síndrome de "Goodpasture" (danos à membrana basal dos pulmões e rins). Outro exemplo é a doença hemolítica dos recém-nascidos (bebes azuis), que é provocada pela reação do anticorpo materno gerado durante a primeira gravidez contra os fatores Rh nos eritrócitos fetais de um segundo bebê (incompatibilidade de Rh).

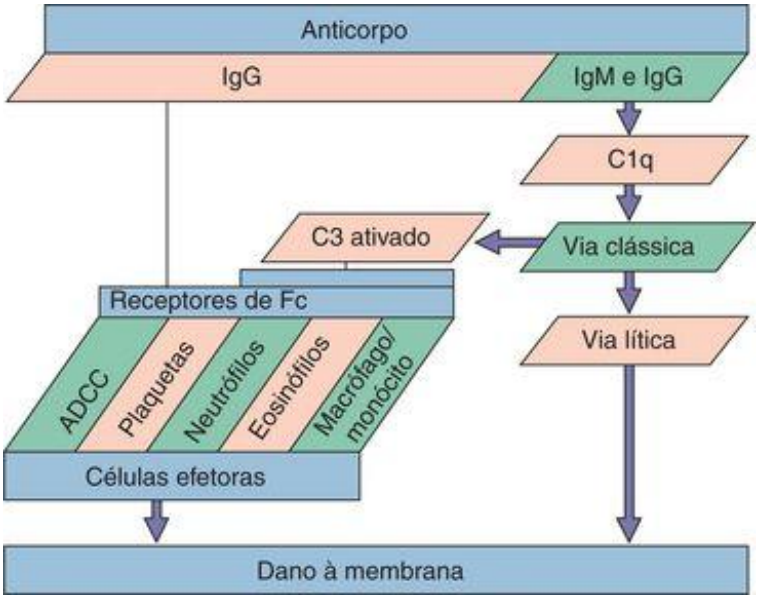


Figura 12-12 Hipersensibilidade do tipo II: mediada por anticorpo e complemento. A ativação do complemento promove o dano celular direto através da cascata do complemento e pela ativação das células efetoras. Alguns exemplos são a síndrome de Goodpasture, a resposta ao fator Rh nos neonatos e as endocrinopatias autoimunes. ADCC, citotoxicidade celular dependente do anticorpo; Ig, imunoglobulina.

As respostas de **hipersensibilidade do tipo III** resultam da ativação do **complemento** pelos **complexos imunes** (Fig. 12-13). Na presença de uma quantidade abundante de antígeno solúvel no fluxo sanguíneo, se formam grandes complexos antígeno-anticorpo que ficam aprisionados nos capilares (especialmente no rim) e que depois iniciam a cascata clássica do complemento. A ativação da cascata do complemento inicia as reações inflamatórias. A doença do complexo imune pode ser provocada por infecções persistentes (p. ex., hepatite B, malária, endocardite estafilocócica infecciosa), autoimunidade (p. ex., artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico) ou inalação consistente em antígeno (p. ex., antígenos de mofo, plantas ou animais). Por exemplo, a infecção de hepatite B produz grandes quantidades de antígeno de superfície da hepatite B, os quais podem promover a formação de complexos imunes que levam à glomerulonefrite. As reações de hipersensibilidade do tipo III podem ser induzidas nas pessoas pré-sensibilizadas pela injeção intradérmica do antígeno visando causar uma **reação de Arthus**, uma reação de pele caracterizada por rubor e inchaço. A doença do soro, a alveolite alérgica extrínseca (uma reação ao antígeno fúngico inalado) e a glomerulonefrite resultam de reações de hipersensibilidade do tipo III.

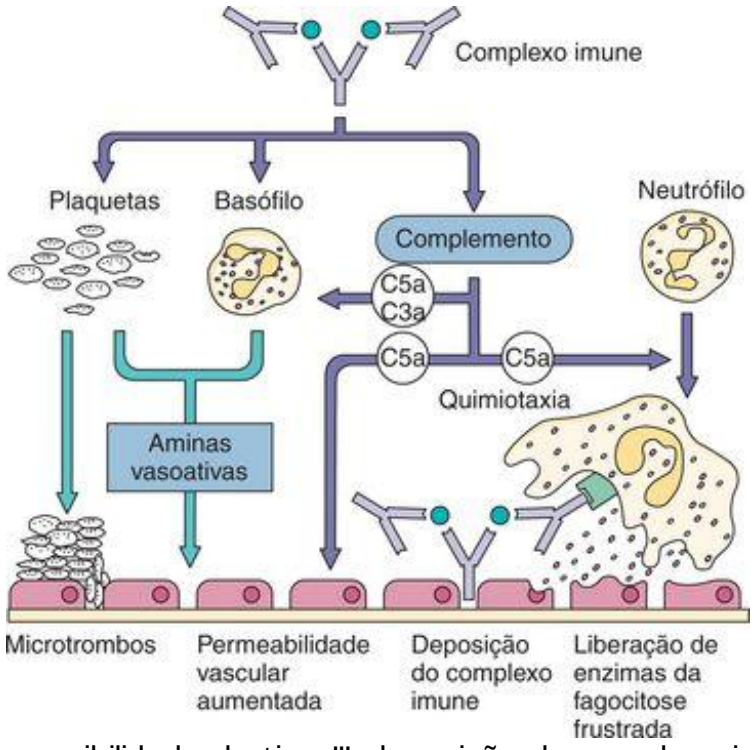


Figura 12-13 Hipersensibilidade do tipo III: deposição do complexo imune. Os complexos imunes podem ser capturados no rim e em qualquer outro lugar do corpo, podem ativar o complemento e causar outras respostas danosas. Alguns exemplos são a doença do soro, a nefrite associada com a infecção crônica da hepatite B e a reação de Arthus.

As respostas de **hipersensibilidade do tipo IV** são respostas inflamatórias de **hipersensibilidade do tipo tardio mediadas por TH1 (DTH)** (Fig. 12-14 e Tab. 12-8). Habitualmente, leva de 24 a 48 horas para que o antígeno seja apresentado às **células T CD4** e para que estas **ativem os macrófagos** visando a indução da resposta. Embora essencial para o controle das infecções por fungos e por bactérias intracelulares, (p. ex., micobactérias), a DTH também é responsável pela **dermatite de contato** (p. ex., cosméticos, níquel) e pela resposta ao veneno da hera. A injeção intradérmica do **antígeno tuberculina** (derivado proteico purificado [PPD]) desencadeia um nódulo que chega ao ápice em 48 a 72 horas após a injeção, sendo indicativo da exposição prévia ao *Mycobacterium tuberculosis* (Fig. 12-15). Formam-se **granulomas** em resposta à estimulação contínua pelo crescimento intracelular do *M. tuberculosis*. Estas estruturas consistem em células epitelioides criadas a partir dos macrófagos ativados cronicamente, células epitelioides fundidas (células gigantes multinucleadas) circundadas por linfócitos e fibrose causada pela deposição de colágeno dos fibroblastos. Os granulomas restringem a disseminação do *M. tuberculosis* contanto que as células T CD4 possam fornecer IFN-γ. A hipersensibilidade granulomatosa ocorre com a tuberculose, lepra, esquistossomose, sarcoidose e doença de Chron.

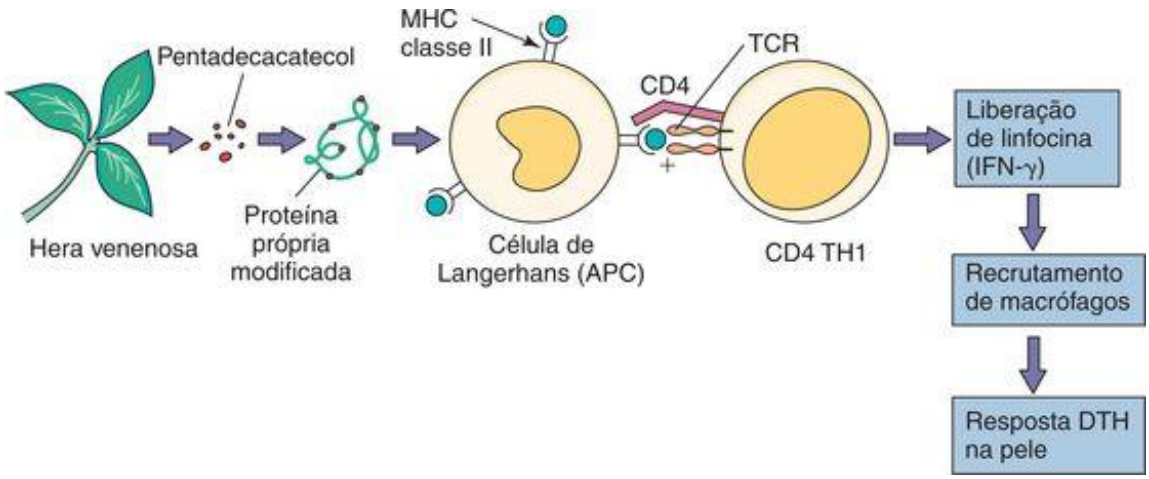


Figura 12-14 Hipersensibilidade do tipo IV: hipersensibilidade do tipo tardio (DTH) mediada por células T CD4 (TH1). Neste caso, proteínas próprias modificadas quimicamente são processadas e apresentadas às células T CD4, que liberam citocinas (incluindo o interferon-γ [IFN-γ]) que promove a inflamação. Outros exemplos de DTH são a resposta de tuberculina (teste do derivado proteico purificado [PPD]) e a reação a metais como o níquel. APC, célula apresentadora de antígeno; TCR, receptor de célula T.

Tabela 12-8 Características Importantes dos Quatro Tipos de Reações de Hipersensibilidade do Tipo Tardio

Tabela 12-8. Características Importantes dos Quatro Tipos de Reações de Hipersensibilidade do Tipo Tardio

Tipo	Tempo de Reação	Aspecto Clínico	Aspecto Histológico	Antígeno
Jones-Mote	24 h	Tumefação da pele	Basófilos, linfócitos, células mononucleares	Antígeno intradérmico: ovalbumina
Contato	48 h	Eczema	Células mononucleares, edema, epiderme elevada	Epidérmico: níquel, borracha, hera venenosa
Tuberculina	48 h	Endurecimento local e tumefação com ou sem febre	células mononucleares, linfócitos e monócitos, macrófagos reduzidos	Dérmico: tuberculina, micobateriano e leishmanioso
Granulomatoso	4 semanas	Endurecimento da pele	Granuloma de célula epitelioide, células gigantes, macrófagos, fibrose com ou sem necrose	Antígeno ou complexos antígeno-anticorpo persistentes nos macrófagos ou "não-imunológico" (p. ex., pó de talco)

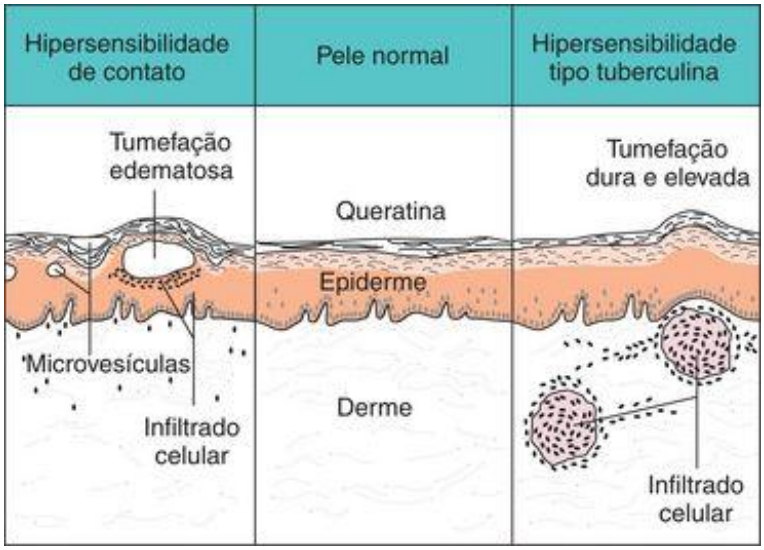


Figura 12-15 Respostas de hipersensibilidade de contato e da tuberculina. Estas respostas do tipo IV são mediadas por célula, mas diferem em relação ao sítio de infiltração celular e aos sintomas. Ocorre uma hipersensibilidade de contato na epiderme, levando à formação de bolhas; a hipersensibilidade tipo tuberculina ocorre na derme, caracterizando-se por tumefação.

Respostas Autoimunes

Normalmente uma pessoa adquire tolerância aos autoantígenos durante o desenvolvimento do sistema imune na fase fetal, e no decorrer da vida através de outros mecanismos (p. ex., indução oral da tolerância). Porém, a desregulação da resposta imune pode ser iniciada por reatividade cruzada com antígenos microbianos (p. ex., infecção com estreptococo do grupo A, febre reumática), ativação policlonal dos linfócitos induzida por tumores ou infecção (p. ex., malária, infecção por vírus Epstein-Barr), ou pré-disposição genética causada pela falta de indução de tolerância a antígenos específicos.

As reações autoimunes resultam da presença de anticorpos, células T ativadas e reações de hipersensibilidade. As pessoas com determinados antígenos do MHC estão sob risco mais elevado de respostas autoimunes (p. ex., HLA-B27 [antígeno do leucócito humano]: artrite reumatoide juvenil, espondilite anquilosante). Evidências sugerem que a esclerose múltipla, uma resposta inflamatória direcionada para a proteína básica mielina, pode ser disparada pelas respostas imunes a um ou mais vírus, tais como o herpesvirus humano 6 ou o sarampo.

Imunodeficiência

A imunodeficiência pode resultar de deficiências genéticas, inanição, imunossupressão induzida por droga, supressão quimioterápica da rejeição de enxerto tecidual, câncer (especialmente das células imunes) ou doença (p. ex., AIDS) e ocorre naturalmente nos neonatos e nas mulheres grávidas. Deficiências nas respostas protetoras específicas colocam um paciente sob alto risco de doença grave provocada por agentes infecciosos que deveriam ser controlados por essas respostas (Tab. 12-9). Estes “experimentos naturais” ilustram a importância das respostas específicas no controle de infecções específicas.

Tabela 12-9 Infecções Associadas com Defeitos nas Respostas Imunes

Defeito	**Patógeno**
Indução por meios físicos (p. ex., queimaduras, trauma)	*Pseudomonas aeruginosa*
	Staphylococcus aureus
	Staphylococcus epidermidis
	Streptococcus pyogenes
	Aspergillus spp.
	Candida spp.
Esplenectomia	Bactérias encapsuladas e fungos
Defeitos no movimento, fagocitose ou morte de granulócitos e monócitos, ou número reduzido de células (neutropenia)	*S. aureus*
	S. pyogenes
	Haemophilus influenzae
	Bacilos Gram negativos
	Escherichia coli
	Klebsiella spp.

	P. aeruginosa
	Nocardia spp.
	Aspergillus spp.
	Candida spp.
Componentes individuais do sistema complemento	*S. aureus*
	Streptococcus pneumoniae
	Pseudomonas spp.
	Proteus spp.
	Neisseria spp.
Células T	Citomegalovírus
	Vírus do herpes simples
	Vírus do herpes-zóster
	Herpesvírus 8 humano
	Listeria monocytogenes
	Mycobacterium spp.
	Nocardia spp.
	Aspergillus spp.
	Candida spp.
	Cryptococcus neoformans
	Histoplasma capsulatum
	Pneumocystis jirovecii
	Strongyloides stercoralis
Células B	Enterovírus
	S. aureus
	Streptococcus spp.
	H. influenzae
	Neisseria meningitidis
	E. coli
	Giardia lamblia
	P. carinii
Imunodeficiência combinada	Veja os patógenos listados paras as células T e B

Imunossupressão

A terapia de imunossupressão é importante para diminuir as respostas inflamatória ou imune excessivas ou para impedir a rejeição de transplantes de tecido pelas células T. A aspirina e as drogas anti-inflamatórias não esteroidais (NSAIDs) atuam nas ciclooxigenases que geram as prostaglandinas inflamatórias (p. ex., PGD_2). Outros **tratamentos anti-inflamatórios** se focam na produção e na ação de TNF, IL-12 e IL-1. Os corticosteroides impedem a sua produção pelos macrófagos e podem ser tóxicos para as células T. Formas solúveis do receptor de TNF e do anticorpo contra TNF podem ser usadas para bloquear a ligação do TNF e impedir a sua ação. A **terapia imunossupressora para transplante** inibe geralmente a ação das células T ou provoca a sua lise. A ciclosporina, o tacrolimus (FK-506) e a rapamicina impedem a ativação das células T (Fig. 11-5). O antiligante de CD40 e o anti-IL-2 impedem a ativação das células T, enquanto o anti-CD3 promove a lise das células T pelo complemento para suprimir as respostas de célula T.

Deficiências Hereditárias do Complemento e Infecção Microbiana

As **deficiências** dos componentes **C1q, C1r, C1s, C4** e **C2** herdadas estão associadas com defeitos na ativação da via clássica do complemento que levam a uma maior susceptibilidade às infecções estafilocócicas e estreptocócicas piogênicas (Fig. 12-16). Estas bactérias não são controladas pelas células Tγ/δ. Uma **deficiência de C3** leva a um defeito na ativação de ambas as vias clássica e alternativa, o que também resulta numa incidência mais elevada de infecções piogênicas. **Defeitos dos fatores da properdina** prejudicam a ativação da via alternativa, o que também resulta numa susceptibilidade maior às infecções piogênicas. Por fim, as **deficiências de C5 a C9** estão associadas com a eliminação celular defeituosa, a qual aumenta a susceptibilidade às infecções disseminadas por *Neisseria* spp.

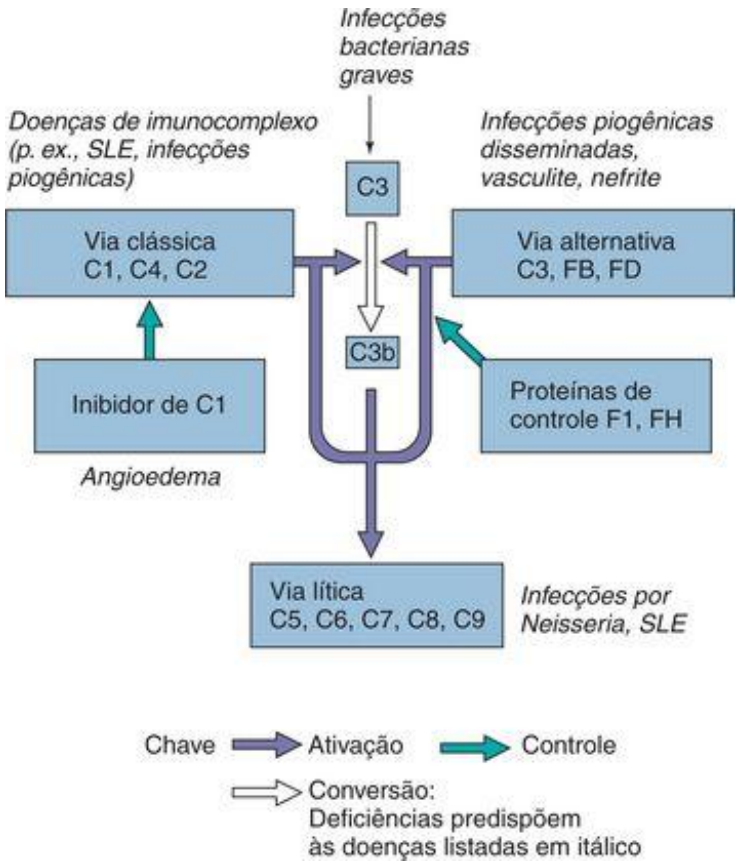


Figura 12-16 Consequências das deficiências nas vias do complemento. O fator B se liga ao C3b nas superfícies celulares e a serina protease D plasmática cliva e ativa B-C3b como parte da via alternativa. Os fatores FI e FH limitam a ativação inapropriada do complemento. O FH se liga ao C3b e impede a ativação, sendo um co-fator para o FI. O FI é uma serina protease que cliva C3b e C4b. SLE, lúpus eritematoso sistêmico.

Defeitos na Ação do Fagócito

As pessoas com fagócitos defeituosos são mais susceptíveis às infecções bacterianas, mas não às infecções virais ou por protozoários (Fig. 12-17). A relevância clínica da eliminação dependente de oxigênio é ilustrada pela **doença granulomatosa crônica** nas crianças que têm níveis reduzidos de citocromo b e que não conseguem formar ânions superóxido. Apesar de a fagocitose ser normal, essas crianças têm uma capacidade prejudicada de oxidar a NADPH e destruir as bactérias através da via oxidativa. Nos pacientes com **síndrome de Chédiak-Higashi**, os grânulos de neutrófilo se fundem quando as células estão imaturas na medula óssea. Assim, os neutrófilos desses pacientes podem fagocitar as bactérias, mas têm uma capacidade bastante reduzida de matá-las. Os **indivíduos asplênicos** estão sob risco de infecção com organismos encapsulados porque tais pessoas carecem do mecanismo de filtragem pelos macrófagos do baço. Outras deficiências são exibidas na Fig. 12-17.

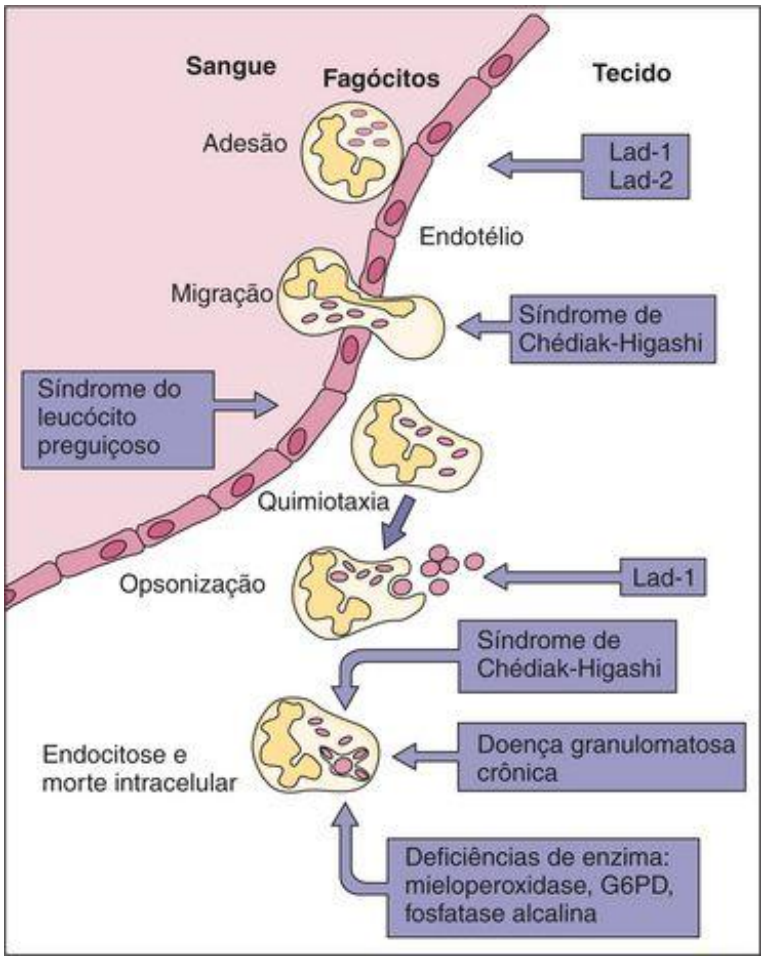


Figura 12-17 Consequências da disfunção do fagócito. G6PD, glicose-6-fosfato desidrogenase; Lad, deficiência de adesão do leucócito.

Deficiências nas Respostas Imunes Antígeno-específicas

As pessoas com deficiência na **função da célula T** são susceptíveis a **infecções oportunistas** por (1) vírus, especialmente os envelopados e não citolíticos e recorrências de vírus que estabelecem infecções latentes, (2) bactérias intracelulares e (3) fungos. As deficiências de célula T também podem impedir a maturação das respostas de anticorpo de célula B. As deficiências de célula T podem surgir de distúrbios genéticos (p. ex., síndrome da imunodeficiência ligada ao X, doença de Duncan, síndrome de DiGeorge) (Tab. 12-10), infecção (p. ex., HIV e AIDS), quimioterapia do câncer ou terapia imunossupressora para transplante de tecido.

Tabela 12-10 Imunodeficiências dos Linfócitos

Tabela 12-10. Imunodeficiências dos Linfócitos

Condição	Nº de Células T	Função da Célula T	Nº de Células B	Anticorpos Séricos	Incidência*
XLA, Síndrome de Bruton	✓	✓	↓↓	IgG, IgA, IgM ↓↓	Rara
X-SCID	↓↓	↓	✓	↓	Rara
XLP, Síndrome de Duncan	✓	↓	✓	✓ ou ↓	Rara
X-hiper IgM (mutação no CD40L)	✓	↓	✓	IgG ↓↓, IgA ↓↓, IgM ↑	Rara
Síndrome de Wiskott-Aldrich	✓	↓	✓	IgA ↑, IgE ↑, IgM ↓	Rara
Deficiência de ADA (SCID)	↓↓	↓↓	↓	↓	Muito rara
Deficiência de PNP (SCID)	↓	↓	✓	✓	Muito rara
Deficiência de HLA	✓	↓	✓	Resposta antigênica ruim	Muito rara
Ataxia telangiectasia	↓	↓	✓	IgE ↓, IgA ↓, IgG2 ↓	Incomum
Síndrome de DiGeorge	↓↓	↓	✓	✓	Muito rara
Deficiência de IgA	✓	✓	✓	IgA ↓	Comum

De Brostoff J, Male DK: Clinical Immunology: An Illustrated Outline. St Louis, Mosby. 1994.
ADA, adenosina desaminada; Ag, antígeno; HLA, antígeno leucocitário humano; Ig, imunoglobulina; PNP, purina nucleosídeo fosforilase; XLA, agamaglobulinemia ligada ao X; XLP, síndrome linfoproliferativa ligada ao X; X-SCID, doença de imunodeficiência combinada grave ligada ao X; ✓ = normal; ↑ = elevada; ↓ = reduzida ou defeituosa.
**Incidência aproximada: Muito rara = $<10^{-6}$; rara = 10^{-5} a 10^{-6}; comum = 10^{-2} a 10^{-3}.*

A imaturidade do sistema imune dos **neonatos** aumenta a sua susceptibilidade às infecções resolvidas pelas respostas associadas a TH1, incluindo infecções por herpesvírus. Os neonatos são deficientes em respostas TH1 como consequência da produção insuficiente de IFN-γ. De modo semelhante, as respostas imune e inflamatória mediadas por célula e menos evidentes das **crianças** diminuem a gravidade (em comparação com os adultos) das infecções com herpes (p. ex., mononucleose infecciosa, catapora) e hepatite B, mas também aumentam o potencial para o estabelecimento de uma infecção viral crônica da hepatite B devido à resolução incompleta. A gravidez também induz medidas imunossupressoras para impedir a rejeição do feto (um tecido estranho).

As **deficiências de célula B** podem resultar numa ausência completa de produção de anticorpos (hipogamaglobulinemia), incapacidade de se submeter à mudança de classe ou incapacidade de produzir subclasses específicas de anticorpo. As pessoas com deficiência na produção de anticorpos são muito susceptíveis à **infecção bacteriana**. A deficiência de IgA, que ocorre em um a cada 700 caucasianos, resulta numa susceptibilidade mais elevada a **infecções respiratórias**.

Questões

1. Descreva os tipos de respostas imunes que seriam geradas para os diferentes tipos de vacina a seguir. Considere a rota de processamento e apresentação de antígeno, assim como as células e citocinas envolvidas na geração de cada resposta.

a. Toxoide tetânico: injeção intramuscular da proteína da toxina do tétano inativada por calor e fixada com formalina

b. Vacina de pólio inativada: injeção intramuscular de poliovírus inativado quimicamente e incapaz de replicação

c. Vacina viva atenuada do sarampo: injeção intramuscular do vírus que se replica nas células e que expressa antígeno nas células e nas superfícies celulares.

1.

a. Uma resposta TH2, a qual é predominante do tipo anticorpo, será gerada à proteína toxoide do tétano, que é apresentada de uma maneira “não natural”. A linfa irá levar o antígeno até os linfonodos onde células dendríticas irão apresentá-lo ás células CD4 T. As células CD4 T irão produzir IL4, IL5, IL6 e IL10 para apresentar o antígeno às células B. Isso irá promover uma troca de classe de TH2 relacionada à produção de anticorpo. Respostas de memória não serão efetivas.

b. A vacina da pólio inativada irá gerar uma resposta similar à resposta da toxina tetânica.

c. Inicialmente uma resposta TH1 será gerada por células infectadas com o vírus atenuado a qual irá naturalmente progredir para respostas TH2 e de memória. As células NK e NKT irão produzir pequenas quantidades de interferon gama. Células dendríticas serão ativadas, processarão o vírus do sarampo, apresentando o antígeno às células CD4 T e CD8 T, enquanto produzirão IL12 para promover a produção de mais interferon gama. A produção de IL2 por células CD4 T irá promover o crescimento de células T e B, incluindo células CD8 T. Interferon gama irá promover uma troca de classe de células B de IgM para produção de IgG. Mais tarde a resposta irá trocar para um resposta TH2 o que irá maturar a resposta de IgG.

2. Reproduza (*i.e.*, escreva numa folha de papel) a seguinte tabela e preencha as colunas apropriadas.

Doença de Imunodeficiência	Defeito Imune	Susceptibilidade a Infecções Específicas
Síndrome de Chédiak-Higashi		
Doença granulomatosa crônica		
Deficiência de complemento C5		
Deficiência de complemento C3		
Deficiência de complemento C1		
Deficiência de IgA		
Agamaglobulinemia ligada ao X		
Deficiência de célula T ligada ao X		
AIDS		
Síndrome de DiGeorge		
Deficiência de IgE		

2. Ver tabela a seguir.

Bibliografia

Abbas AK, et al. Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2007.

Alcami A, Koszinowski UH. Viral mechanisms of immune evasion. *Trends Microbiol*. 2000;8:410-418.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, 2007.

Janeway CA, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 6th ed., New York: Current Biology and Garland, 2004.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby Immunology, 6th ed., New York: WH Freeman, 2007.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed., Philadelphia: Elsevier, 2005.

Male D. Immunology, 4th ed., London: Elsevier, 2004.

Mims C, et al. Medical Microbiology, 3rd ed., London: Elsevier, 2004.

Novak R. Crash Course Immunology. Philadelphia: Mosby, 2006.

Rosenthal KS. Are microbial symptoms “self-inflicted”?: The consequences of immunopathology. *Infect Dis Clin Pract*. 2005;13:306-310.

Rosenthal KS. Vaccines make good immune theater: Immunization as described in a three-act play. *Infect Dis Clin Pract*. 2006;14:35-45.

Rosenthal KS, Wilkinson JG. Flow cytometry and immunospeak. *Infect Dis Clin Pract*. 2007;15:183-191.

Sompayrac L. How the Immune System Works, 2nd ed, Malden, Mass: Blackwell Scientific, 2003.

Trends in Immunology: Issues contain understandable reviews on current topics in immunology.

13 Vacinas Antimicrobianas

A imunidade, seja quando gerada em reação à imunização, seja quando administrada como terapia, pode impedir ou reduzir os sérios sintomas de doença **bloqueando a disseminação** de uma bactéria, toxina bacteriana, vírus, ou outro microrganismo para seu órgão-alvo ou agindo rapidamente no sítio de infecção. As respostas imunes de memória ativadas no desafio de um indivíduo imunizado são mais rápidas e fortes que em um indivíduo não imunizado. A imunização de uma população, assim como a imunidade pessoal, interrompe a disseminação do agente infeccioso, ao reduzir o número de hospedeiros suscetíveis (**imunidade populacional**). Programas de imunização em níveis nacionais e internacionais têm alcançado as seguintes metas:

1. Proteção de grupos populacionais dos sintomas de coqueluche, difteria, tétano e raiva.

2. Controle da disseminação de sarampo, caxumba, rubéola, vírus varicela-zóster, *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib) e *Streptococcus pneumoniae*.

3. Eliminação da poliomielite tipo selvagem no hemisfério ocidental e da varíola em todo o mundo.

Junto com programas de imunização, medidas podem ser tomadas para prevenir uma doença se limitando à exposição de pessoas saudáveis a pessoas infectadas (**quarentena**) e eliminando-se a fonte (p. ex., purificação de água) ou o meio de disseminação (p. ex., erradicação de mosquito) do agente infeccioso. A varíola é um exemplo de infecção que foi controlada por esses meios. A partir de 1977, a varíola natural foi eliminada através de um programa bem-sucedido da Organização Mundial de Saúde (OMS) que combinava vacinação e quarentena.

As doenças evitáveis por vacina ainda ocorrem onde programas de imunização (1) estão indisponíveis ou são muito caros (países em desenvolvimento); ou (2) são negligenciados (p. ex., os Estados Unidos). Um exemplo é o sarampo, que causa 2 milhões de mortes anualmente em todo o mundo pela primeira razão e do qual continuam a ocorrer surtos nos Estados Unidos pela segunda razão.

Tipos de Imunização

A injeção de anticorpo purificado ou soro contendo anticorpo para fornecer proteção rápida e temporária ou tratamento de uma pessoa é denominada **imunização passiva**. Os recém-nascidos recebem a imunidade passiva natural através da imunoglobulina materna que cruza a placenta ou está presente no leite da mãe.

A **imunização ativa** ocorre quando uma resposta imune é estimulada pelo desafio de um imunógeno, como a exposição a um agente infeccioso (**imunização natural**) ou através de exposição a microrganismos ou seus antígenos em **vacinas**. No desafio subsequente com o agente virulento, uma resposta imune secundária é ativada, e esta é mais rápida e mais eficaz em proteger o indivíduo, ou o anticorpo está presente para bloquear a disseminação ou função do agente.

Imunização Passiva

A imunização passiva pode ser utilizada como se segue:

1. Para prevenir doença após uma exposição conhecida (p. ex., ferimento por agulha contendo sangue contaminado com o vírus da hepatite B)

2. Para melhorar os sintomas de uma doença em curso

3. Para proteger indivíduos imunodeficientes

4. Para bloquear a ação de toxinas bacterianas e evitar as doenças que elas causam (*i. e.*, como terapia)

Preparações de imunoglobulina sérica derivadas do ser humano ou animais soropositivos (p. ex., cavalos) estão disponíveis como profilaxia para várias doenças bacterianas e virais (Tab. 13-1). A globulina do soro humano é preparada a partir de um *pool* de plasma e contém o repertório normal de anticorpos para um adulto. Preparações especiais de globulina imune de alto título estão disponíveis para o vírus da hepatite B (HBIg), vírus varicela-zóster (VZIg), raiva (RIg) e tétano (TIg). A imunoglobulina humana é preferível à imunoglobulina animal porque há pouco risco de uma reação de hipersensibilidade (doença do soro).

Tabela 13-1 Imunoglobulinas Disponíveis para Profilaxia Pós-exposição*

Doença	Fonte
Hepatite A	Humana
Hepatite B	Humana
Sarampo	Humana
Raiva	Humana[†]
Catapora, varicela-zóster	Humana[†]
Citomegalovírus	Humana
Tétano	Humana,[†] equina
Botulismo	Equina
Difteria	Equina

* *Imunoglobulinas para outros agentes podem também estar disponíveis*.

† *O anticorpo específico de alto título está disponível e é a terapia preferida*.

Preparações de anticorpo monoclonal estão sendo desenvolvidas para proteção contra vários agentes e doenças. Além das doenças infecciosas, anticorpos monoclonais estão sendo utilizados como terapia para bloquear respostas exacerbadas de citocina na inflamação e sepse e para outras terapias.

Imunização Ativa

O termo *vacina* é derivado do vírus *vaccinia*, um membro menos virulento da família poxvírus que é utilizado para imunizar pessoas contra a varíola. As vacinas clássicas podem ser subdivididas em dois grupos, com base em sua capacidade de desencadear uma resposta imune na infecção (**vacinas vivas** como a *vaccinia*) ou não (**vacinas mortas ou de subunidades inativadas**) (Fig. 13-1). As **vacinas** de ácido desoxirribonucleico (**DNA**) representam um novo meio de imunização. Nesta abordagem, o DNA plasmideal é injetado no músculo ou na pele, e então capturado por células dendríticas, musculares ou macrófagos, que expressam o gene para o imunógeno como se fosse uma infecção natural. A vacinação com DNA estimula as respostas imunes das células T, que podem ser reforçadas com antígeno para desencadear respostas de anticorpo maduras.

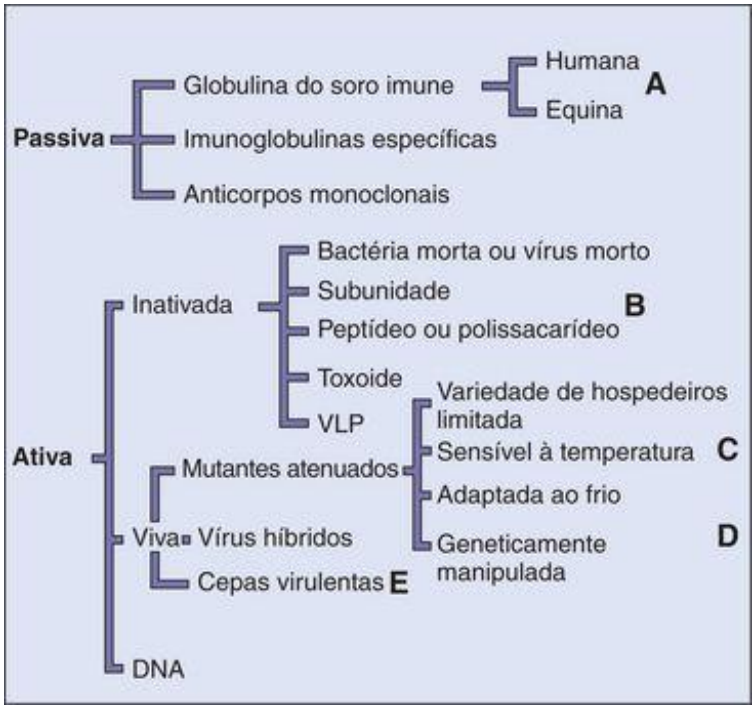


Figura 13-1 Tipos de imunizações. Anticorpos (imunização passiva) podem ser fornecidos para bloquear a ação de um agente infeccioso, ou uma resposta imune pode ser desencadeada (imunização ativa) por infecção natural ou vacinação. As diferentes formas de imunização ativa e passiva estão indicadas. **A**, Anticorpos equinos podem ser utilizados se o anticorpo humano não estiver disponível. **B**, A vacina pode consistir em componentes purificados do agente infeccioso ou pode ser desenvolvida através de engenharia genética (VLP [proteína semelhante a vírus]). **C**, Vacina selecionada por passagem em animais, ovos embrionados ou células em cultura de tecido. **D**, Deleção, inserção, rearranjo e outros mutantes derivados de laboratório. **E**, Vacina composta de um vírus de uma espécie diferente, que tem um antígeno comum com o vírus humano.

Vacinas Inativadas

Vacinas inativadas utilizam uma grande quantidade de antígeno para produzir uma resposta de anticorpo protetora, mas sem risco de infecção pelo agente. As vacinas inativadas podem ser produzidas por inativação química (p. ex., formalina) ou por aquecimento de bactérias, toxinas bacterianas, ou vírus, ou por purificação ou síntese dos componentes ou subunidades dos agentes infecciosos.

Essas vacinas geralmente são administradas com um **adjuvante**, que reforça sua imunogenicidade incrementando a captação por DCs e macrófagos ou estimulando essas células. Muitos adjuvantes estimulam os TLRs para ativar essas células apresentadoras de antígenos. A maioria das vacinas é precipitada em alume para promover a liberação lenta de antígeno e a captação por DCs e macrófagos. O MF59 (esqualeno microfluidizado em uma emulsão de óleo e água) e o monofosforil lipídio A (MPL) são adjuvantes usados em algumas vacinas mais modernas. Outros adjuvantes incluem emulsões, partículas semelhantes a vírus, lipossomos, (complexos de lipídios definidos) componentes da parede celular bacteriana, gaiolas moleculares para antígenos e surfactantes poliméricos. Formas atenuadas de toxina de cólera e linfotoxina de *Escherichia coli* são poderosos adjuvantes para anticorpo secretor (imunoglobulina [Ig] A) após imunização intranasal ou oral.

As vacinas inativadas, em contraste com as vacinas vivas, são usadas para conferir proteção contra a maioria das bactérias e vírus que não podem ser atenuados, que podem causar infecção recorrente ou que têm potencial oncogênico. Vacinas inativadas geralmente são seguras, exceto em pessoas que tenham reações alérgicas aos componentes da vacina. Por exemplo, muitas vacinas antivirais são produzidas em ovos e não podem ser administradas a pessoas que sejam alérgicas a ovos. As desvantagens das vacinas inativadas estão listadas abaixo e comparadas com vacinas vivas na Tabela 13-2.

1. A imunidade geralmente não é duradoura.
2. A imunidade pode ser apenas humoral e não mediada por célula (TH2).
3. A vacina não desencadeia uma resposta IgA local.
4. Doses de reforço são necessárias.
5. Doses maiores devem ser usadas.

Tabela 13-2 Vantagens e Desvantagens de Vacinas Vivas *versus* Inativadas

Propriedade	Viva	Inativada
Rota de administração	Natural* ou injeção	Injeção
Dose do vírus, custo	Baixa	Alta
Número de doses	Única†	Múltipla
Necessidade de adjuvante	Não	Sim‡
Duração da imunidade	Longo prazo	Curto prazo
Resposta de anticorpo	IgG, IgA§	IgG
Resposta imunemediada por célula	Boa	Fraca
Instabilidade no calor dos trópicos	Sim‖	Não
Interferência¶	Ocasional	Nenhuma
Efeitos colaterais	Sintomas brandos ocasionais#	Braço ocasionalmente dolorido
Reversão para virulência	Raramente	Nenhuma

***** *Oral ou respiratória, em certos casos*.

† *único reforço pode ser necessário (febre amarela, sarampo, rubéola) após 6 a 10 anos*.

‡ *Entretanto, o alume comumente usado é ineficiente*.

§ *IgA se administrada através de rota oral ou respiratória. A vacina da pólio oral pode impedir que o poliovírus do tipo selvagem se multiplique no intestino*.

‖ *Cloreto de magnésio e outros estabilizadores e armazenamento a frio auxiliam a preservação*.

¶ *Interferência de outros vírus ou doenças*.

Especialmente rubéola e sarampo.

Fonte: White DO, Fenner FJ: Medical Virology, 3rd Ed. New York, Academic, 1986. Ig, Imunoglobulina.

Existem três tipos principais de vacinas bacterianas inativadas: **toxoide** (toxinas inativadas), bactérias **inativadas (mortas)**, e **subunidades da cápsula ou de proteína** das bactérias. As vacinas bacterianas disponíveis atualmente estão listadas na Tabela 13-3. A maior parte das vacinas antibacterianas protege contra a ação patogênica das toxinas.

Tabela 13-3 Vacinas Bacterianas*

Bactéria (Doença)	Componentes da Vacina	Quem Deve Receber as Vacinações
Corynebacterium diphteriae (difteria)	Toxoide	Crianças e adultos
Clostridium tetani (tétano)	Toxoide	Crianças e adultos
Bordetella pertussis (coqueluche)	Células mortas ou acelular	Crianças
Haemophilus influenzae B (Hib)	Polissacarídeo da cápsula; conjugado polissacarídeo capsular-proteína	Crianças
Neisseria meningitidis A e C (doença meningocócica)	Polissacarídeo da cápsula	Pessoas em alto risco (p. ex., aquelas com asplenia), viajantes para áreas epidêmicas (p. ex., militares), crianças
Streptococcus pneumoniae (doença pneumocócica; meningite)	Polissacarídeos da cápsula; conjugado polissacarídeo capsular-proteína	Pessoas em alto risco (p. ex., aquelas com asplenia), crianças, idosos
Vibrio cholerae (cólera)	Célula morta	Viajantes em risco de exposição
Samonella typhi (febre tifoide)	Célula morta; polissacarídeo	Viajantes em risco de exposição; contatos familiares, trabalhadores de esgoto
Bacillus anthracis (antrax)	Célula morta	Pessoas que manuseiam pele importada, militares

Yersinia pestis (peste)	Célula morta	Vegetarianos, tratadores de animais
Francisella tularensis (tularemia)	Viva atenuada	Tratadores de animais em áreas endêmicas
Coxiella burnetii (febre Q)	Inativada	Tratadores de ovelha, profissionais de laboratório que trabalham com *C. burnetii*
Mycobacterium tuberculosis (TB)	Bacilo Calmette-Guérin vivo atenuado (*Mycobacterium bovis*)	Não recomendado nos Estados Unidos

***** *Listadas em ordem de frequência de uso.*

Vacinas virais inativadas estão disponíveis para **pólio, hepatite A, influenza e raiva**, entre outros vírus. A vacina Salk contra pólio (vacina da poliomielite inativada, ou **IPV**) é preparada através da inativação de vírions por formaldeído. No passado, uma vacina contra raiva era preparada por meio de inativação com formalina de neurônios de coelhos infectados ou embriões de pato. Hoje, no entanto, ela é preparada através de inativação química de vírions crescidos em culturas de células humanas diploides. Devido ao curso lento da raiva, a vacina pode ser administrada imediatamente após uma pessoa ser exposta ao vírus e ainda assim desencadear uma resposta protetora de anticorpo.

Uma **vacina de subunidade** consiste nos componentes bacterianos ou virais que desencadeiam uma resposta imune protetora. Estruturas da superfície das bactérias e as proteínas de fixação viral (capsídeo ou glicoproteínas) desencadeiam anticorpos protetores. Epítopos de células T podem também ser incluídos em uma vacina de subunidade. O componente imunogênico pode ser isolado da bactéria, vírus ou células viralmente infectadas por meios bioquímicos, ou a vacina pode ser preparada através de engenharia genética pela expressão de genes virais clonados em bactérias ou células eucarióticas. Por exemplo, a vacina de subunidade do vírus da hepatite B era inicialmente preparada do antígeno de superfície obtido de soros humanos de portadores crônicos do vírus. Hoje, a vacina do HBV é purificada da levedura que porta o gene do HBsAg. O antígeno é purificado, quimicamente tratado, e absorvido em alume para ser usado como vacina. As proteínas de subunidade usadas nas vacinas do HBV e do vírus do papiloma humano formam partículas semelhantes a vírus **(VLP)** que são mais imunogênicas que proteínas individuais.

A vacina do influenza inativado consiste em uma mistura de cepas de vírus desenvolvidos em ovos embrionados e então inativados ou em suas subunidades de proteína (hemaglutinina e neuraminidase). Vacinas derivadas de células de culturas de tecido e manipuladas por engenharia genética estão em desenvolvimento. A vacina é formulada anualmente para desencadear proteção contra as cepas de vírus previstas de ameaçar a população no ano seguinte.

Vacinas contra *Haemophilus influenzae* B, *Neisseria meningitidis, Salmonella typhi* e *Streptococcus pneumoniae* são preparadas a partir de polissacarídeos capsulares. Infelizmente, polissacarídeos geralmente são maus imunógenos (antígenos T-independentes). A vacina meningocócica contém os polissacarídeos de quatro sorotipos principais (A, C, Y e W-135). A vacina pneumocócica contém polissacarídeos de 23 sorotipos. A imunogenicidade dos polissacarídeos pode ser acentuada por ligação química a uma proteína carreadora (vacina conjugada) (p. ex., toxoide diftérico, proteína da membrana externa da *N. meningitidis*, ou proteína do *Corynebacterium diphteriae*) (Fig. 13-2). O complexo carreador toxoide diftérico-polissacarídeo do *H. influenzae* B (Hib) é aprovado para administração em bebês e crianças. Já foi desenvolvida uma vacina conjugada "pneumocócica" de *S. pneumoniae* em que o polissacarídeo das sete cepas mais predominantes nos Estados Unidos foi anexado a uma forma não tóxica da toxina diftérica. Esta vacina está disponível para uso em bebês e crianças pequenas. As outras vacinas de polissacarídeo são menos imunogênicas e devem ser administradas a indivíduos com mais de 2 anos.

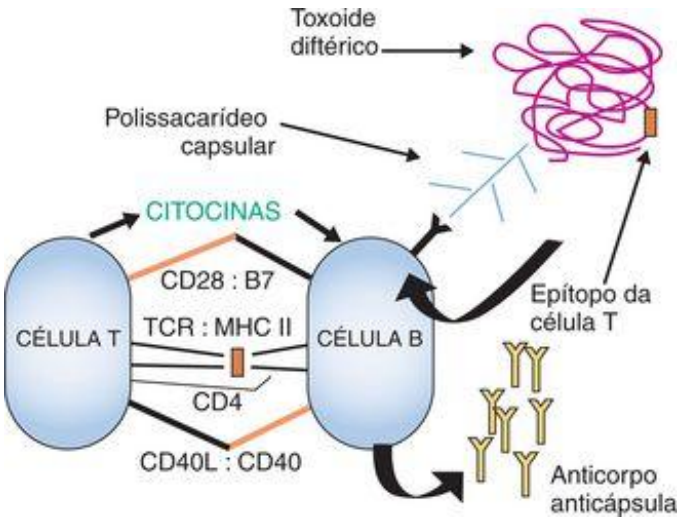


Figura 13-2 Vacinas conjugadas de polissacarídeo capsular. Os polissacarídeos capsulares são maus imunógenos, não desencadeiam auxílio de células T e induzem apenas IgM sem memória. O polissacarídeo capsular conjugado a uma proteína (p. ex., toxoide de difteria) se liga à IgM antipolissacarídeo de superfície na célula B, o complexo é internalizado, processado e então um peptídeo é apresentado no MHC II a células T CD4. As células T se tornam ativadas, produzem citocinas e promovem mudança de classe da imunoglobulina para a célula B específica do polissacarídeo. A célula B pode se tornar ativada, produzir IgG, e células de memória se desenvolverão.

Vacinas Vivas

As vacinas vivas são preparadas com organismos limitados em sua capacidade de causar doença (p. ex., organismos **não virulentos** ou **atenuados**). As vacinas vivas são especialmente úteis para proteção contra infecções causadas por vírus envelopados, que exigem respostas imunes das células T para a resolução da infecção. A imunização com uma vacina viva se assemelha à infecção natural em que a resposta imune progride da inata natural, para respostas imunes TH1, e então respostas imunes TH2, e são desenvolvidas respostas imunes humorais, celulares e de memória. A imunidade geralmente é duradoura e, dependendo da via de administração, pode se assemelhar à resposta imune normal contra o agente infectante. Contudo, a lista a seguir inclui três problemas com as vacinas vivas:

1. O vírus da vacina pode ainda ser perigoso para pessoas imunossuprimidas ou mulheres grávidas, que não têm recursos imunológicos para responder sequer a uma infecção com vírus enfraquecido.

2. A vacina pode se reverter em uma forma viral virulenta.

3. A viabilidade da vacina deve ser mantida.

Vacinas bacterianas vivas incluem a vacina viva para febre tifoide com a cepa *S. typhi* atenuada (Ty21a), administrada por via oral; a vacina com o bacilo Calmette-Guérin para tuberculose, que consiste em uma cepa atenuada de *Mycobacterium bovis*; e uma vacina atenuada de tularemia. Uma combinação de anticorpo e respostas imunes mediadas por célula desencadeadas por uma vacina viva pode ser necessária contra bactérias que se desenvolvem no meio intracelular. A vacina do bacilo Calmette-Guérin não é utilizada nos Estados Unidos porque pessoas vacinadas com ela apresentam uma reação falso-positiva ao teste do derivado proteico purificado (PPD), que é o teste de triagem usado para controlar a tuberculose nos Estados Unidos.

As vacinas de vírus vivos consistem em mutantes menos virulentos **(atenuados)** do vírus de tipo selvagem, vírus de outras espécies que compartilham determinantes antigênicos (vaccinia para varíola, rotavírus bovino ou de macacos), ou vírus manipulados por engenharia genética que perderam as propriedades de virulência (Fig. 13-1). Vírus de tipos selvagens são atenuados por crescimento em ovos embrionados ou células de cultura de tecido a temperaturas não fisiológicas (32°C a 34°C) e longe das pressões seletivas da resposta imune do hospedeiro. Essas condições **selecionam** para ou permitem o crescimento de cepas virais (mutantes) que (1) são menos virulentas porque crescem pouco a 37°C (**cepas sensíveis à temperatura** [p. ex., vacina do sarampo] e cepas adaptadas ao frio); (2) não se replicam bem em qualquer célula humana **(mutantes hospedeiro-dependentes)**; (3) não podem escapar do controle imune; ou (4) podem se replicar em um sítio benigno, mas não se disseminam, não se ligam nem se replicam no tecido-alvo caracteristicamente afetado pela doença (p. ex., a vacina da pólio se replica no trato gastrointestinal mas não alcança ou infecta o cérebro). A Tabela 13-4 lista exemplos de vacinas de vírus vivos atenuados atualmente em uso.

Tabela 13-4 Vacinas Virais*

Vírus	Componentes da Vacina	Quem Deve Receber Vacinações
Pólio	Inativado (vacina da pólio inativado, vacina Salk)	Crianças
	Atenuado (vacina da pólio oral, vacina Sabin)	Crianças
Sarampo	Atenuado	Crianças
Caxumba	Atenuado	Crianças
Rubéola	Atenuado	Crianças
Varicela-zóster	Atenuado	Crianças
Rotavírus	Híbridos humanos-bovinos	Bebês
Vírus do papiloma humano (HPV)	Partícula semelhante ao vírus (VLP)	Meninas de 9 a 26 anos
Influenza	Inativado	Adultos, especialmente pessoas da área médica e idosos
	Atenuado (spray nasal)	5-50 anos
Hepatite B	Subunidade (VLP)	Recém-nascidos, profissionais de cuidado à saúde, grupos de alto risco (p. ex., sexualmente promíscuos, usuários de drogas intravenosas)
Hepatite A	Vivo inativado (China)	Crianças, profissionais cuidadores de crianças, viajantes para áreas endêmicas, indígenas americanos e residentes no Alaska
Adenovírus	Atenuado	Militares
Febre amarela	Atenuado	Viajantes em risco de exposição, militares
Raiva	Inativado	Qualquer pessoa exposta ao vírusPré-

Raiva	Inativado	exposição: vegetarianos, tratadores de animais
Varíola	Vírus da vaccinia vivo	Proteção contra bioterrorismo
Encefalite japonesa	Inativado	Viajantes em risco de exposição
Encefalite equina oriental e ocidental, encefalite russa de primavera-verão	Inativado	Militares

* *Listadas em ordem de frequência de uso*.

A primeira vacina – a da varíola – foi desenvolvida por Edward Jenner. A ideia para a vacina surgiu para ele ao observar que o "cowpox" (vaccinia), um vírus virulento de outra espécie que compartilha determinantes antigênicos com a varíola, causava infecções benignas em humanos mas conferia imunidade protetora contra varíola. Além disso, uma mistura de rearranjo genético de rotavírus humanos e bovinos é a base da vacina atual administrada para proteger crianças contra rotavírus humano.

Albert Sabin desenvolveu a primeira **vacina oral de pólio (OPV)** viva nos anos de 1950. A vacina com vírus atenuado foi obtida por várias passagens dos três tipos de poliovírus por células de rim do macaco em cultura de tecido. Pelo menos 57 mutações se acumularam na cepa da vacina da pólio tipo 1. Quando esta vacina é administrada por via oral, a IgA é secretada no intestino e a IgG no soro, proporcionando proteção ao longo da via normal de infecção pelo vírus do tipo selvagem. Essa vacina não é cara, é fácil de administrar e relativamente estável. O programa de vacinação foi tão bem-sucedido que a pólio do tipo selvagem foi eliminada do hemisfério ocidental. Infelizmente, devido ao risco de doença de pólio induzida pelo vírus da vacina, a IPV é usada em lugar da OPV para imunizações de rotina de bebês (Fig. 13-2).

As **vacinas vivas para sarampo, caxumba, rubéola** (administradas juntas como a vacina MMR), **varicela-zóster** e mais atualmente **gripe** já foram desenvolvidas. A proteção contra essas infecções exige uma resposta imunecelular potente. Para desencadear uma resposta madura de célula T, a vacina deve ser administrada após 1 ano de idade, quando não haverá interferência por anticorpos maternos. Uma vacina morta de sarampo provou ser um fracasso, porque conferia imunidade incompleta que induzia sintomas mais sérios (sarampo atípico) no desafio com o vírus do sarampo do tipo selvagem do que os sintomas associados à infecção natural.

A primeira vacina viva do sarampo consistia na cepa Edmonston B, que foi desenvolvida por Enders e colaboradores. Esse vírus foi submetido a uma passagem extensiva a 35°C através de células primárias do rim humano, células amnióticas humanas, e células do embrião de galinhas. As cepas de vacina de sarampo Moraten (nos Estados Unidos) e Schwars (outros países) atualmente utilizadas foram obtidas por passagens da cepa Edmonston B em embriões de galinhas a 32°C.

Os vírus das vacinas da caxumba (cepa Jeryl Lynn) e da rubéola (Wistar RA 27/3) também foram atenuados por passagem extensiva do vírus em cultura celular. A vacina de varicela-zóster utiliza a cepa Oka, um vírus atenuado. Esta vacina é administrada junto com a vacina MMR, ou uma versão mais forte é administrada a adultos para evitar zóster (herpes zóster).

Uma nova vacina viva do influenza é administrada por via nasal inalada na forma de aerossol. Diferente da vacina previamente inativada, as respostas das células T e células B e a imunidade de mucosa são desencadeadas por esta vacina.

Diretrizes Futuras para Vacinação

Técnicas de biologia molecular estão sendo utilizadas para desenvolver novas vacinas. Novas vacinas vivas podem ser criadas por mutações em engenharia genética para inativar ou deletar um gene de virulência em vez de através de atenuação aleatória do vírus por passagem em cultura de tecido. Genes de agentes infecciosos que não podem ser adequadamente atenuados podem ser inseridos em vírus seguros (p. ex., *vaccinia, canarypox*) para formar **vacinas de vírus híbridos** (Fig. 54-3). Essa abordagem é promissora no sentido de permitir o desenvolvimento de uma vacina polivalente para muitos agentes num vetor único, seguro, barato e relativamente estável. Na infecção, a vacina do vírus híbrido não precisa completar um ciclo de replicação, mas simplesmente promover a expressão do gene inserido para iniciar uma resposta imune aos antígenos. Os sistemas de vetor do vírus *vaccinia* e *canarypox* foram utilizados em várias vacinas híbridas experimentais e são usados para imunizar animais silvestres contra a raiva. Outros vetores que têm sido considerados são os retrovírus, adenovírus e vírus do herpes simples, todos atenuados.

Vacinas de subunidade obtidas por engenharia genética estão sendo desenvolvidas através da clonagem de genes que codificam proteínas imunogênicas em vetores bacterianos e eucarióticos. As maiores dificuldades no desenvolvimento de tais vacinas são (1) identificar a subunidade apropriada ou o peptídeo imunogênico que pode desencadear respostas protetoras de anticorpo e, idealmente, respostas de células T; e (2) apresentar o antígeno na conformação correta. Uma vez identificado, o gene pode ser isolado, clonado e expresso em bactérias ou células de levedura, e grandes quantidades dessas proteínas podem ser produzidas. Os genes para imunógenos protetores, como o antígeno de superfície da hepatite B (*em uso*), a proteína L do HPV 6, 11, 16 e 18 (*em uso*), a proteína gp120 do envelope do vírus da imunodeficiência humana (HIV), a hemaglutinina do influenza, o antígeno G da raiva, e a glicoproteína D do vírus do herpes simples, já foram clonados, e suas proteínas foram geradas em bactérias ou células eucarióticas para uso (ou uso potencial) como vacinas de subunidade.

As **vacinas de subunidade peptídicas** consistem em *epítopos específicos* de proteínas microbianas que desencadeiam respostas de anticorpo neutralizantes ou as desejadas respostas de células T. Para gerar tal resposta, o peptídeo deve conter sequências que se liguem a proteínas do MHC I ou MHC II (complexo principal de histocompatibilidade classe I ou classe II) em células dendríticas para apresentação e reconhecimento por células T para iniciar uma resposta imune. A imunogenicidade do peptídeo pode ser aumentada por sua ligação covalente a uma proteína carreadora (p. ex., toxoide tetânico ou hemocianina do molusco keyhole limpet [KLH]) ou um peptídeo imunológico que pode apresentar especificamente o epítopo para a resposta imune apropriada. Vacinas melhores estão sendo desenvolvidas à medida que os mecanismos de apresentação de antígeno e os antígenos específicos de receptores de células T são mais bem compreendidos.

O s **anticorpos anti-idiotipo** também estão sendo investigados como vacinas potenciais. Esses anticorpos reconhecem a região variável de um anticorpo antiviral monoclonal, que é semelhante a um molde do epítopo viral. O anticorpo anti-idiotipo se assemelha ao epítopo viral original, como se fosse formado no molde. A imunização com um anticorpo anti-idiotipo ou com o peptídeo viral desencadearia, portanto, a produção de anticorpos semelhantes.

O s **adjuvantes**, além do alume, estão sendo desenvolvidos para aumentar a imunogenicidade e direcionar a resposta das vacinas a um tipo de resposta TH1 ou TH2. Estes incluem ativadores de receptores “Toll-like” como oligodesoxinucleotídeo CpG, derivados do Lipídio A de lipopolissacarídeo, citocinas, lipossomos etc. O uso de MF59 em uma nova vacina do influenza permite a redução na quantidade de antígenos necessária para obter imunidade protetora.

A s **vacinas de DNA** oferecem grande potencial de imunização contra agentes infecciosos que exigem respostas de células T, mas não são adequadas para o uso em vacinas vivas. Para estas vacinas, o gene para uma proteína que produz respostas protetoras

é clonado em um plasmídio que permite que a proteína seja expressa em células eucarióticas. A molécula pura do DNA é injetada no músculo ou na pele da pessoa que vai receber a vacina, onde é captada pelas células, o gene é expresso, e a proteína é produzida e apresentada, ativando respostas de células T. As vacinas de DNA geralmente requerem um estímulo com proteína antigênica para produzir anticorpo.

Com o advento de novas tecnologias, deverá ser possível desenvolver vacinas contra agentes infecciosos como *Streptococcus mutans* (para prevenir cárie dentária), os vírus do herpes, HIV e parasitas como *Plasmodium falciparum* (malária) e *Leishmania*. De fato, deverá ser possível produzir uma vacina para quase todos os agentes infecciosos uma vez que o imunógeno protetor apropriado seja identificado e seu gene isolado.

Programas de Imunização

Um programa de vacinação eficaz pode poupar milhões de dólares nos custos de cuidados à saúde. Um programa efetivo não apenas protege cada pessoa vacinada contra a infecção e a doença, mas também reduz o número de pessoas suscetíveis na população, impedindo a disseminação do agente infeccioso. Embora a imunização possa ser o melhor meio de proteger as pessoas contra infecção, não podem ser desenvolvidas vacinas para todos os agentes infecciosos. A razão é que é muito demorado e dispendioso desenvolver vacinas. O Quadro 13-1 lista as considerações que são determinantes na escolha de um candidato para um programa de vacinação.

Quadro 13-1 Propriedades de um Bom Candidato para o Desenvolvimento de Vacina

O organismo causa doença significativa.
O organismo existe apenas como um sorotipo.
O anticorpo bloqueia a infecção ou a disseminação sistêmica.
O organismo não tem potencial oncogênico.
A vacina é termoestável, de modo que pode ser transportada para áreas endêmicas.

A varíola natural foi eliminada por meio de um programa de vacinação eficaz porque era uma boa candidata para tal programa; o vírus existia em apenas um sorotipo, os sintomas estavam sempre presentes nas pessoas infectadas e a vacina era relativamente benigna e estável. Contudo, sua eliminação ocorreu apenas como resultado de um esforço combinado e cooperativo por parte da OMS e de agências locais de saúde ao redor do mundo. O rinovírus é um exemplo de candidato ruim para o desenvolvimento de vacina, porque a doença viral não é grave e há sorotipos demais para que a vacinação seja bem-sucedida. Os aspectos práticos e os problemas com o desenvolvimento de vacinas estão relacionados no Quadro 13-2.

Quadro 13-2 Problemas com o Uso de Vacina

A vacina viva pode ocasionalmente se reverter em formas virulentas.

A interferência de outros organismos pode impedir a infecção produzida por uma vacina de vírus vivo; por exemplo, a rubéola impede a replicação do poliovírus.

A vacinação de um indivíduo imunocomprometido com uma vacina viva pode ser ameaçadora à vida. Podem ocorrer efeitos colaterais, incluindo hipersensibilidade e reações alérgicas ao antígeno, ao material não microbiano na vacina e aos contaminantes (p. ex., ovos).

O desenvolvimento da vacina e o seguro de responsabilidade para o fabricante são muito caros, com lucros limitados.

Os microrganismos com muito sorotipos são difíceis de controlar com vacinação.

Do ponto de vista do indivíduo, a vacina ideal deveria desencadear imunidade segura e duradoura contra a infecção sem efeitos colaterais sérios. Os fatores que influenciam o sucesso de um programa de imunização incluem não apenas a composição da vacina, mas também a época, o local e as condições de sua administração.

O calendário de vacinação recomendado para crianças são apresentados na Figura 13-3. Nos Estados Unidos, as tabelas de calendários recomendados para vacinação de crianças, adolescentes e adultos, e para casos especiais são fornecidas anualmente pelo “Advisory Committee on Imunization Practices (ACIP) do Centers for Disease Control”. **Imunizações de**

reforço de vacinas inativadas e da vacina viva do sarampo são necessárias mais tarde na vida. Mulheres abaixo dos 26 anos devem receber a vacina do papiloma humano, e estudantes universitários devem receber a vacina meningocócica ou um reforço. Os adultos devem ser imunizados com vacinas para *S. pneumoniae* (pneumococo), influenza, raiva, vírus da hepatite B, e outras doenças, dependendo de seus trabalhos, do tipo de viagem que fazem, e outros fatores de risco que possam torná-los particularmente suscetíveis a agentes infecciosos específicos. Discussão adicional de cada uma das vacinas é apresentada com a doença que elas previnem.

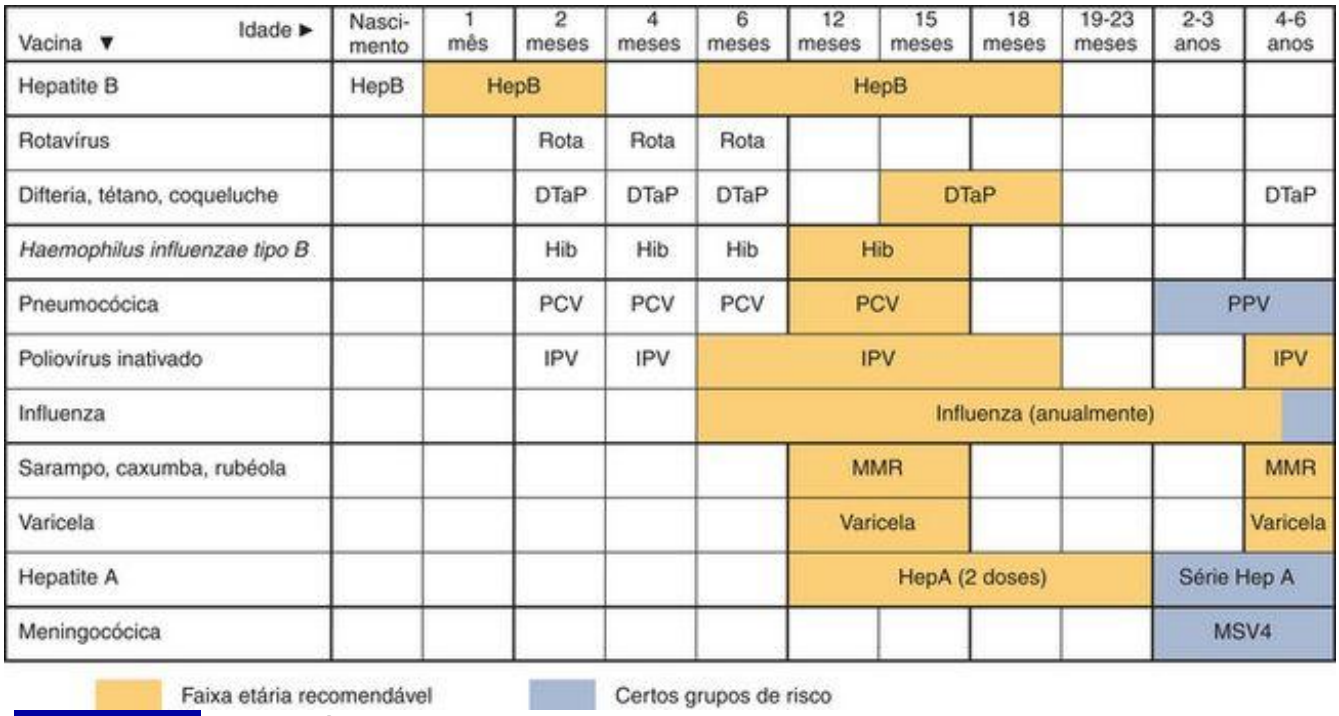


Figura 13-3 Calendário de imunização infantil recomendado pelo centro de controle e prevenção de doenças dos Estados Unidos ("*Centers for Disease Control and Prevention*"). As vacinas estão listadas nas idades rotineiramente recomendadas para sua administração. As barras indicam as faixas etárias aceitáveis para vacinação. Por exemplo, a vacina da hepatite B deve ser administrada a crianças de 11 a 12 anos de idade que não tenham sido previamente vacinadas; a vacina do vírus varicela-zóster deve ser administrada a crianças que não foram previamente vacinadas e que não tenham uma história prévia confiável de catapora. Vacinas de toxoides da difteria e do tétano e da coqueluche acelular; toxoides do tétano e da difteria, absorvidos, para uso adulto. DTaP, difteria e tétano: HepA, hepatite A; HepB, hepatite B; Hib, *haemophilus influenzae* tipo B; IPV, poliovírus inativado; MMR, sarampo, caxumba e rubéola; MSV4, meningocócica; PCV, conjugado pneumocócico; PPV, polissacarídeo pneumocócico; Rota, rotavírus. (Do comitê consultor de práticas de imunização do centro de controle e prevenção de doenças dos Estados Unidos – "*Centers for Disease Control and Prevention Advisory Committee on Immunization Practice"s*: http://www.cdc.gov/nip/acip.)

Questões

1. Por que uma vacina inativada é utilizada em vez de uma vacina viva para as seguintes imunizações: raiva, influenza, tétano, vírus da hepatite B, *H. Influenzae* B, difteria, pólio e coqueluche?

1. Vacinas inativadas são usadas quando vacinas atenuadas não podem ser geradas de forma segura ou quando a resposta de anticorpos é suficiente para proteção. Embora vacinas inativadas sejam as mais predominantemente usadas, uma vacina viva para influenza foi licenciada.

2. O tétano é tratado com imunização passiva e prevenido por imunização ativa. Compare a natureza e a função de cada uma dessas terapias.

2. Tratamento por imunização passiva com anticorpos é como tratar a infecção com, por exemplo, uma droga que bloqueia a ação da toxina tetânica: tem reação imediata, mas dura aproximadamente apenas 2 meses, tempo em que o anticorpo é eliminado do sistema. Imunização ativa produz células as quais, por sua vez, produzem uma resposta imune que é mais duradora e intensa, mas que leva tempo para ser estabelecida.

3. A vacina da pólio inativada é administrada por via intramuscular ao passo que a vacina da pólio viva é administrada como uma vacina oral. Como se diferenciam o curso da resposta imune e as imunoglobulinas produzidas em resposta a cada vacina? Que etapa na infecção por poliovírus é bloqueada em uma pessoa vacinada por cada vacina?

3. A vacina inativada da pólio promove uma resposta de anticorpos TH2. Este anticorpo não previne infecção, mas é suficiente para bloquear a progressão do vírus da pólio na corrente sanguínea e alcançar seus tecidos-alvo (músculos ou cérebro) e, portanto, evita a doença.

A vacina oral infecta o indivíduo com mutantes atenuados dos três tipos de poliovírus para que se inicie uma resposta natural para cada vírus, incluindo uma reposta de IgA secretora. O desenvolvimento de células de memória é mais forte e mais permanente.

4. Por que programas de vacinação de larga escala ainda não foram desenvolvidos para rinovírus, vírus do herpes simples e vírus respiratório sincicial?

4. Rinovírus: Existem muitos sorotipos de rinovírus para os quais vacinas deveriam ser desenvolvidas e, além disso, este vírus não causa doença que ameaça a vida.

Vírus do herpes simples: embora uma vacina viva fosse o ideal (pela importância de promover uma reposta TH1 protetora), um vírus verdadeiramente atenuado o qual é incapaz de estabelecer uma infecção latente-recorrente não foi desenvolvido. Uma subunidade de vacina capaz de iniciar produção de anticorpos está em fase de teste, mas parece ser efetiva apenas em mulheres.

Vírus sincicial respiratório: uma vacina de eliminação do vírus foi desenvolvida a qual exacerba, ao invés de curar, a doença, devido ao desenvolvimento de resposta imune inapropriada. Desenvolvimento de um vírus atenuado é difícil por causa da rápida taxa de mutação deste, e de outros, vírus de RNA. Além disso, não há um bom método de cultura de tecido para crescimento deste vírus.

5. Descreva os benefícios na saúde pública ou pessoal que justificam o desenvolvimento dos seguintes programas principais de vacinação: sarampo, caxumba, rubéola, pólio, varíola, tétano e coqueluche.

5. Estes agentes causam morbidade e mortalidade significativa em indivíduos infectados. Há um limitado número de sorotipos destes agentes sendo que vacinas estáveis, seguras e relativamente de baixo custo podem ser desenvolvidas.

Doença de imunodeficiência	Defeito imune	Suscetibilidade a infecções específicas
Síndrome de Chédiak-Higashi	Prejuízo na liberação dos conteúdos do lisossomo dentro do fagossomo, o que retarda a destruição das bactérias fagocitadas.	Infecções piogênicas (estafilococos e estreptococos)
Doença granulomatosa crônica	Incapacidade de gerar peróxido de hidrogênio para destruir bactérias fagocitadas	Infecções recorrentes com bactérias Gram positivas e Gram negativas, especialmente *S. aureus* e *P. aeruginosa*.
Deficiência de complemento C5	Diminuição da quimiotaxia e destruição bacteriana	Infecções bacterianas
Deficiência de complemento C3	Inibição da cascata do complemento. C3 é parte central tanto da rota clássica quanto da rota da properidina	Estafilocos, estreptococos e outras infecções por bactérias Gram positivas
Deficiência de complemento C1	Inibição da rota clássica do complemento	Infecções bacterianas
Deficiência de IgA	Células B deficientes, produção insuficiente de citocinas, mutação nas cadeias J e secretoras	Infecções respiratórias e gastrointestinais
Agamaglobulinemia ligada ao X	Deficiência em CD40 (alterações nas células T auxiliares); defeito na maturação de células pré-B	Infecções bacterianas e outras
Deficiência de célula T ligada ao X	Várias possibilidades: p. ex., defeito de sinalização de citocinas devido à falta de receptor de função; síndrome de hiperIgM (deficiência de CD40L)	Infecções intracelulares: virais, bactérias intracelulares, fungos. No caso de hiperIgM: *Pneumocystis jiroveci*
AIDS	Depleção de células CD4 T	Infecções intracelulares: virais, bactérias intracelulares, fungos
Síndrome de DiGeroge	Defeito no desenvolvimento do timo	Infecções intracelulares: virais, bactérias intracelulares, fungos
Deficiência de IgE	Mutação no gene da IgE	Nenhuma deficiência evidente

Sarampo e varíola são os principais vírus que podem matar aqueles que possuem apenas

um sorotipo. Além disso, o sarampo sempre causa uma doença visível, o que permite colocar o paciente em quarentena, facilitando o sucesso dos programas de vacinação.

Caxumba é problemática, mas normalmente não ameaça a vida; existe somente um sorotipo, sendo que uma vacina viva efetiva foi desenvolvida a qual pode ser administrada juntamente com as vacinas do sarampo e da rubéola.

A vacina da rubéola foi desenvolvida para reduzir o desenvolvimento da doença congênita. A rubéola também tem apenas um sorotipo.

A vacina do tétano é uma proteína toxoide a qual produz anticorpos que evitam a ação da toxina. Tétano é uma doença de considerável prevalência que ameaça a vida.

Uma vacina acelular contra pertussis previne o desenvolvimento da coqueluche, uma doença que pode ser mortal para crianças pequenas. O aumento da incidência desta doença em adolescentes e adultos promoveu o desenvolvimento de doses de reforço.

Bibliografia

Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Declarações disponíveis on-line em www.cdc.gov/nip/acip

Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Página de informações sobre imunização on-line disponível em www.cdc.gov

National Coalition for Adult Immunization on-line at www.nfid.org/ncai/

Plotkin SA, Orenstein WA. Vaccines, 4th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Rosenthal KS. Vaccines make good immune theater: Immunization as described in a three-act play. *Infect Dis Clin Pract*. 2006;14:35-45.

Rosenthal KS, Zimmerman DH. Vaccines: All things considered. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13:821-829.

Vaccination information statements Vaccination information statements disponível on-line em www.immunize.org/vis

Vaccines: National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) fact sheet disponível on-line em www.niaid.nih/gov/publications/vaccine.htm

World Health Organization: Diseases and vaccines fact sheet disponível on-line em www.who.int/vaccines-diseases/index.html

Seção 4
Princípios Gerais do Diagnóstico Laboratorial

14 Princípios de Microscopia e Aplicações

A verdadeira complexidade do ambiente que nos circunda não foi estimada até a observação dos primeiros microrganismos através das lentes de um microscópio. Sem dúvida, o uso da microscopia ajudou a definir as relações entre uma diversidade de organismos, variando desde os menores vírus constituídos de algumas poucas proteínas e informação genética mínima até parasitas de quase 10 metros de comprimento.

Em geral, a microscopia é utilizada na microbiologia com dois propósitos básicos: a detecção inicial de micróbios e sua identificação preliminar ou definitiva. O exame microscópico das amostras clínicas é utilizado para detectar células bacterianas, fungos, parasitas (ovos, larvas ou formas adultas) e corpúsculos de inclusões virais presentes nas células infectadas. Propriedades morfológicas características podem ser utilizadas na identificação preliminar da maioria das bactérias sendo utilizadas para a identificação definitiva de muitos fungos e parasitas. A detecção microscópica de organismos corados com anticorpos marcados com corantes fluorescentes ou outros marcadores provou ser muito útil para a identificação específica de muitos organismos. Em geral cinco métodos microscópicos são utilizados (Quadro 14-1).

Quadro 14-1 Métodos Microscópicos

Microscopia de campo-claro (luz)
Microscopia de campo escuro
Microscopia de contraste de fase
Microscopia fluorescente
Microscopia eletrônica

Métodos Microscópicos

Microscopia de Campo Claro (Luz)

Os componentes básicos dos microscópios ópticos consistem de uma fonte de luz utilizada para iluminar a amostra colocada em uma base, um condensador utilizado para focalizar a luz na amostra e dois sistemas de lentes (**lentes objetivas** e **lentes oculares**) utilizadas para aumentar a imagem da amostra. A imagem é ampliada primeiro pelas lentes objetivas, e então pelas lentes oculares. O aumento total da imagem é o produto do aumento da lente objetiva pelo aumento da lente ocular. Três lentes objetivas diferentes são utilizadas comumente: de baixo aumento (10 ×), que pode ser utilizada para escanear uma amostra; de grande aumento (40 ×), que é usada para examinar micróbios maiores como parasitas e fungos filamentosos; e a de imersão em óleo (100 ×), utilizada para observar bactérias, leveduras (estágio unicelular dos fungos), e detalhes morfológicos de organismos maiores e células. As lentes oculares podem aumentar ainda mais a imagem (geralmente 10 a 15×).

A limitação do microscópio de campo claro é a resolução da imagem (isto é, a habilidade de distinguir dois objetos individualizados). O **poder de resolução** de um microscópio é determinado pelo comprimento da onda de luz utilizada para iluminar a amostra e o ângulo de penetração desta luz nas lentes objetivas (conhecido como **abertura numérica**). O poder de resolução aumenta quando se coloca óleo entre a lente objetiva (tipicamente a lente de 100 vezes) e a amostra, devido à redução da dispersão da luz pelo óleo. Os melhores microscópios de campo claro têm poder de resolução de aproximadamente 0,2µm, permitindo a visualização da maioria das bactérias, mas não dos vírus. Embora a maioria dos organismos maiores e das bactérias possa ser vista com microscopia de campo claro, os **índices de refração** dos organismos e do fundo são similares. Dessa forma, organismos devem ser corados com um corante para que possam ser observados ou deve-se utilizar um método microscópico alternativo.

Microscopia de Campo Escuro

As mesmas lentes objetiva e ocular utilizadas nos microscópios de campo claro são utilizadas no microscópio de campo escuro; entretanto, um **condensador** especial é utilizado para impedir que a luz transmitida ilumine diretamente a amostra. Somente a luz oblíqua e dispersa atinge a amostra passando pelo sistema de lentes fazendo com que a amostra se torne iluminada brilhantemente contra um fundo escuro. A vantagem desse método é que o poder de resolução da microscopia de campo escuro é significativamente superior quando comparada com a microscopia de campo claro (*i.e.*, 0,02µm *versus* 0,2µm), tornando possível a detecção de bactérias extremamente finas, como o *Treponema pallidum* (agente etiológico da sífilis) e a *Leptospira* spp. (leptospirose). A desvantagem desse método é que a luz passa ao redor, e não através do organismo, e sua estrutura interna não pode ser estudada.

Microscopia de Contraste de Fase

A microscopia de contraste de fase permite o exame dos detalhes internos dos micróbios. Nesta forma de microscopia, quando feixes de luz passam através de objetos de diferentes densidades, o comprimento de onda de um feixe se move fora de “fase” em relação ao outro feixe de luz (*i.e.*, o feixe que passa através do material mais denso é mais atrasado que o outro feixe). Através do uso de **anéis anulares** no condensador e na lente objetiva, as diferenças na fase são ampliadas, de modo que a luz em fase aparece mais brilhante que a luz fora de fase. Isto cria uma imagem tridimensional do organismo ou amostra, permitindo uma análise mais detalhada das estruturas internas.

Microscopia de Fluorescência

Alguns compostos denominados **fluorocromos** podem absorver comprimentos de onda curtos da luz ultravioleta ou ultra-azul e emitir energia no comprimento de onda maior visível. Embora alguns microrganismos apresentem fluorescência natural (**autofluorescência**) a microscopia de fluorescência envolve tipicamente a coloração de organismos com corantes fluorescentes e exames com um microscópio fluorescente especialmente projetado. O microscópio utiliza uma lâmpada de mercúrio, de halogênio ou de vapor de xenônio de alta pressão que emite um comprimento de onda mais curto daquele emitido pelo microscópio de campo claro tradicional. Vários filtros são utilizados para bloquear o calor gerado pelas lâmpadas, eliminar a luz infravermelha, e selecionar o comprimento de onda apropriado para excitar o fluorocromo. A luz emitida a partir do fluorocromo é amplificada através das lentes objetiva e ocular tradicionais. Amostras e organismos corados com os fluorocromos aparecem iluminados brilhantemente contra um fundo escuro, embora as cores variem dependendo do fluorocromo utilizado. O contraste entre o organismo e o fundo é grande o bastante para que a amostra possa ser rapidamente visualizada em baixo aumento, e o material possa ser examinado em grande aumento uma vez que a fluorescência foi detectada.

Microscopia Eletrônica

Diferentemente de outras formas de microscopia, nos microscópios eletrônicos são utilizados **espirais magnéticas** (no lugar das lentes) para direcionar um feixe de elétrons de um filamento de tungstênio através da amostra em direção à tela. Como um comprimento de luz muito mais curto é utilizado, o aumento e a resolução são notavelmente aumentados. Partículas virais individuais (contrastando com os corpúsculos de inclusão virais) só podem ser observadas com a microscopia eletrônica. Normalmente, as amostras são coradas e cobertas com íons metálicos para criar o contraste. Existem dois tipos de microscopia eletrônica: o **microscópio eletrônico de transmissão**, em que os elétrons semelhantes à luz passam diretamente através da amostra, e o **microscópio eletrônico de varredura**, que os elétrons encobrem a superfície da amostra em ângulo e uma imagem tridimensional é produzida.

Métodos de Análise

Amostras clínicas ou suspensões de microrganismos podem ser colocadas em uma lâmina de vidro e examinadas ao microscópio (*i.e.*, exame direto de uma preparação a fresco). Embora grandes organismos e material celular possam ser observados pela utilização desse método, a análise dos detalhes internos é frequentemente difícil. A microscopia de contraste de fase pode superar alguns destes problemas; alternativamente, a amostra ou o organismo pode ser corado por uma variedade de métodos (Tab. 14-1).

Tabela 14-1 Preparações Microscópicas e Colorações Utilizadas no Laboratório de Microbiologia Clínica

Método de Coloração	Princípio e Aplicações

Exame Direto	
Preparação a fresco	Preparações não coradas examinadas por microscopia de campo claro, campo escuro ou contraste de fase
KOH a 10%	O KOH é utilizado para dissolver material proteico e facilitar a detecção de elementos fúngicos que não são afetados por solução alcalina forte. Corantes como o *lactofenol* azul-de-algodão podem ser adicionados para aumentar o contraste entre os elementos fúngicos e o fundo.
Tinta da China	Modificação do método KOH, em que a tinta da China é adicionada como material contrastante. Corante primário utilizado para detectar *Cryptococcus* spp. no líquido cefalorraquidiano e outros fluidos corpóreos. A cápsula polissacarídica de *Cryptococcus* spp. exclui a tinta, criando um halo transparente ao redor da célula fúngica.
Solução de Lugol e iodo	O iodo é adicionado na preparação a fresco de amostras parasitológicas para aumentar o contraste das estruturas internas. Facilita a diferenciação de protozoários e leucócitos do hospedeiro.
Colorações diferenciais	
Coloração de Gram	Coloração mais frequentemente utilizada no laboratório de microbiologia, constituindo a base para a classificação dos principais grupos de bactérias (p. ex., Gram positivos, Gram negativos). Após a fixação na lâmina de vidro (por aquecimento ou tratamento com álcool), a amostra é exposta a uma solução de cristal-violeta, e em seguida o iodo é adicionado para formar um complexo com o corante primário. Durante a descoloração com álcool ou acetona, o complexo é retido nas bactérias Gram positivas mas perdido nos microrganismos Gram negativos; o contracorante safranina é retido pelos organismos Gram negativos (daí a sua cor vermelha). O grau de retenção do corante pelos microrganismos depende do microrganismo, das condições de cultivo e da habilidade de coloração do microscopista.
Coloração por hematoxilina férrica	Utilizada para detecção e identificação de protozoários fecais. As larvas e ovos de helmintos retêm muito mais corante e são mais facilmente identificadas em preparações a fresco.
Coloração pela metenamina-prata	Geralmente mais realizadas nos laboratórios de histologia do que nos laboratórios de microbiologia. Utilizada primariamente para detecção de fungos nos tecidos, embora outros organismos como bactérias, possam ser detectados. A coloração pela prata requer habilidade, porque a coloração inespecífica pode impossibilitar a interpretação da lâmina.
Coloração pelo azul-de-toluidina O	Utilizada primariamente para detecção de *Pneumocystis* em amostras respiratórias. Os cistos coram-se em azul-avermelhado a vermelho-escuro em um fundo azul-claro. A coloração do fundo é removida por reagente sulfatado. Os fungos se coram, sendo difícil distingui-los dos *Pneumocystis*. Os trofozoítos não se coram. Muitos laboratórios têm substituído essa coloração por colorações fluorescentes específicas.
Coloração tricrômica	Alternativa à hematoxilina férrica na coloração de protozoários. Os protozoários apresentam citoplasma verde-azulado a púrpura com núcleos e corpúsculos de inclusão vermelhos ou vermelhos- purpúreos; o fundo da amostra é verde.
Coloração Wright-Giemsa	Utilizada para detectar parasitas no sangue, corpúsculos de inclusão virais, clamídias, *Borrelia, Toxoplasma, Pneumocystis* e *Rickettsia* spp. Coloração policromática que contém uma mistura de azul-de-metileno, azul B e eosina Y. A coloração de Giemsa associa azul-de-metileno e eosina. Os íons eosina são carregados negativamente e coram componentes básicos das células de laranja a rosa, enquanto outros corantes coram estruturas celulares ácidas de várias tonalidades de azul a púrpura. Os trofozoítas de protozoários apresentam núcleo vermelho e citoplasma azul-acinzentado;

	fungos intracelulares e corpúsculos de inclusão coram-se tipicamente em azul; riquétsias, clamidias e *Pneumocystis* spp. coram-se de púrpura.
Colorações acidorresistentes	
Coloração Ziehl-Neelsen	Utilizada para corar micobactérias e outros organismos acidorresistentes. Os organismos são corados com carbol fucsina básica e resistem à descoloração com soluções ácido-álcali. O fundo é contracorado com azul-de-metileno. Os organismos aparecem vermelhos contra um fundo azul-claro. A captação da carbolfucsina requer aquecimento da amostra (coloração acidorresistente a quente).
Coloração de Kinyoun	Coloração acidorresistente a frio (não requer aquecimento). Mesmo princípio da coloração Ziehl-Neelsen.
Coloração com auramina-rodamina	Mesmo princípio das outras colorações acidorresistentes, exceto que corantes fluorescentes (auraminas e rodaminas) são utilizados para a coloração primária, e permanganato de potássio (agente oxidante forte) é o contracorante que inativa os corantes fluorescentes não ligados. Os organismos emitem fluorescência verde-amarelada contra um fundo preto.
Coloração acidorresistente modificada	Um agente de descoloração fraco é utilizado com qualquer um dos três corantes acidorresistentes listados. Enquanto as micobactérias são fortemente acidorresistentes, outros organismos coram-se fracamente (p. ex., *Nocardia, Rhodococcus, Tsukamurella, Gordonia, Cryptosporidium, Isospora, Sarcocystis*, e *Cyclospora*). Esses organismos podem ser corados mais eficientemente utilizando um agente descolorante fraco. Organsimos que retêm esse corante são citados como parcialmente acidorresistentes.
Colorações fluorescentes	
Coloração com laranja de acridina	Utilizada para detecção de bactéria e fungos em amostras clínicas. O corante se intercala no ácido nucleico (nativo ou desnaturado). Em pH neutro, bactérias, fungos e material celular coram-se em laranja-avermelhado. Em pH ácido (4,0), as bactérias e fungos permanecem vermelho-alaranjado, porém o material de fundo cora-se de amarelo-esverdeado.
Coloração com auramina-rodamina	Mesmo princípio apresentado nas colorações acidorresistentes.
Coloração com calcoflúor-branco	Utilizada para a detecção de elementos fúngicos e *Pneumocystis* spp. O corante se liga à celulose e quitina na parede celular; os microscopistas podem misturar o corante com KOH. (Muitos laboratórios têm substituído a coloração KOH tradicional por esta coloração).
Coloração direta com anticorpo fluorescente	Anticorpos (monoclonais ou policlonais) são complexados com moléculas fluorescentes. A ligação específica a um microrganismo é detectada pela presença do micróbio fluorescente. A técnica mostrou-se útil na detecção e identificação de muitos microrganismos (p. ex., *Streptococcus pyogenes, Bordetella, Francisella, Legionella, Chlamydia, Pneumocystis, Cryptosporidium, Giárdia*, vírus da influenza, vírus do herpes simples). A sensibilidade e a especificidade do teste são determinadas pelo número de organismos presentes na amostra e pela qualidade dos anticorpos utilizados nos reagentes.

KOH, hidróxido de potássio.

Exame Direto

Os métodos de exame direto são os mais simples para preparar amostras para o exame microscópico. A amostra pode ser suspensa em água ou salina fisiológica (**exame a fresco**), misturada com álcali para dissolver o material de fundo (**método do hidróxido de potássio [KOH]**), ou misturada com uma combinação de álcali e um corante de contraste (p. ex., **Lactofenol azul-de-algodão, iodo**). Os corantes coram o material celular inespecificamente, aumentando o contraste com o fundo, permitindo o exame detalhado das estruturas. Uma variação é o método da **tinta da China**, no qual a tinta escurece o fundo mais do que a célula. Este método é utilizado para detectar cápsulas envolvendo organismos, como a levedura *Cryptococcus* (o corante é excluído pela cápsula, criando um halo claro ao redor da célula leveduriforme), representando um método rápido para a detecção preliminar e identificação destes fungos importantes.

Colorações Diferenciais

Várias colorações diferentes são utilizadas para corar organismos específicos ou componentes do material celular. A **coloração de Gram** é a mais conhecida e amplamente utilizada formando a base para a classificação fenotípica das bactérias. As leveduras também podem se coradas por este método (leveduras são Gram positivas). Os corantes **hematoxilina férrica** e o **tricromo** são de valor inestimável para a identificação de protozoários parasitas, e a coloração **Wright-Giemsa** é utilizada para identificar parasitas do sangue e outros organismos. Corantes como *metenamina-prata* e azul-de-toluidina O têm sido amplamente substituídos por corantes diferenciais ou fluorescentes mais sensíveis e tecnicamente mais fáceis.

Colorações Acidorresistentes

No mínimo três colorações acidorresistentes diferentes são utilizadas, cada uma explorando o fato de que alguns organismos retêm um corante primário mesmo quando exposto a um forte agente de descoloração como as misturas de ácidos e álcoois. O **Ziehl-Neelsen** é o método mais antigo, porém requer aquecimento da amostra durante o procedimento de coloração. Muitos laboratórios têm substituído este método pela coloração álcool-acidorresistente a frio (**método de Kinyoun**) ou a coloração com fluorocromo (**método da auramina-rodamina**). O método do fluorocromo é a coloração de escolha porque uma grande área da amostra pode ser examinada rapidamente pela simples pesquisa de organismos fluorescentes contra um fundo escuro. Alguns organismos são "parcialmente acidorresistentes", retendo o corante primário somente quando são descorados com uma solução ácida fraca. Essa propriedade é característica de uns poucos microrganismos (Tab. 14-1), tornando-a muito valiosa para a identificação preliminar.

Colorações Fluorescentes

A coloração acidorresistente pela auramina-rodamina é um exemplo específico de uma coloração fluorescente. Vários outros corantes fluorescentes têm sido utilizados para corar amostras. Por exemplo, o **corante laranja de acridina** pode ser usado para corar bactérias e fungos, e o **calcoflúor branco** cora a quitina na parede celular dos fungos. Embora o corante laranja de acridina seja particularmente limitado nessas aplicações, o corante calcoflúor branco tem substituído as colorações com hidróxido de potássio. Outro procedimento é o exame de amostras com anticorpos específicos marcados com corantes fluorescentes (**coloração com anticorpos fluorescentes**). A presença de organismos fluorescentes é um método rápido tanto para a detecção quanto para a identificação do organismo.

Questões

1. Explique os princípios básicos da microscopia de campo claro, de campo escuro, de contraste de fase, fluorescente, e microscopia eletrônica. Dê um exemplo no qual cada método deve ser utilizado.

1. Na microscopia de campo claro uma luz visível passa através do condensador, em seguida pelo objeto a ser observado e, finalmente, por uma série de lentes que aumentam a imagem. Este método é a técnica mais comum de microscopia usada para examinar materiais fixados em lâminas de vidro.

A microscopia de campo escuro usa as mesmas lentes de aumento da microscopia de campo claro; no entanto, um condensador especial é usado para iluminar o objeto através de um ângulo oblíquo. Assim, o objeto aparece iluminado (claro) contra um fundo escuro. Este método é utilizado para visualizar organismos que são muito finos para serem observados na microscopia de campo claro (p. ex., o *Treponema* – agente etiológico da sífilis).

A microscopia de contraste de fase ilumina o objeto com raios de luz paralelos o que faz com que o objeto “mude de fase” em relação a cada tipo de raio. Isso permite que o objeto possa ser visto de forma tridimensional, o que é útil para a análise de estruturas internas.

Microscopia fluorescente usa lâmpadas de mercúrio, xenon ou halogênio de alta pressão as quais emitem luz de baixo comprimento de onda para iluminar o objeto. Uma série de filtros bloqueia o calor e a luz infravermelha selecionando um comprimento de onda específico emitido pelo objeto. Esta “fluorescência” é observada como um objeto altamente luminoso contra um fundo escuro. Esta técnica é muito útil para os organismos com fluorescência natural (p. ex., *Legionella*) e organismos corados com corantes fluorescentes específicos (p. ex., *Mycobacterium*).

2. Liste exemplos de exame microscópico direto, colorações diferenciais, colorações acidorresistentes e colorações fluorescentes.

2. Métodos de microscopia direta incluem o exame de amostras suspensas em água (exame direto de fungos, por exemplo) ou com um corante de contraste (azul de lactofenol para fungos ou iodo para parasitas).

Colorações diferenciais são as mais usadas para observação de bactérias (coloração de Gram e álcool-ácidorresistência), parasitas (coloração da hematoxilina férrica e do tricromo), e patógenos sanguíneos (Giemsa para *Borrelia* e *Plasmodium*). Uma grande quantidade de métodos de colorações ácidorresistentes foi desenvolvida (Ziehl-Neelsen, Kinyoun, fluorocrômica) para detecção de bactérias (M*ycobacterium, Nocardia, Rhodococcus*) e

parasitas (*Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora*). Colorações fluorescentes usuais têm sido desenvolvidas para detectar fungos (coloração calcoflúor) e organismos ácidorresistentes (coloração auramina-rodamina).

Bibliografia

Chapin K, et al. Principles of stains and media. In Murray P, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Murray P, Shea Y. ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed, Washington, DC: ASM Press, 2004.

Wiedbrauk D, et al. Microscopy. In Murray P, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Zimbro M, Power D. Difco and BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media. Sparks, Md: Becton Dickinson, 2007.

15 Cultura *In Vitro*: Princípios e Aplicações

A microbiologia teve início em 1676 quando Anton van Leeuwenhoek, utilizando um de seus primeiros microscópios, observou a presença de bactérias na água. Quase 200 anos mais tarde, Pasteur conseguiu cultivar bactérias em um meio de cultura contendo extrato de levedura, açúcar e sais de amônio. Em 1881 Hesse utilizou o agar, obtido na cozinha de sua esposa, para solidificar meios de cultura, permitindo o crescimento de colônias bacterianas macroscópicas. Ao longo dos anos, microbiologistas e cozinheiros têm retornado à cozinha para criar centenas de meios de cultura que são utilizados rotineiramente em laboratórios de microbiologia clínica. Embora testes que detectam rapidamente a presença de antígenos microbianos e testes moleculares que detectam a presença de ácidos nucleicos bacterianos tenham substituído os métodos de cultivo para a detecção de muitos microrganismos, as culturas *in vitro* continuam sendo um importante procedimento em todos os laboratórios clínicos. Para muitas doenças, o crescimneto *in vitro* de um microrganismo específico do sítio de infecção é o método definitivo para a identificação da causa dessa infecção.

O sucesso dos métodos de cultura depende da biologia do organismo, do sítio da infecção, da resposta imune do paciente à infecção e da qualidade dos meios de cultura. A bactéria *Legionella* é um importante patógeno respiratório, no entanto nunca fora isolada em cultura até ser reconhecido que seu crescimento *in vitro* exige a utilização de meios suplementados com ferro e L-cisteina. *Campylobacter*, um importante patógeno entérico, só pode ser isolado de espécimes fecais quando meios altamente seletivos foram incubados a 42°C em atmosfera de microaerofilia. *Chlamydia*, uma importante bactéria responsável por doenças transmitidas sexualmente, é um patógeno intracelular obrigatório que deve ser cultivado em células vivas. *Staphylococcus aureus*, o agente da síndrome do choque tóxico estafilocócica, produz doença pela liberação de uma toxina no sistema circulatório. A cultura de sangue quase sempre será negativa mas a cultura de material colhido no sítio no qual o organismo está crescendo possibilitará sua detecção. Em muitas infecções (p. ex., gastroenterite, faringite, uretrite), além do organismo responsável pela infecção, estarão presentes muitos outros organismos que fazem parte da microbiota normal do sítio infectado. Muitos meios que inibem os microrganismos presentes em sítios normalmente colonizados foram desenvolvidos e facilitam a detecção de organismos clinicamente importantes. A imunidade inata e adaptativa dos pacientes pode também inibir o patógeno e por isso técnicas de cultura muito sensíveis se tornam, com frequência, necessárias. Além disso, algumas infecções são caracterizadas pela presença de relativamente poucos microrganismos (p. ex., a maior parte dos pacientes com sepse tem menos de um microrganismo por mL de sangue), e por isso caldos de enriquecimento são, frequentemente, necessários. Finalmente, a qualidade dos meios de cultura deve ser cuidadosamente monitorada para demonstrar que funcionarão como previsto.

Relativamente poucos laboratórios preparam seus próprios meios de cultura. A maior parte dos meios é produzida por grandes companhias comerciais com competência nessa produção. Esta prática tem vantagens óbvias mas tem como consequência o fato de que a maioria dos meios a serem utilizados não foi recém-preparada. Embora a defasagem entre o preparo e a utilização dos meios de cultura geralmente não seja um problema, pode ter repercussões no isolamento de organismos fastidiosos (p. ex., *Bordetella pertussis*). Assim, laboratórios que executam testes sofisticados frequentemente devem ser capazes de preparar uma quantidade limitada de meios especializados a serem utilizados. Como formulações desidratadas da maioria dos meios de cultura estão disponíveis, esse preparo pode ser feito sem grandes dificuldades. Por favor, veja as referências na Bibliografia para informações adicionais sobre o preparo e o controle de qualidade dos meios de cultura.

Tipos de Meios de Cultura

Os meios de cultura podem ser subdivididos em quatro categorias gerais: (1) meios não seletivos de enriquecimento; (2) meios seletivos; (3) meios diferenciais; e (4) meios especializados (Tab. 15-1). Alguns exemplos estão resumidos abaixo.

Tabela 15-1 Tipos de Meios de Cultura

Tipo	Exemplos de Meios	Finalidade
Não seletivos	Agar sangue	Isolamento de bactérias e fungos
	Agar chocolate	Isolamento de bactérias, incluindo *Haemophilus* e *Neisseria gonorrhoeae*
	Agar Mueller-Hinton	Meio para teste de sensibilidade bacteriana
	Caldo tioglicolato	Meio de enriquecimento para bactérias anaeróbicas
	Agar Sabouraud dextrose	Isolamento de fungos
Seletivos, diferenciais	Agar MacConkey	Meio seletivo para bactérias Gram negativas; diferencial para espécies fermentadoras de lactose
	Agar manitol hipertônico	Meio seletivo para estafilococos; diferencial para *S. aureus*
	Agar xilose-lisina deoxicolato	Meio seletivo, diferencial para *Salmonella* e *Shigella* em culturas entéricas
	Meio Lowenstein-Jensen	Meio seletivo para micobactérias
	Agar Middlebrook	Meio seletivo para micobactérias
	Candida CHROMagar	Meio seletivo e diferencial para leveduras
	Agar inibidor de fungos filamentosos	Meio seletivo para fungos filamentosos
Especializados	Agar carvão extrato de levedura tamponado (BCYE)	Isolamento de *Legionella* e *Nocardia*
	Agar cistina telurito	Isolamento de C*orynebacterium diphtheriae*
	Caldo Lim	Isolamento de *Streptococcus agalactiae*
	Agar MacConkey sorbitol	Isolamento de *Escherichia coli* O157
	Agar Regan Lowe	Isolamento de *Bordetella pertussis*
	Agar tiosulfato – citrato – saisbiliares – sucrose (TCBS)	Isolamento de espécies de *Vibrio*

Meios Não Seletivos de Enriquecimento

Foram desenvolvidos para permitir o crescimento da maioria dos organismos que não possuam exigências nutricionais muito complexas (fastidiosas) de crescimento. São alguns dos meios mais comumente utilizados:

Agar sangue. Muitos tipos de agar sangue são utilizados em laboratórios clínicos. Contêm dois componentes principais: (1) um meio base (p. ex. triptona de soja, infusão de coração e cérebro, base *Brucella*); e (2) sangue (de carneiro, cavalo ou coelho). Vários outros suplementos podem ser adicionados para aumentar o leque de microrganismos que crescerão no meio.

Agar chocolate. É uma modificação do meio agar sangue. Quando o sangue ou a hemoglobina são adicionados ao meio base ainda muito quente ele se torna marrom (daí sua denominação). Este meio possibilita o crescimento da maioria das bactérias, incluindo algumas que não crescem em agar sangue (*i.e. Haemophilus*, algumas cepas patogênicas de *Neisseria*).

Agar Mueller-Hinton. É o meio recomendado para o teste rotineiro de suscetibilidade das bactérias. Tem uma composição bem definida de extratos de carne e caseína, sais, cátions divalentes e amido solúvel que é necessária para a obtenção de resultados reprodutíveis dos testes.

Caldo tioglicolato. É um dos vários caldos de enriquecimento usados para recuperar bactérias aeróbias e anaeróbias em quantidades baixas. Existem várias formulações mas a maioria inclui caseína, glicose, extrato de levedura, cisteina e tioglicolato de sódio. A suplementação com hemina e vitamina K aumenta o potencial de isolamento de bactérias anaeróbias.

Agar dextrose Sabouraud. É um meio de enriquecimento que consiste em caseína e tecido animal suplementado com glicose. É utilizado para o isolamento de fungos. Várias formulações foram desenvolvidas, mas a maioria dos micologistas utiliza aquela com baixas concentrações de glicose e pH neutro. Ao reduzir o pH e adicionar antibióticos para inibir bactérias, este meio pode se tornar seletivo para fungos.

Meios Seletivos e Diferenciais

Meios seletivos se destinam à recuperação de organismos específicos que podem estar presentes numa mistura com outros organismos (p. ex., patógenos entéricos nas fezes). Os meios são suplementados com inibidores que inibem o crescimento de organismos não desejados. Estes meios podem se tornar diferenciais pela adição de ingredientes específicos que permitam a identificação de organismos específicos na mistura (p. ex., adição de lactose e de um indicador de pH para detectar organismos fermentadores de lactose). Os seguintes são exemplos de meios seletivos e diferenciais:

Agar MacConkey. É seletivo para bactérias Gram negativas e diferencial para bactérias fermentadoras e não fermentadoras de lactose. Consiste de peptonas, sais biliares, lactose, vermelho neutro e cristal violeta. Os sais biliares e o cristal violeta inibem bactérias Gram positivas. Bactérias que fermentam lactose produzem ácidos que precipitam os sais biliares e resultam na coloração vermelha do indicador vermelho neutro.

Agar manitol hipertônico. É um meio seletivo usado para o isolamento de estafilococos. Consiste de caseína e tecido animal, extrato de carne, manitol, sais e vermelho fenol. Estafilococos podem crescer na presença de concentrações elevadas de sais e *S. aureus* pode fermentar o manitol produzindo colônias amarelas neste meio.

Agar xilose-lisina desoxicolato (XLD). É um agar seletivo usado para a detecção de *Salmonella* e *Shigella* em culturas entéricas. É exemplo de uma abordagem inteligente para detectar bactérias importantes em uma mistura complexa de bactérias não significantes. O meio consiste de extrato de levedura com xilose, lisina, lactose, sucrose, desoxicolato de sódio, tiosulfato de sódio, citrato de ferro amoniacal e vermelho de fenol. O desoxicolato de sódio inibe o crescimento da maioria das bactérias não patogênicas. As que crescem e fermentam lactose, sacarose ou xilose produzem colônias amarelas. *Shigella* não fermenta estes carboidratos e, por isso, forma colônias vermelhas. *Salmonella* fermenta xilose mas também descarboxila lisina, produzindo a diamina alcalina cadaverina que neutraliza os produtos ácidos da fermentação. Por isso, as colônias ficam vermelhas. Porque a maioria das *Salmonella* produz sulfeto de hidrogênio a partir do tiossulfato de sódio, as colônias ficam pretas na presença de citrato de ferro amoniacal, possibilitando a diferenciação entre *Salmonella* e *Shigella*.

Meio de Lowenstein-Jensen (LJ). Este meio, usado para o isolamento de micobactérias, contém glicerol, fécula de batata, sais e ovos (usados para coagular e solidificar o meio). Verde malaquita é adicionado para inibir o crescimento de bactérias Gram positivas.

Agar Middlebrook. Esse meio com agar também é usado para o isolamento de micobactérias. Contém os nutrientes necessários para o crescimento de micobactérias *(i.e*., sais, vitaminas, ácido oleico, albumina, catalase, glicerol, glicose) e verde malaquita para a inibição de bactérias Gram positivas. Em contraste com o meio LJ, é solidificado pela adição de agar.

***Candida* CHROMagar**. É um agar seletivo, diferencial, usado para o isolamento de diferentes espécies da levedura *Candida*. Contém cloranfenicol para inibir bactérias e uma mistura de substratos cromogênicos apropriados. As diferentes espécies de *Candida* têm enzimas que podem utilizar um ou mais desses substratos, liberando produtos corados e produzindo colônias coloridas. Assim, *C. albicans* forma colônias verdes, *C. tropicalis* forma colônias púrpura e *C. krusei* forma colônias rosa.

Agar inibitório de fungos filamentosos. Este meio é uma formulação enriquecida e seletiva usada para o isolamento de fungos patogênicos que não os dermatófitos. Contém cloranfenicol, adicionado para suprimir o crescimento de bactérias contaminantes.

Meios Especializados

Uma grande variedade de meios especializados permite a detecção de organismos específicos que podem ser fastidiosos ou tipicamente presentes em grandes misturas de organismos. Os meios mais comumente utilizados são descritos nos capítulos dos organismos específicos deste livro.

Cultura de Células

Algumas bactérias e todos os vírus são **microrganismos intracelulares estritos**, isto é, apenas podem crescer dentro de células vivas. Em 1949, Enders descreveu uma técnica de cultivo de células de mamíferos para o isolamento de poliovírus. Esta técnica se expandiu para o crescimento da maioria dos organismos intracelulares estritos. As culturas de células podem tanto ser de células que crescem e se dividem sobre uma superfície *(i.e.*, **em monocamadas**) ou de células que crescem em suspensão num meio líquido. Algumas culturas de células foram bem estabelecidas e podem ser mantidas indefinidamente. Estas culturas são comumente disponíveis comercialmente. Outras culturas devem ser preparadas imediatamente antes de serem infectadas com bactérias ou vírus e não podem ser mantidas nos laboratórios por mais de alguns ciclos de divisão celular (**culturas de células primárias**). A entrada dos microrganismos nas células é frequentemente regulada pela presença de receptores específicos. Assim, a capacidade diferencial de infectar linhagens de células específicas pode ser utilizada para a identificação bacteriana ou viral. Informações adicionais sobre o uso de culturas de células são fornecidas nos capítulos seguintes.

Princípios Gerais

A apresentação clínica da maioria das doenças (p. ex., sepse, pneumonia, gastroenterite, infecções intrabdominais) pode ser causada por uma grande variedade de organismos. Na verdade, é incomum o fato de uma determinada infecção ser causada por um microrganismo específico (p. ex., antrax causado por *Bacillus anthracis*, histoplasmose causada por *Histoplasma capsulatum*, influenza causada pelo vírus influenza). Assim, é importante que o laboratório de diagnóstico seja capaz de selecionar os meios apropriados para o isolamento dos organismos mais comuns e de selecionar meios especializados quando o clínico suspeitar de um organismo específico. Em geral, espécimes coletados de sítios normalmente estéreis (p. ex., fluidos estéreis como sangue, fluido espinhal e tecidos) são inoculados em meios sólidos e líquidos enriquecidos e não seletivos (p. ex., agar sangue e chocolate, tioglicolato ou outro caldo de enriquecimento). Se o espécime é potencialmente contaminado com organismos da microbiota normal do paciente, meios seletivos e diferenciais são incluídos (p. ex., agar MacConkey). Se há suspeita de um organismo específico, então o meio para isolamento deste organismo deve também ser adicionado. Portanto, os espécimes podem ser inoculados em uma grande variedade de meios. A situação se complica mais ainda se houver necessidade de adição de meios para isolamento de bactérias, micobactérias e fungos. É importante que o número de culturas e outros testes sejam cuidadosamente selecionados, particularmente se apenas uma quantidade limitada do espécime clínico estiver disponível. Se muitas culturas, colorações, testes para detecção de antígenos e testes para detecção de ácidos nucleicos forem solicitados, o espécime clínico terá que ser tão diluído que apenas uma quantidade inadequada ficará disponível para cada teste a ser realizado. Por essa razão, é importante que o microbiologista e o clínico trabalhem juntos na seleção dos testes mais sensíveis e apropriados. Em muitos casos, isso implicará a eliminação de colorações microscópicas e de testes para detecção de antígenos para que haja maximização da quantidade dos espécimes disponíveis para a realização de culturas.

Questões

1. Numere três fatores que afetam o sucesso das culturas.

Os três fatores que afetam o sucesso da cultura bacteriana são:

I) Transporte adequado da amostra clínica até o laboratório

II) Seleção adequada dos meios de cultura para semeadura

III) Incubação em condições adequadas

2. Dê três exemplos de meios de enriquecimento não seletivos.

Exemplos de meios enriquecidos, não seletivos:

I) Agar Sangue

II) Agar Chocolate

III) Agar Mueller Hinton

IV) Caldo tioglicolato

V) Agar Sabouraud Dextrose

3. Dê três exemplos de meios seletivos e diferenciais.

Exemplos de meios seletivos e diferenciais:

I) Agar MacConkey: enterais Gram negativos

II) Agar Sal Manitol: estafilococos

III) Agar Heckton: enterais Gram negativos

IV) Agar Lowenstein Jensen: micobactérias

V) CHROMagar: Candida

Bibliografia

Atlas R. Handbook of Microbiologic Media, 3rd ed., New York: CRC, 2004.
Atlas R, Snyder J. Handbook of Media for Clinical Microbiology, 2nd ed., New York: CRC, 2006.
Difco & BBL Manual of Microbiological Culture Media. Sparks, Md: Becton Dickinson. 2003.
Murray P, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Murray P, Shea Y. ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed., Washington, DC: ASM Press, 2004.

16 Diagnóstico Molecular

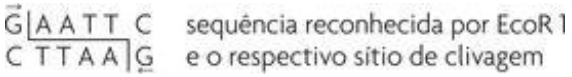
Como as evidências deixadas na cena de um crime, o DNA (ácido desoxirribonucleico), RNA (ácido ribonucleico) ou proteínas de um agente infeccioso em uma amostra clínica podem ser utilizados para ajudar a identificar o agente. Em muitos casos, o agente de interesse pode ser detectado e identificado desta forma, ainda que não possa ser isolado ou revelado por métodos imunológicos. Técnicas novas e adaptações de outras antigas estão sendo desenvolvidas para análise de agentes infecciosos.

As vantagens das técnicas moleculares são a sensibilidade, especificidade e segurança. Do ponto de vista de segurança, estas técnicas não requerem o isolamento do agente infeccioso e podem ser realizadas em amostras quimicamente fixadas (inativadas) ou em extratos. Graças à sensibilidade destas metodologias, amostras de DNA microbiano muito diluídas podem ser detectadas em um tecido, ainda que o agente não esteja se replicando ou produzindo outras evidências de infecção. Com base em diferenças do genótipo (*i.e.*, mutantes), estas técnicas podem diferenciar estirpes (cepas) relacionadas. Isto é especialmente útil para distinguir cepas resistentes a fármacos antivirais, que podem diferir em um único nucleotídeo.

Detecção de Material Genético Microbiano

Análise de DNA por Eletroforese e Polimorfismo Migratório de Fragmento de Restrição

A estrutura do genoma e a sequência genética são as principais características para diferenciar a família, o tipo e a estirpe de um microrganismo. Cepas específicas de microrganismos podem ser distinguidas com base em sequências de DNA ou RNA ou em fragmentos de DNA produzidos quando o DNA é clivado por endonucleases de restrição específicas (**enzimas de restrição**). As enzimas de restrição reconhecem sequências de DNA específicas que apresentam uma estrutura palindrômica; como no exemplo seguinte:



Os sítios de DNA reconhecidos por diferentes endonucleases de restrição diferem em sequência, tamanho e frequência de ocorrência. Como resultado, as diferentes endonucleases de restrição clivam o DNA de uma amostra em diferentes locais, gerando fragmentos de tamanhos diferentes. A clivagem de diferentes amostras de DNA por uma endonuclease de restrição pode igualmente produzir fragmentos de diversos tamanhos. As diferenças em tamanho dos fragmentos de DNA entre diferentes cepas de um microrganismo específico, produzidas pela clivagem com uma ou mais endonucleases de restrição, são denominadas **Polimorfismo Migratório de Fragmento de Restrição** [do inglês *restriction fragment length polymorphism* (**RFLP**)].

Fragmentos de DNA ou RNA com tamanhos e estruturas diferentes podem ser distinguidos pela respectiva mobilidade eletroforética em gel de agarose ou poliacrilamida. Diferentes formas da mesma sequência de DNA e DNAs com tamanhos diferentes movem-se através da matriz gelatinosa de agarose em velocidades diferentes, permitindo as respectivas separações. O DNA pode ser visualizado por coloração com brometo de etídio. Os pequenos fragmentos (menos de 20.000 pares de bases), como alguns plasmídeos bacterianos ou genomas de vírus, podem ser separados e diferenciados por eletroforeses convencionais. Os fragmentos maiores, como cromossomos bacterianos totais, podem ser separados somente com a utilização de uma técnica eletroforética especial denominada *eletroforese em gel de campo pulsado*.

O RFLP é útil para distinguir diferentes cepas do vírus herpes simples (HSV). A comparação dos padrões de clivagem do DNA por endonucleases de restrição de diferentes isolados pode identificar um padrão de transmissão do vírus de uma pessoa para outra ou de distinguir o tipo HSV-l de HSV-2. O RFLP também foi utilizado para demonstrar a disseminação de uma cepa de *Streptococcus*, causadora de fasciites necrotizante, de um paciente para outros, para um técnico do setor de emergência e para os médicos do mesmo departamento (Fig. 16-1).

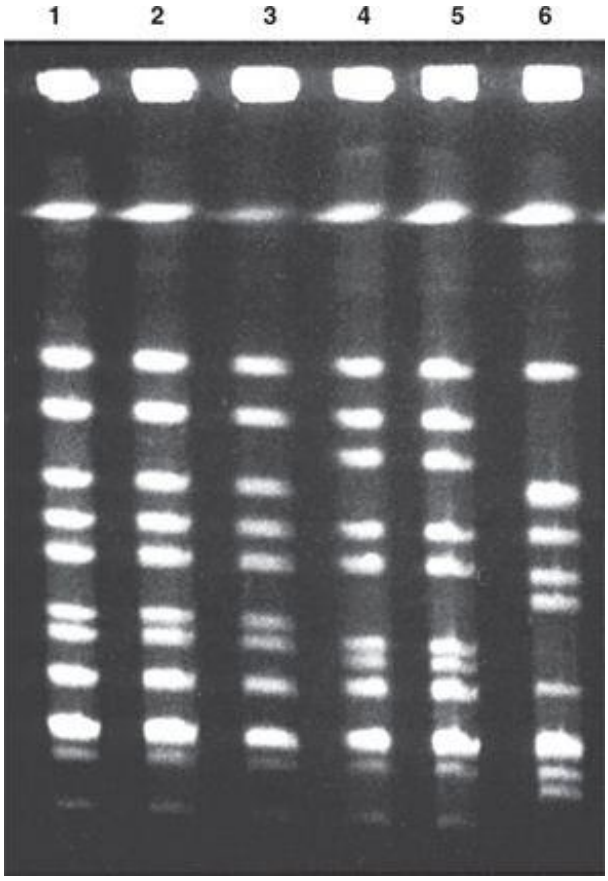


Figura 16-1 Distinção entre DNA de cepas bacterianas separadas por eletroforese em gel de campo pulsado *por polimorfismo* migratório de *fragmento de restrição*. Colunas 1 a 3 mostram os DNAs de bactérias isoladas de dois membros de uma família com fasciites necrotisante e do respectivo médico (faringite) digeridos com a endonuclease de restrição *Sma*I. Colunas 4 a 6 são DNAs de cepas de *Streptococcus pyogenes* não relacionadas.

(Cortesia do Dr. Joe DiPersio, Akron, Ohio.)

Sondas Genéticas

Sondas de DNA podem ser utilizadas como ferramenta de detecção para localizar e quantificar sequências específicas de ácidos nucleicos em amostras clínicas, com sensibilidade e especificidade comparáveis a técnicas envolvendo anticorpos (Fig. 16-2). Em virtude da especificidade e sensibilidade das técnicas que utilizam sondas de DNA, espécies ou cepas individuais de um agente infeccioso podem ser detectadas, mesmo se não estiverem crescendo ou replicando.

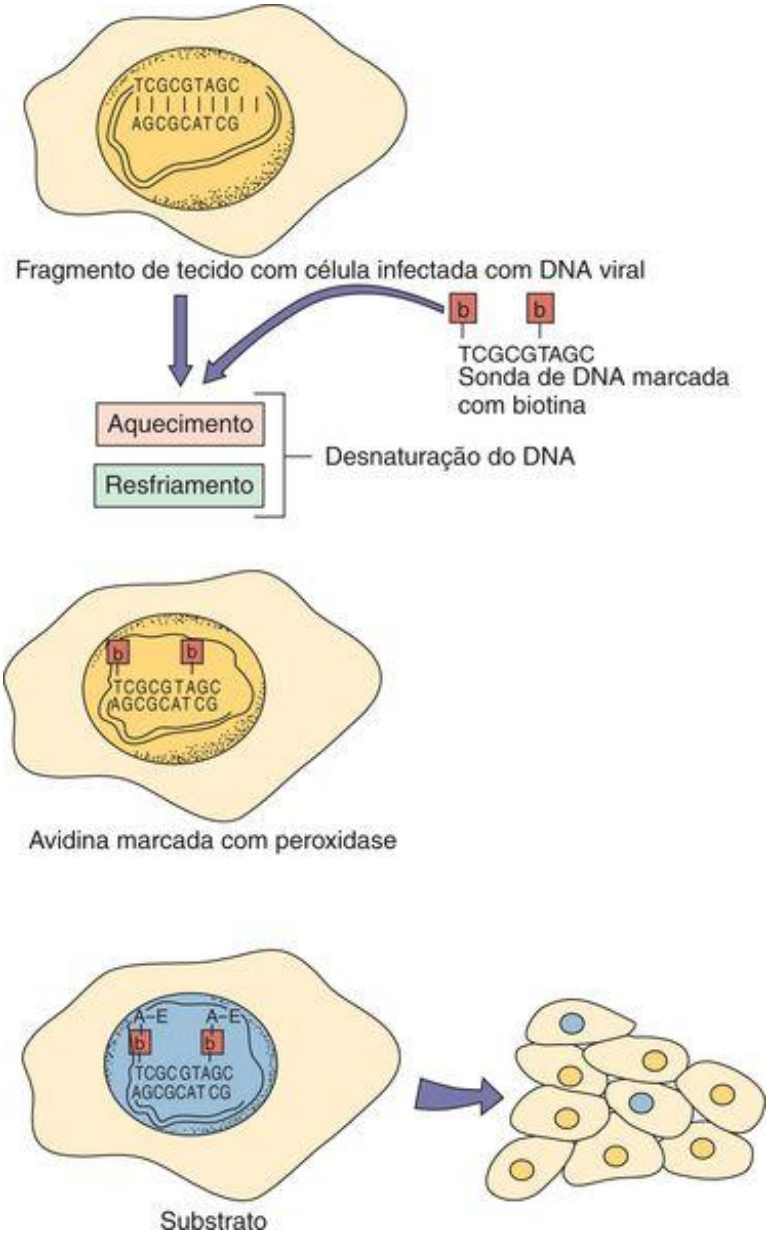


Figura 16-2 Análise de células infectadas com vírus por sonda de DNA. Essas células podem ser localizadas em cortes histológicos utilizando sondas de DNA muito pequenas como aquelas que contêm apenas nove nucleotídeos, ou plasmídeos bacterianos contendo o genoma viral. Uma sonda de DNA marcada é adicionada à amostra. Neste caso, a sonda de DNA é marcada com timidina-biotina modificada, mas agentes radioativos também podem ser utilizados. A amostra é aquecida para desnaturar o DNA e resfriada para permitir a hibridização da sonda à sequência complementar. Uma peroxidase marcada com avidina é adicionada para se ligar à biotina previamente ligada à sonda. O substrato adequado é adicionado para corar os núcleos de células infectadas. A. adenina; biotina; C, citosina, G, guanina; T, timina.

As sondas de DNA são sintetizadas quimicamente ou obtidas por clonagem de fragmentos específicos de um genoma ou um genoma viral completo em vetores bacterianos (plasmídeos, cosmídeos). Cópias de DNA de vírus com genoma de RNA são sintetizadas por transcriptase reversa de retrovírus e, em seguida, clonadas nesses vetores. Após tratamento químico ou térmico para a desnaturação (separação) das fitas de DNA da amostra, a sonda de DNA é adicionada e a **hibridação** (ligação ou anelamento) com sequência homóloga ou quase totalmente homóloga da amostra acontece. A **estringência** (requerimento de sequência exata de homologia) da interação pode ser variada para que as sequências relacionadas possam ser detectadas ou diferentes cepas (mutantes) possam ser distinguidas. As sondas de DNA são marcadas com nucleotídeos radioativos ou quimicamente modificados (p. ex., uridina biotinilada), para que possam ser detectados e quantificados. O emprego de uma sonda de DNA marcada com biotina permite utilizar avidina ou estreptavidina (proteínas que se ligam específica e fortemente à biotina) marcadas com um composto fluorescente ou uma molécula de enzima para detectar ácidos nucleicos virais em uma célula, de forma semelhante àquelas que a imunofluorescência indireta ou um ensaio imunoenzimático localizam um antígeno.

As sondas de DNA podem detectar sequências genéticas específicas em amostras de biópsias de tecidos fixados e permeabilizados por meio de **hibridação *in situ***. A localização de células infectadas por citomegalovírus (Fig. 16-3) ou papilomavírus por essa metodologia é preferível a técnicas imunológicas sendo o único meio comercial disponível para localização do papilomavírus. Atualmente, existem diversas sondas virais disponíveis comercialmente e *kits* para a detecção de vírus.

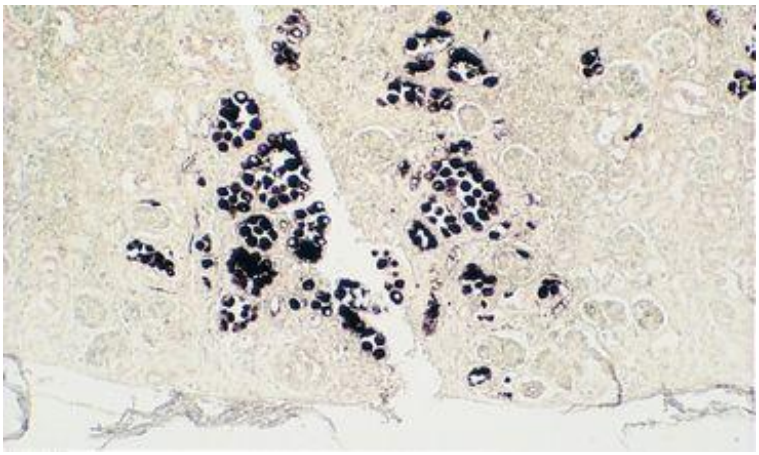


Figura 16-3 Localização *in situ* de infecção por citomegalovírus (CMV) utilizando uma sonda genética. A infecção dos túbulos renais por CMV é localizada com biotina marcada e ligada a uma sonda de DNA específica para CMV, sendo visualizada pela conversão do substrato pelo conjugado avidina-peroxidase, de forma semelhante a um enzimaimunoensaio.

(Cortesia de Donna Zabel, Akron, Ohio.)

Sequências específicas de ácidos nucleicos em extratos de uma amostra clínica podem ser detectadas pela aplicação de um pequeno volume do extrato em um filtro de nitrocelulose (***dot blot***), seguida da adição de uma sonda de DNA viral específico marcado. Alternativamente, o perfil eletroforético de uma amostra de DNA clivado por endonucleases de restrição pode ser transferido para um filtro de nitrocelulose (***Southern blot* –** hibridação DNA-DNA) e a sequência específica pode ser identificada por hibridação com uma sonda genética específica e pela mobilidade eletroforética característica. RNA separado por eletroforese e transferido para um filtro de nitrocelulose (***Northern blot* –** hibridação RNA-DNA) pode ser detectado de forma semelhante.

A **reação em cadeia da polimerase** (do inglês *polimerase chain reaction*, **PCR**) amplifica uma única cópia de DNA viral, ou de outros genomas, 1 milhão de vezes e é uma das técnicas mais recentes de análise genética (Fig. 16-4). Nesta técnica, uma amostra é incubada com um par de pequenos oligômeros de DNA (oligonucleotídeos), denominados ***primers*** (**sequências**

iniciadoras), que são complementares às extremidades de uma sequência genética conhecida dentro de um extrato total de DNA, uma DNA polimerase termoestável (*Taq* polimerase ou outra polimerase obtida de bactérias termofílicas), nucleotídeos e um tampão. Os oligômeros hibridizam com a sequência complementar do DNA molde e atuam como *primers* para a polimerase, que copia o segmento de DNA. A amostra é então aquecida para desnaturar o DNA (separando a fita dupla) e é resfriada para permitir a hibridação dos *primers* ao DNA sintetizado. Cada cópia de DNA sintetizado se torna um novo molde. O processo é repetido diversas (20 a 40) vezes, para amplificar a sequência original de DNA de forma exponencial. Por PCR, uma sequência molde pode ser amplificada 1.000.000 de vezes em poucas horas. Esta técnica é especialmente útil para detectar sequências de vírus em estado latente ou integrado no genoma da hospedeiro, como aquelas de retrovírus, herpes vírus, papiloma vírus, dentre outros.

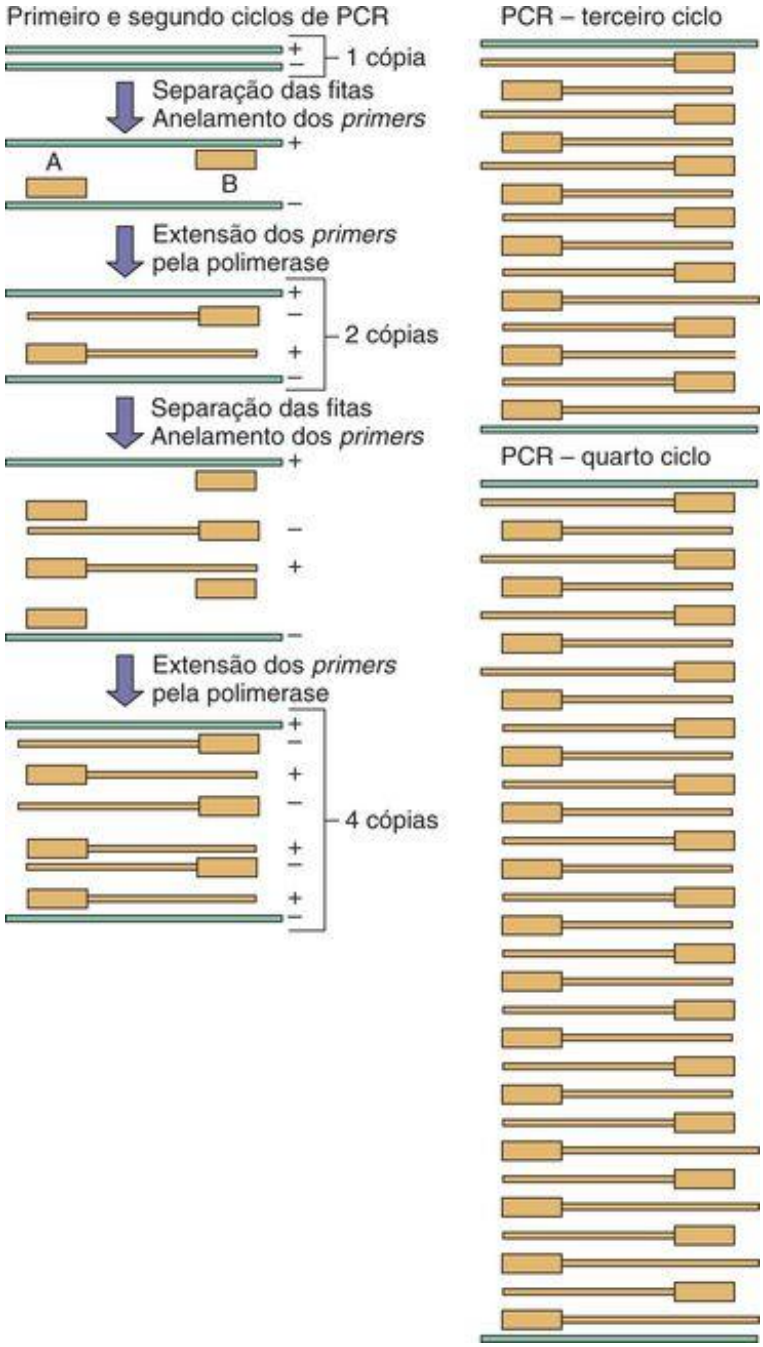


Figura 16-4 Reação em cadeia da polimerase (PCR). Esta técnica é um meio rápido de amplificar uma sequência conhecida de DNA. Uma amostra é misturada com a enzima DNA polimerase termoestável, excesso de desoxiribonucleotídeos trifosfatos, e um par de **primers** de DNA (oligômeros iniciadores), que são complementares às extremidades da sequência-alvo a ser amplificada. A mistura é aquecida para a desnaturação do DNA e, em seguida, resfriada para permitir a ligação dos *primers* ao DNA-alvo e a extensão desses pela polimerase. O ciclo é

repetido de 20 a 40 vezes. Após o primeiro ciclo, apenas a sequência delimitada pelo par de oligômeros iniciadores é amplificada. Na técnica de **RT-PCR**, o RNA também pode ser amplificado após a sua conversão para DNA pela transcriptase reversa. A e B, oligonucleotídeos de DNA utilizados como *primers*; fitas + e − de DNA.

(Modificado de Blair CE, Blair Zajdel ME: Biochem Educ 20:87-90. 1992.)

A Reação em Cadeia da Polimerase Via Transcriptidase Reversa [do inglês *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (**RT-PCR**)] é uma variação da PCR, que utiliza a transcripidase reversa de retrovírus para converter RNA viral ou RNA mensageiro em DNA antes da amplificação gênica por PCR. Em 1993, sequências de hantavírus foram utilizadas como *primers* para RT-PCR com o objetivo de identificar o agente causador de um surto de doença pulmonar hemorrágica em uma área "*Four Corners*" do estado do Novo México, EUA. O resultado demonstrou que o agente infeccioso era um hantavírus.

PCR em tempo real pode ser utilizada para quantificar amostras de DNA ou RNA, após ser convertido em DNA pela transcriptase reversa. Simplesmente, quanto mais DNA no sistema de amplificação mais rápido o novo DNA será amplificado em uma PCR, sendo a cinética da reação proporcional à quantidade de DNA molde. A produção de DNA de fita dupla é medida pelo aumento de fluorescência emitida por uma molécula ligada, especificamente, às moléculas de DNA de fitas duplas amplificadas ou por outros meios. Este procedimento é útil para quantificar o número de cópias do genoma do vírus da imunodeficiência humana (HIV) em sangue de pacientes, para avaliar o curso da doença e a eficácia de fármacos antivirais.

A **técnica de DNA de cadeia ramificada** é uma técnica de hibridação alternativa à PCR e RT-PCR para detectar pequenas quantidades de sequências específicas de DNA ou RNA. Esta técnica é especialmente útil para quantificar níveis plasmáticos de RNA do HIV (carga viral plasmática). Neste caso, o plasma é incubado em um tubo especial alinhado com uma pequena sequência de DNA complementar (cDNA) para capturar o RNA viral. Outra sequência de cDNA é adicionada para se ligar à amostra, que está ligada a uma molécula de DNA de cadeia ramificada artificialmente. Durante o desenvolvimento, cada ramificação é capaz de iniciar um sinal detectável. Isto amplifica o sinal a partir da amostra original. O **ensaio de captura híbrida** detecta e quantifica híbridos de RNA-DNA utilizando um anticorpo específico para o complexo, em uma técnica semelhante a um teste de ELISA (Cap. 17).

Kits de ensaios que utilizam variações das técnicas mencionadas anteriormente para detectar, identificar e quantificar diferentes microrganismos estão disponíveis comercialmente.

Detecção de Proteínas

Em alguns casos, os vírus e outros agentes infecciosos podem ser identificados pela detectação de determinadas enzimas características ou proteínas específicas. Por exemplo, a detecção da atividade enzimática da transcriptase reversa em cultura de células ou soro indica a presença de um retrovírus. O perfil proteico de um vírus ou outro agente também pode ser utilizado para a identificação e distinção de diferentes cepas de vírus ou bactérias por meio de eletroforese em gel poliacrilamida em condições desnaturantes (agente desnaturante SDS ou do decilsulfato de sódio) [do inglês *SDS-polyacrilamyde gel electrophorisis* ou SDS-PAGE]. Na SDS-PAGE, o SDS se liga à cadeia primária das proteínas para produzir estruturas de peptídeos com carga uniforme, de forma que a mobilidade das proteínas no gel é inversamente proporcional ao logaritmo da respectiva massa molecular, uma vez que, nessa condição, as cargas de todas as cadeias primárias são idênticas. Por exemplo, os padrões proteicos de HSV separados por eletroforese podem ser utilizados para distinguir diferentes tipos e cepas de HSV-1 e HSV-2. Os anticorpos podem ser utilizados para identificar proteínas específicas resolvidas por SDS-PAGE por meio de uma técnica denominada *Western blot* (Cap. 51). As técnicas moleculares usadas para identificar os agentes infecciosos estão resumidas na Tabela 16-1.

Tabela 16-1 Técnicas Moleculares

Técnica	Objetivo	Exemplos Clínicos
RFLP	Comparação de DNA	Epidemiologia molecular, cepas de HSV-1
Eletroforese de DNA	Comparação de DNA	Diferenças entre cepas de vírus (até 20.000 bases)
Eletroforese em gel de campo pulsado	Comparação de DNA (fragmentos grandes de DNA)	Comparações entre cepas estreptocócicas
Hibridação *in situ*	Detecção e localização de sequências de DNA em tecido	Detecção de DNA viral latente (p. ex., citomegalovírus, vírus do papiloma humano)
Dot blot	Detecção de sequências de DNA em solução	Detecção do DNA viral
Southern blot	Detecção e caracterização de sequências de DNA por tamanho	Identificação de cepas virais específicas
Northern blot	Detecção e caracterização de sequências de RNA por tamanho	Identificação de cepas virais específicas
PCR	Amplificação de amostras de DNA muito diluídas	Detecção de DNA de vírus
RT-PCR	Amplificação de RNA de amostras muito diluídas	Detecção de RNA de vírus
PCR em tempo real	Quantificação de amostras de DNA e RNA muito diluídas	Quantificação do genoma do HIV: carga viral
DNA ramificado	Amplificação de amostras de DNA e RNA muito diluídas	Quantificação de DNA e RNA de vírus
Ensaio de captura híbrida	Amplificação de amostras de DNA e RNA muito diluídas	Quantificação de DNA e RNA de vírus
SDS-PAGE	Separação de proteínas por peso molecular	Epidemiologia molecular de HSV

HSV, vírus herpes simples; PCR, reação em cadeia da polimerase; RFLP, Polimorfismo de Tamanho de Fragmento de Restrição; RT-PCR, reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa; SDS-PAGE, eletroforese em gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio.

Bibliografia

DiPersio JR, et al. Spread of serious disease-producing M3 clones of group A Streptococcus among family members and health care workers. *Clin Infect Dis*. 1996;22:490-495.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 12th ed., St Louis: Mosby, 2007.

Fredericks DN, Relman DA. Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of

infectious diseases. *Clin Infect Dis*. 1999;29:475-486.
Murray PR, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Murray PR. ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed, Washington, DC: ASM Press, 2004.
Specter S, Hodinka RL, Young SA. Clinical Virology Manual, 3rd ed, Washington, DC: ASM Press, 2000.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.

17 Diagnóstico Sorológico

Técnicas imunológicas são usadas para detectar, identificar e quantificar antígenos em amostras clínicas, como para avaliar a resposta de anticorpos a infecções e a história pessoal de exposição aos agentes infecciosos. A especificidade da interação antígeno-anticorpo e a sensibilidade de muitas das técnicas imunológicas fazem delas poderosas ferramentas laboratoriais (Tab. 17-1). *Na maioria dos casos, a mesma técnica pode ser usada para avaliar antígeno ou anticorpo*. Embora muitos ensaios sorológicos sejam desenvolvidos para prover resultados positivo ou negativo, pode-se estabelecer a quantificação (título) dos anticorpos. O **título** de um anticorpo é definido como a menor diluição da amostra que apresenta atividade detectável.

Tabela 17-1 Algumas Técnicas Imunológicas

Técnica	Objetivo	Exemplos Clínicos
Imunodifusão dupla de Ouchterlony	Detectar e comparar antígeno e anticorpo	Antígeno e anticorpo fúngico
Imunofluorescência	Detecção e localização do antígeno	Antígeno viral em biópsia (p. ex., raiva, vírus da herpes simples)
Enzimaimunoensaio (EIA)	Idêntico ao da imunofluorescência	Idêntico ao da imunofluorescência
Citometria de fluxo	Análise da população de células positivas para determinado antígeno	Imunofenotipagem
Ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas (ELISA)	Quantificação de antígenos ou anticorpos	Antígeno viral (rotavírus); anticorpo viral (anti-HIV)
Western blot	Detecção de anticorpo antígeno-específico	Confirmação de soropositividade anti-HIV
Radioimunoensaio (RIA)	Idêntico ao do ELISA	Idêntico ao do ELISA
Fixação do complemento	Quantificação dos títulos de anticorpos específicos	Anticorpo fúngico ou viral
Inibição da hemaglutinação	Títulos de anticorpos antivirais, sorotipar cepas virais	Soroconversão para cepa de influenza, identificação do vírus da influenza
Aglutinação do látex	Quantificação e detecção de antígenos e anticorpos	Fator reumatoide, antígenos fúngicos, antígenos estreptocócicos

HIV, Vírus da imunodeficiência humana.

Anticorpos

Os anticorpos podem ser usados como ferramentas sensíveis e específicas para detectar, identificar e quantificar antígenos de vírus, bactéria, fungo ou parasita. Anticorpos específicos podem ser obtidos de pacientes convalescentes (p. ex., anticorpos antivírus) ou preparados em animais. Estes são anticorpos **policlonais**, isto é, são preparações de anticorpos heterogêneos, que podem reconhecer muitos epítopos em um único antígeno. Anticorpos **monoclonais** reconhecem epítopos individuais em um antígeno. Anticorpos monoclonais para muitos antígenos estão disponíveis comercialmente, especialmente para antígenos da superfície celular de linfócitos.

O desenvolvimento da tecnologia do anticorpo monoclonal revolucionou a ciência da imunologia. Por exemplo, devido à especificidade dos anticorpos monoclonais, subgrupos de linfócitos (p. ex., células T CD4 e CD8) e antígenos da superfície celular de linfócitos foram identificados. Anticorpos monoclonais são produtos de células híbridas geradas pela fusão e clonagem de células do baço de cobaia imunizado e de célula de mieloma, que produz um hibridoma. O mieloma fornece o caráter de imortalidade às células B esplênicas, produtoras de anticorpos. *Cada clone de hibridoma é uma fábrica de uma molécula de anticorpo, produzindo um anticorpo monoclonal que reconhece somente um epítopo*. Anticorpos monoclonais podem também ser preparados e manipulados através da engenharia genética e serem "humanizados" para uso terapêutico.

As vantagens dos anticorpos monoclonais são que (1) sua especificidade pode ser direcionada para um único epítopo de um antígeno; e (2) eles podem ser preparados em culturas de tecidos de forma "industrializada". A principal desvantagem dos anticorpos monoclonais é que são frequentemente muito específicos, de modo que um anticorpo monoclonal específico para um epítopo de um antígeno viral de uma cepa, provavelmente, não reconhecerá diferentes cepas do mesmo vírus.

Métodos de Detecção

Os complexos antígeno-anticorpo podem ser detectados diretamente, por técnicas de precipitação ou por marcação dos anticorpos com sondas radioativa, fluorescente ou enzimática; ou podem ser detectados indiretamente, através da quantificação de uma reação provocada pelo anticorpo, como fixação de complemento.

Técnicas de Precipitação e Imunodifusão

Complexos específicos de antígeno-anticorpo e reações cruzadas podem ser distinguidos por técnicas de imunoprecipitação. Em um intervalo limitado de concentração de ambos, antígeno e anticorpo, denominada **zona de equivalência**, os anticorpos formam uma rede com os antígenos à qual é muito grande para ficar solúvel e então precipita. Esta técnica é baseada na natureza multivalente das moléculas de anticorpos (p. ex., imunoglobulina [Ig] G tem dois domínios de ligação ao antígeno). Os complexos antígeno-anticorpo são solúveis nas concentrações em que as proporções de antígeno para cada molécula de anticorpo estão acima ou abaixo da zona de equivalência.

Várias técnicas de imunodifusão fazem uso do conceito de equivalência para determinar a identidade de um antígeno ou a presença de anticorpo. **Imunodifusão radial simples** pode ser usada para detectar e quantificar um antígeno. Nesta técnica, o antígeno é colocado em um orifício e se espera a difusão do mesmo dentro do agar contendo o anticorpo. Quanto maior a concentração do antígeno, maior será a área de difusão para alcançar a equivalência com o anticorpo no agar e então haverá a precipitação, formando um anel em torno do orifício.

A técnica de **imunodifusão dupla de Ouchterlony** é utilizada para determinar a relação de diferentes antígenos conforme mostrado na Fig. 17-1. Nesta técnica, soluções de anticorpos e antígenos são colocadas em orifícios separados, cortados no agar, sendo que os antígenos e anticorpos se difundem um em direção ao outro para estabelecer gradientes de concentrações de cada substância. Uma linha visível de precipitação aparecerá na região de equivalência de antígeno e anticorpo. Tendo como base o desenho da linha de precipitação, esta técnica também pode ser usada para determinar se as amostras são idênticas, parcialmente idênticas (compartilham alguns, mas não todos, epítopos) ou distintas. Esta técnica é usada para detectar anticorpos contra antígenos fúngicos (p. ex., espécies de *Histoplasma, Blastomyces* e coccidiomicoses).

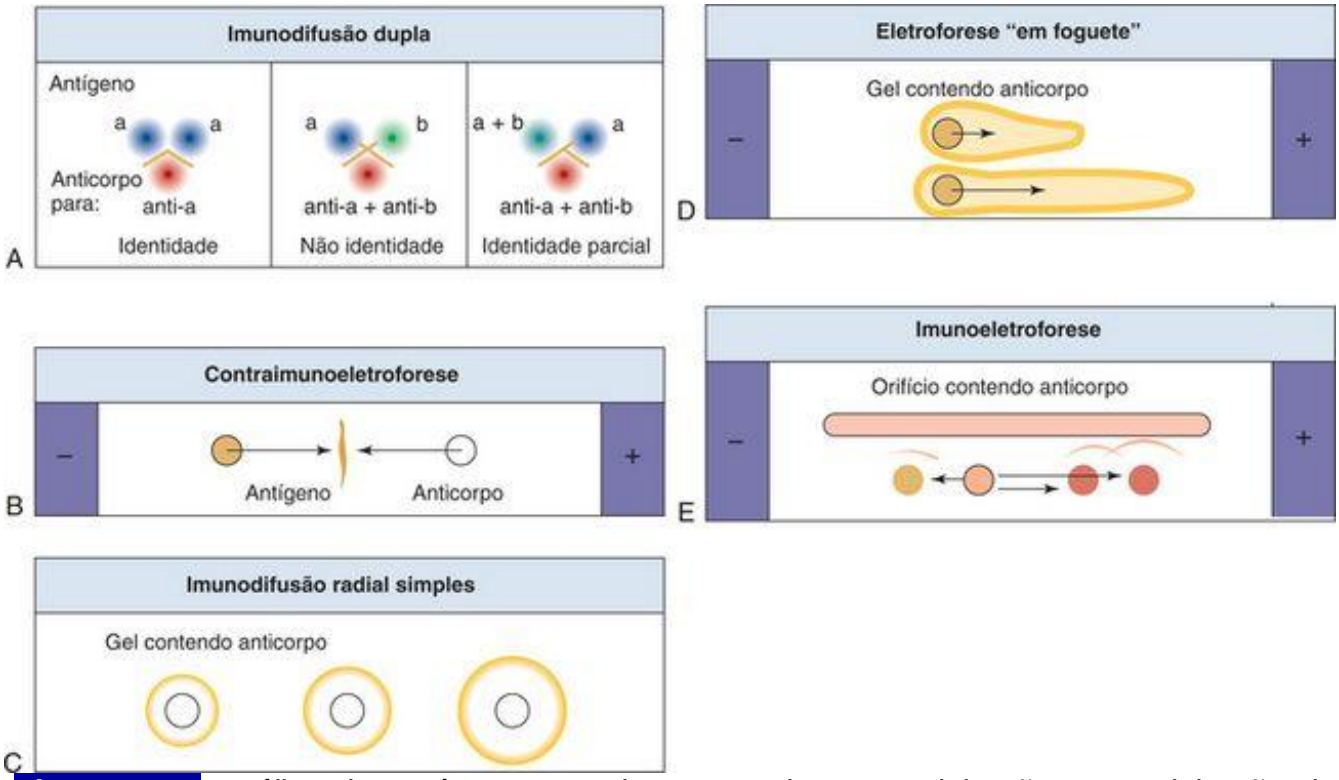


Figura 17-1 Análise de antígeno e anticorpo por imunoprecipitação. A precipitação da proteína acontece no ponto de equivalência, no qual anticorpos multivalentes formam grandes complexos com os antígenos. **A**, Imunodifusão dupla de Ouchterlony. O antígeno e o anticorpo se difundem a partir dos orifícios, entram em contato e formam uma linha de precipitina. Quando se utilizam antígenos idênticos, a concentração de antígenos entre os orifícios duplica, e não ocorre precipitação nesta região. Se forem utilizados antígenos

diferentes, são produzidas duas linhas diferentes de precipitina. Se uma amostra compartilha algum antígeno, mas não é idêntica, se forma um único esporão para o antígeno completo. **B**, Contraimunoeletroforese. Esta técnica se assemelha ao método de Ouchterlony, mas o movimento do antígeno é facilitado pela eletroforese. **C**, Imunodifusão radial simples. Esta técnica consiste na difusão do antígeno no gel contendo anticorpo. Os anéis de precipitina indicam a ocorrência de reação imune, e a área do anel é proporcional à concentração do antígeno. **D**, Eletroforese em "foguete". Os antígenos são separados por eletroforese em um agar que contém anticorpo. O comprimento do "rastro do foguete" indica a concentração do antígeno. **E**, Imunoeletroforese. O antígeno é depositado no orifício e separado por eletroforese. A seguir, o anticorpo é colocado no orifício e se formam linhas de precipitina quando o antígeno e o anticorpo se difundem um em direção ao outro.

Em outras técnicas de imunodifusão, o antígeno deve ser separado por eletroforese em agar e exposto ao anticorpo (imunoeletroforese); ele pode ser submetido à eletroforese em agar que contém anticorpo (eletroforese em "foguete"); ou o antígeno e anticorpo podem ser depositados em orifícios separados e para se moverem um em direção ao outro por eletroforese (contraimunoeletroforese).

Imunoensaios para Antígenos Associados a Células (Imuno-histologia)

Antígenos na superfície celular ou dentro da célula podem ser detectados por **imunofluorescência** ou **Enzimaimunoensaio (EIA)**. Na **imunofluorescência direta**, uma molécula fluorescente é covalentemente ligada ao anticorpo (p. ex., anticorpo de coelho antivírus marcado com isotiocianato de fluoresceína). Na **imunofluorescência indireta**, um segundo anticorpo fluorescente, específico para o primeiro anticorpo (p. ex., anticorpo de cabra antianticorpo de coelho marcado com isotiocianato de fluoresceína) é usado para detectar o anticorpo viral primário e localizar o antígeno (Figs. 17-2 e 17-3). No EIA, uma enzima como a peroxidase ou fosfatase alcalina é conjugada ao anticorpo e converte o substrato em um cromóforo que sinaliza o antígeno. Alternativamente, um anticorpo modificado pela ligação à molécula de **biotina** (vitamina) pode ser localizado pela ligação de avidina ou estreptavidina que possuem alta afinidade pela biotina. Uma molécula fluorescente ou enzima ligada à avidina e estreptavidina permite a detecção. Estas técnicas são utilizadas para análises de tecidos, material de biópsia, células sanguíneas e cultura de tecidos.

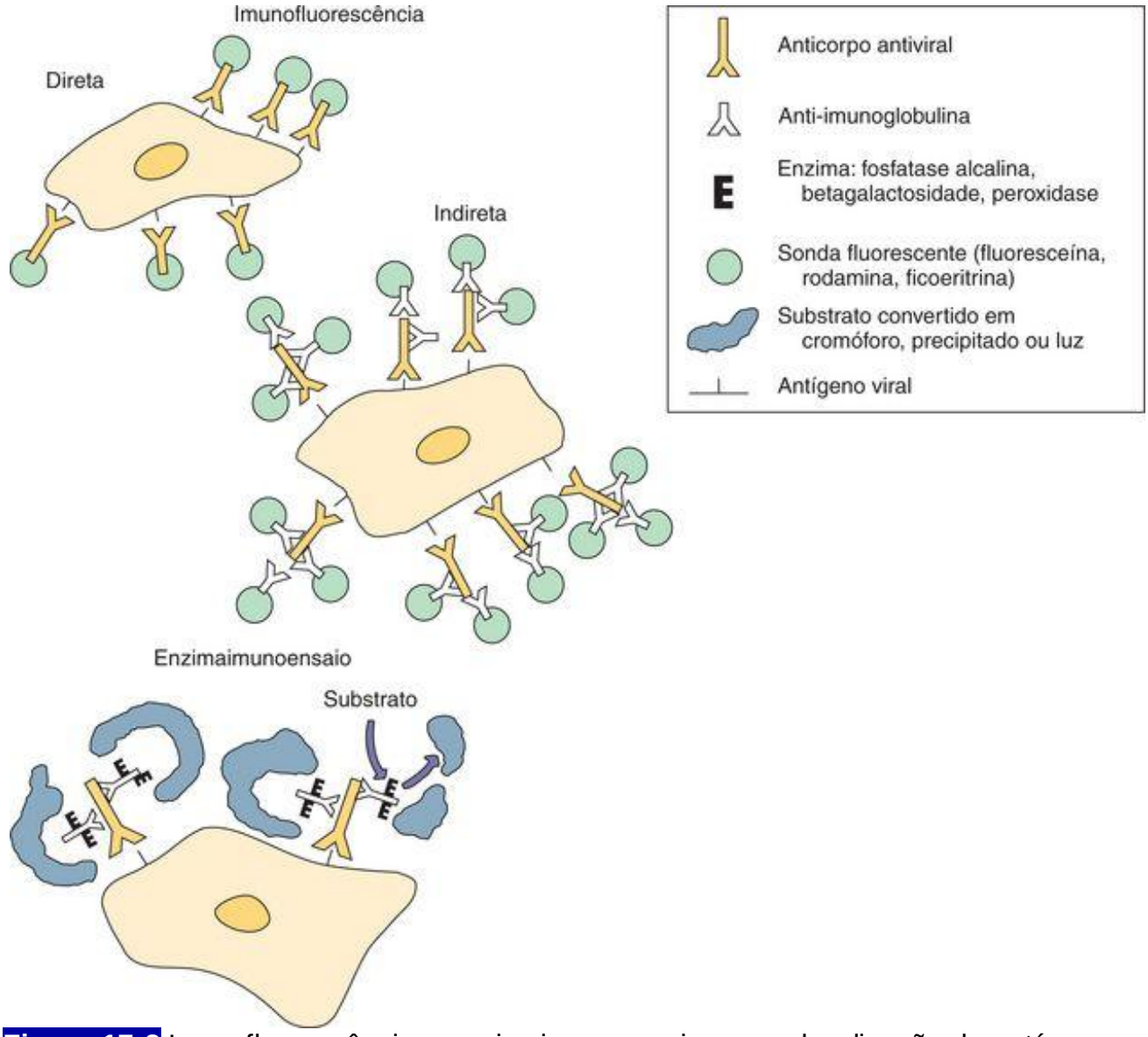


Figura 17-2 Imunofluorescência e enzimaimunoensaio para a localização de antígenos na célula. O antígeno pode ser detectado pelo ensaio *direto* com anticorpo antiviral modificado covalentemente com sonda fluorescente ou enzimática, ou pelo ensaio *indireto* utilizando

anticorpo antiviral e anti-imunoglobulina modificada quimicamente. A enzima converte o substrato em um precipitado, cromóforo ou luz.

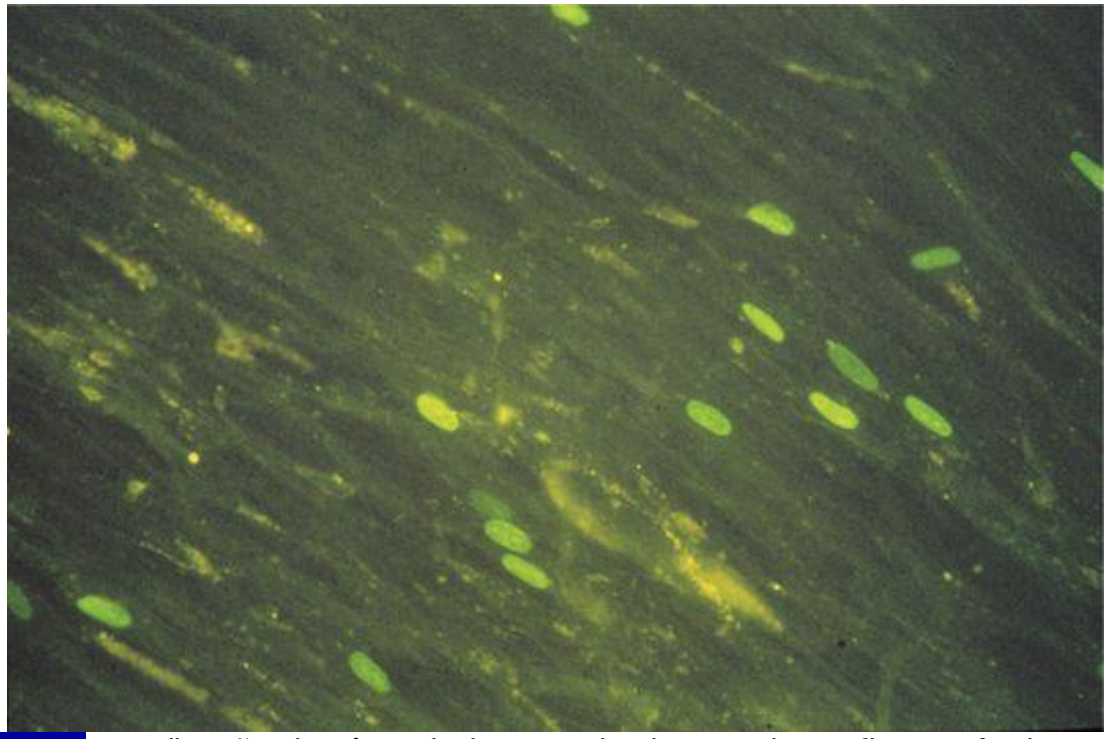


Figura 17-3 Localização do vírus da herpes simples, por imunofluorescência, em células nervosas de corte cerebral de um paciente com encefalite por herpes.

(De Emond RT, Rowland HAK: A Color Atlas of infectious Diseases, 2nd ed. London, Walfe, 1987.)

O **citômetro de fluxo** pode ser usado para analisar a imunofluorescência de células em suspensão e é especialmente útil para identificar e quantificar linfócitos (imunofenotipagem). O citomêtro de fluxo utiliza um feixe de laser para excitar o anticorpo fluorescente ligado na superfície celular e para determinar o tamanho da célula por meio de medidas de dispersão da luz. As células passam pelo laser em um fluxo superior a 5.000 células por segundo e as análises são realizadas eletronicamente. O **separador de células ativadas e fluorescentes (FACS)** é um citômetro de fluxo que pode também separar subpopulações de células específicas para crescimento em cultura de tecidos se baseando no tamanho e imunofluorescência.

Dados obtidos em um citômetro de fluxo são normalmente apresentados na forma de histograma, com a intensidade de fluorescência no eixo X e o número de células no eixo Y, ou na forma de “dot plot”, na qual mais de um parâmetro por célula é comparado. O citômetro de fluxo pode realizar uma análise diferencial de células brancas e comparar populações de células CD4 e CD8 simultaneamente (Fig. 17-4). O citômetro de fluxo também é útil para analisar o crescimento celular após a marcação do ácido desoxirribonucleico (DNA) com uma molécula fluorescente e outras aplicações com moléculas fluorescentes.

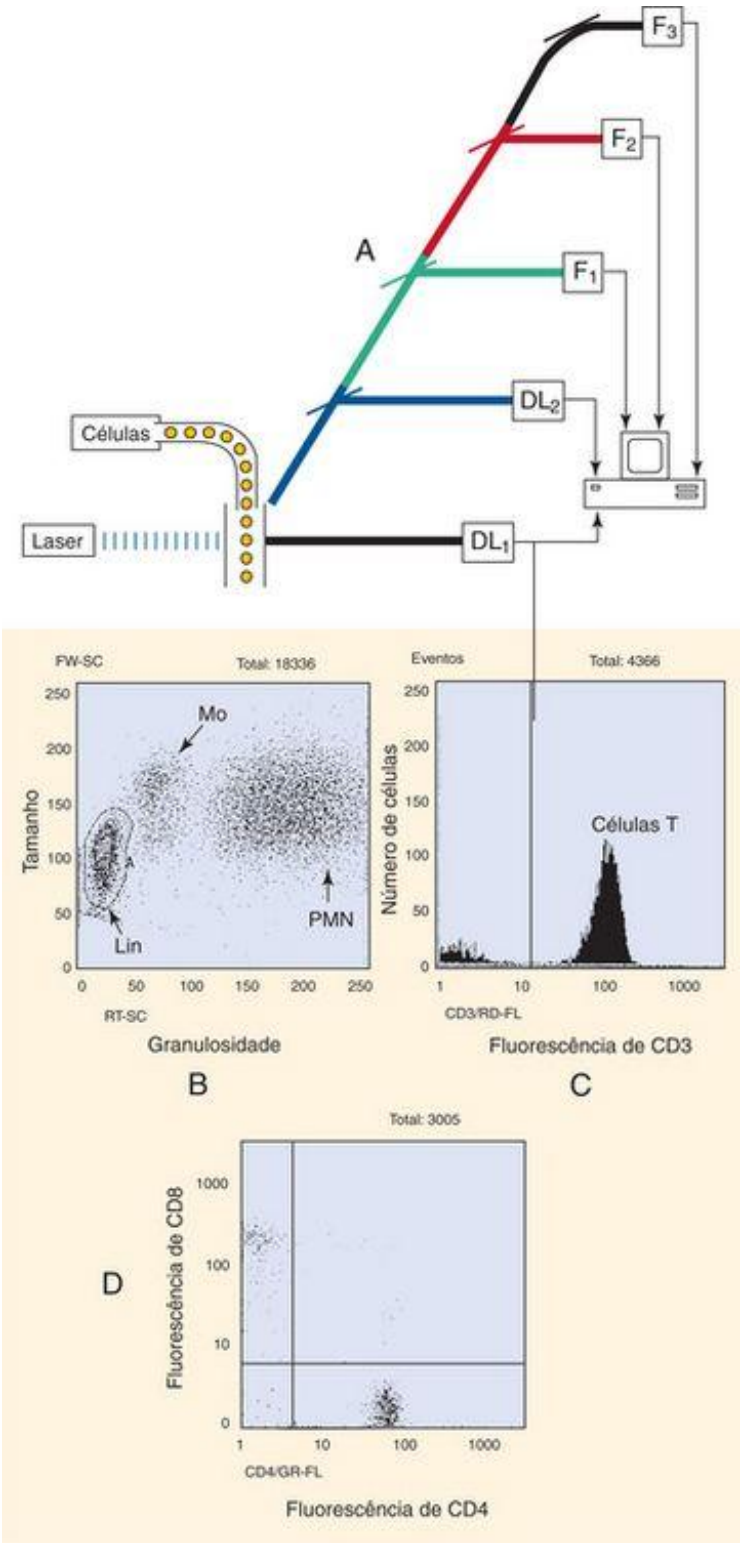


Figura 17-4 Citometria de fluxo. **A**, O citômetro de fluxo avalia parâmetros celulares individuais à medida que o fluxo de células passa por um feixe de laser numa velocidade de mais de 5.000 células por segundo. O tamanho e a granulosidade das células são determinados pela dispersão da luz (DL) e a expressão antigênica é avaliada pela imunofluorescência (F), utilizando anticorpos marcados com diferentes sondas fluorescentes. **B a D**, Análise de células T de um paciente normal. **B**, A análise da dispersão da luz foi utilizada pra definir as populações de linfócitos (Lin), monócitos (Mo) e leucócitos polimorfonucleares (PMN, neutrófilos). **C**, Os linfócitos foram analisados quanto à expressão de CD3 para a identificação das células T (apresentadas no histograma). **D**, Identificação de células CD4 e CD8. Cada ponto representa uma célula. (*Dados fornecidos por Dr. Tom Alexander, Akron, Ohio*.)

Imunoensaios para Anticorpos e Antígenos Solúveis

O ensaio **imunoabsorvente ligado a enzimas (ELISA)** utiliza antígeno imobilizado em uma superfície plástica, pérolas ou filtro para capturar e separar o anticorpo específico de outros anticorpos no soro do paciente (Fig. 17-5). Um anticorpo antianticorpo humano covalentemente ligado a uma enzima (p. ex., peroxidase, fosfatase alcalina, β-galactosidase) detecta o anticorpo do paciente que se ligou ao antígeno. Esta reação é quantificada no espectrofotômetro de acordo com a intensidade da cor produzida pela ação da enzima sobre o substrato apropriado. A concentração real do anticorpo específico pode ser determinada por comparação com a reação de um soro padrão humano em várias concentrações. As diversas variações do ELISA diferem nos mecanismos de captura ou detecção do antígeno ou anticorpo. O ensaio de ELISA também pode ser utilizado para quantificar antígeno solúvel na amostra do paciente. Nestes ensaios, o antígeno solúvel é capturado e concentrado por um anticorpo imobilizado e detectado com um anticorpo diferente marcado com enzima. Um exemplo comum é o teste rápido de gravidez para pesquisa do hormônio gonadotrofina coriônica humana.

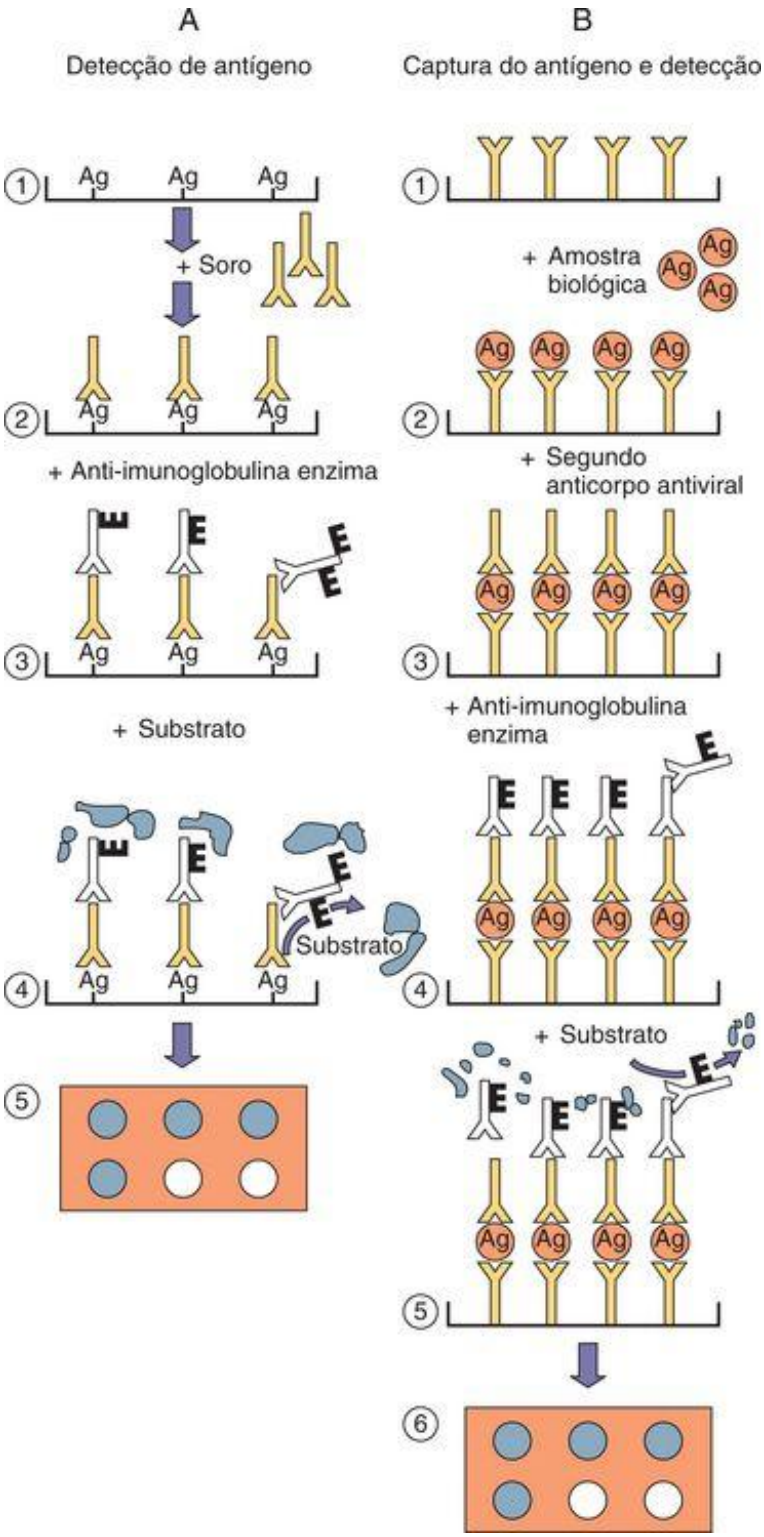


Figura 17-5 EIA para quantificação de anticorpo ou antígeno. **A**, Detecção de anticorpo. *1*, Antígeno viral, obtido de células infectadas, vírions ou engenharia genética, é fixado em uma superfície. *2*, Adiciona-se o soro do paciente permitindo que ele se ligue ao antígeno. Anticorpos não ligados são removidos por lavagens. *3*, se adiciona o conjugado enzimático anti-imunoglobulina humana, e os anticorpos não ligados são removidos. *4*, Se adiciona o substrato, que é convertido em cromóforo, precipitado ou luz. **B**, Captura do antígeno e detecção. *1*, Anticorpo antivírus é fixado na superfície. *2*, A amostra biológica contendo o antígeno é adicionada e antígenos não ligados são removidos. *3*, Um segundo anticorpo antivírus é adicionado para detectar o antígeno capturado. *4*, O anticorpo anti-imunoglobulina humana conjugado a uma enzima é adicionado, lavado e exposto ao substrato enzimático. *5*, o qual é convertido em cromóforo, precipitado ou luz.

A **técnica de Western blot** é uma variação do ELISA. Nesta técnica, proteínas virais separadas por eletroforese de acordo com o peso molecular ou carga elétrica são transferidas

(“blotting”) para a superfície de um papel de filtro (p. ex., nitrocelu lose, “nylon”). Quando expostas ao soro do paciente, as proteínas imobilizadas capturam anticorpos virais específicos e a reação é visualizada com anticorpo anti-imunoglobulina humana conjugado a uma enzima. Esta técnica mostra as proteínas reconhecidas pelo soro do paciente. A análise por western blot é utilizada para confirmar resultados de ELISA de pacientes suspeitos de infecção pelo vírus da imunodeficência humana (HIV) (Fig. 17-6; Fig. 49-7).

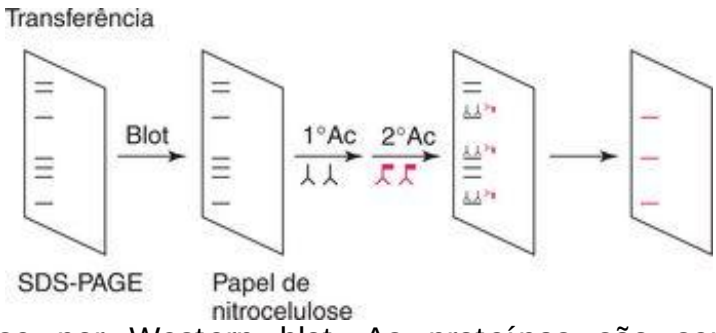


Figura 17-6 Análise por Western blot. As proteínas são separadas em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), transferidas para papel de nitocelulose (NC) e incubadas com soro do paciente ou anticorpos específicos (1°Ac), e então, o segundo anticorpo (2°Ac), anti-imunoglobulina humana, é adicionado. A conversão do substrato pela enzima identifica o antígeno.

No **radioimunoensaio (RIA)**, anticorpo ou antígeno radiomarcado (p. ex., com iodo-125) é utilizado para quantificar complexos antígeno-anticorpo. O RIA pode ser realizado por ensaio de captura, conforme descrito previamente para o ELISA, ou como um ensaio de competição. No ensaio de competição, o anticorpo no soro do paciente é quantificado de acordo com sua capacidade de competir com um anticorpo marcado e formar complexos antígeno-anticorpo. Estes complexos são precipitados e separados do anticorpo livre e a radioatividade das duas frações é medida. A concentração de anticorpo na amostra do paciente é quantificada a partir de uma curva padrão preparada com concentrações conhecidas do anticorpo utilizado na reação de competição. O radioimunoensaio para alergenos é uma variação do RIA de captura, no qual anti-IgE radiomarcada é utilizada para detectar resposta específica ao alergeno.

A reação de **fixação do complemento** é um teste sorológico padronizado, porém tecnicamente difícil (Quadro 17-1). Neste teste, a amostra de soro do paciente reage com antígeno produzido em laboratório e complemento extra. Complexos antígeno-anticorpo ligam, ativam e fixam o complemento. O complemento residual é então dosado através da lise de células vermelhas sanguíneas cobertas com anticorpo. Anticorpos dosados por este sistema, geralmente, se desenvolvem mais tardiamente durante a doença em comparação com aqueles medidos por outras técnicas.

Quadro 17-1 Ensaios Sorológicos

Para a detecção de anticorpo ou antígeno ou sorotipagem de vírus.

Fixação do complemento

Inibição da hemaglutinação*

Neutralização*

Imunofluorescência (direta ou indireta)

Aglutinação do látex

Enzimaimunoensaio *in situ* (EIA)

ELISA

Radioimunoensaio (RIA)

Os ensaios de inibição de anticorpos utilizam a capacidade de um anticorpo para prevenir a infecção (**neutralização**) ou outra atividade (**inibição da hemaglutinação**) para identificar a cepa do agente infectante, comumente um vírus, ou para quantificar a resposta de anticorpo específica para uma cepa viral. Por exemplo, inibição da hemaglutinação é empregada para distinguir diferentes cepas de influenza A. Estes testes são mais discutidos no Capítulo 49.

Aglutinação pelo látex é uma técnica rápida e simples para detectar anticorpo ou antígeno solúvel. Anticorpos virais específicos aglutinam partículas de látex cobertas com antígenos virais. Inversamente, partículas de látex revestidas com anticorpos são utilizadas para detectar antígeno viral solúvel. Na hemaglutinação passiva, eritrócitos revestidos com antígeno são empregados como indicadores, substituindo as partículas de látex.

Sorologia

A resposta imune humoral fornece o histórico das infecções do paciente. A sorologia pode ser usada para identificar o agente infeccioso, avaliar o curso de uma infecção ou determinar a natureza da infecção – se é uma infecção primária ou uma reinfecção, e se é uma infecção aguda ou crônica. O tipo de anticorpo, o título e a especificidade antigênica fornecem dados sobre a infecção. Testes sorológicos são utilizados para identificar vírus e outros agentes que são difíceis de isolar e de crescer em laboratório ou que causam doenças que progridem lentamente (Quadro 17-2).

Quadro 17-2 Vírus Diagnosticados por Sorologia*

Testes sorológicos também são utilizados para determinar o estado imunológico de um indivíduo com relação a outros vírus.

Vírus Epstein-Barr

Vírus da rubéola

Vírus da hepatite A, B C, D e E

Vírus da imunodeficiência humana

Vírus da leucemia de célula T humana

Arbovírus (vírus da encefalite)

A concentração relativa de anticorpo é relatada como título. O **título** é o inverso da maior diluição ou menor concentração (p. ex., diluição de 1:64 = título de 64) do soro do paciente que apresenta reatividade em um imunoensaio. A concentração de IgM, IgG, IgA ou IgE que reage com o antígeno pode ser avaliada através do uso de um segundo anticorpo anti-humano marcado e específico para determinado isotipo de anticorpo.

A sorologia é utilizada para estabelecer a evolução cronológica de uma infecção através da análise quantitativa e qualitativa dos anticorpos. **Soroconversão** acontece quando os anticorpos são produzidos em resposta a uma infecção primária. *IgM específica encontrada nas primeiras 2 a 3 semanas de uma infecção primária é um bom indicador de uma infecção primária recente*. Reinfecção ou recorrência da infecção mais tarde na vida do indivíduo causa uma resposta **anamnéstica** (secundária ou de reforço). No entanto, os títulos de anticorpos podem permanecer elevados em pacientes cuja doença recorre frequentemente (p. ex., herpesvírus). Soroconversão ou reinfecção são indicadas pelo *aumento de pelo menos quatro vezes no título de anticorpo no soro obtido durante a fase aguda da doença e aquele obtido pelo menos 2 a 3 semanas mais tarde, durante a fase convalescente*. Diluição seriada na razão 2 não irá distinguir entre amostras com 512 ou 1.023 unidades de anticorpos, ambas irão reagir na diluição de 512, mas não na diluição de 1.024, e ambas seriam relatadas como tendo título de 512. Por outro lado, amostras com 1.020 e 1.030 unidades não são significativamente diferentes mas seriam relatadas com títulos de 512 e 1.024, respectivamente.

A sorologia pode também ser empregada para determinar o estágio de uma infecção lenta ou crônica (p. ex., hepatite B ou mononucleose infecciosa causada pelo vírus Epstein-Barr), baseada na presença de anticorpo específico para antígenos microbianos. Os primeiros anticorpos a serem detectados são aqueles direcionados contra antígenos mais expostos ao sistema imune (p. ex., na superfície viral, na superfície de células infectadas ou antígenos secretados). Mais tarde na infecção, quando as células foram lisadas pelo vírus infectante ou pela resposta imune celular, são detectados anticorpos contra proteínas intracelulares e enzimas.

Questões

Descrever o procedimento diagnóstico ou procedimentos (molecular ou imunológico) que seriam apropriados para cada uma das seguintes aplicações:

1. Determinação do peso molecular aproximado de proteínas do HIV

1. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para separar as proteínas e Western-blot para identificar as proteínas do HIV.

2. Detecção do papilomavírus humano 16 (um vírus que não se replica) em esfregaço para Papanicolaou (Pap)

2. Métodos genômicos de detecção tais como hibridização *in situ* na própria lâmina com esfregaço de Pap; método de reação em cadeia da polimerase (PCR) em células obtidas durante o procedimento em vista que proteínas virais seriam indetectáveis.

3. Detecção do vírus da herpes simples (vírus que se replica) em esfregaço de Pap

3. Efeitos citopatológicos tais como sincício ou corpúsculos de inclusão de Cowdry tipo A podem ser visualizados em esfregaços de Pap. Métodos genômicos de detecção, tais como hibridização *in situ* na própria lâmina com esfregaço de Pap, o método PCR de DNA celular ou métodos imunológicos para detectar o antígeno viral, podem ser utilizados.

4. Presença de antígenos de *Histoplasma* no soro do paciente

4. A técnica de Ouchterlony de difusão de anticorpo ou ELISA podem ser utilizadas para a detecção de antígenos fúngicos.

5. Concentração de células T CD4 e CD8 no sangue de pacientes infectados pelo HIV

5. A técnica de citometria de fluxo utilizando imunofluorescência é, provavelmente, o melhor método de identificação e quantificação de células de CD4 T e CD8 T.

6. A presença e o título de anticorpo anti-HIV

6. A técnica de ELISA é utilizada para detectar a presença e estabelecer o título de anticorpos como método de triagem em bancos de sangue. O método de Western blot no soro do paciente é usado como técnica qualitativa de confirmação do teste de ELISA.

7. Diferenças genéticas entre dois vírus da herpes simples (vírus DNA)

7. Polimorfismo migratório de fragmentos de restrição ou PCR podem ser utilizados para detectar diferenças genéticas entre cepas ou tipos de HSV.

8. Diferenças genéticas entre dois vírus parainfluenza (vírus RNA [ácido ribonucleico])

8. PCR com transcriptase reversa pode ser utilizada para distinguir entre os dois tipos de vírus de parainfluenza.

9. Concentração de antígeno de rotavírus nas fezes

9. Rotavírus nas fezes podem ser quantificados pela técnica de ELISA. Microscopia eletrônica é um método qualitativo.

10. Detecção de estreptococo do grupo A e sua diferenciação de outros estreptococos

10. Detecção de estreptococo do grupo A pode ser feita por ELISA o que inclui métodos rápidos (tipo os testes comerciais de detecção de gravidez) para detecção das estreptolisinas O e S. Técnicas mais sofisticadas, como eletroforese em campo pulsado do cromossoma e PCR, podem ser utilizadas para distinguir entre cepas diferentes.

Bibliografia

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 12th ed., St Louis: Mosby, 2007.

Murray PR. ASM Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed, Washington, DC: American Society for Microbiology, 2004.

Murray PR, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Rosenthal KS, Wilkinson MS. Flow cytometry and immunospeak. *Infec Dis*. 2007;15(3):183-191.

Specter S, Hodinka RL, Young SA. Clinical Virology Manual, 3rd ed, Washington, DC: ASM Press, 2000.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.

Seção 5
Bacteriologia

18 Mecanismos de Patogênese Bacteriana

Para uma bactéria, o corpo humano é um conjunto de nichos ambientais que fornece calor, umidade e os alimentos necessários para o seu crescimento. As bactérias adquiriram traços genéticos que as capacitaram entrar (invadir) no ambiente, permanecer em um nicho (aderir ou colonizar), ganhar acesso às fontes alimentares (enzimas degradativas) e escapar das respostas imunes e não imunes protetoras do hospedeiro (p. ex., **cápsula**). Infelizmente, muitos dos mecanismos que as bactérias usam para manter seus nichos e os produtos do crescimento bacteriano (p. ex., ácidos, gás) causam dano e problemas para o hospedeiro humano. Muitos destes traços genéticos são **fatores de virulência**, que aumentam a habilidade da bactéria de causar doença. Embora muitas bactérias causem doença por destruírem diretamente os tecidos, algumas liberam toxinas, que são disseminadas pelo sangue e causam ampla patogenicidade (Quadro 18-1). As estruturas de superfície das bactérias são potentes estimuladores das respostas do hospedeiro (fase aguda: interleucina-1 [IL-1], interleucina-6 [IL-6], fator de necrose tumoral [TNF]). Estas estruturas podem ser protetoras, mas frequentemente são as causas significativas dos sintomas da doença (p. ex., septicemia). A produção da doença resulta da combinação do dano causado pela bactéria e das consequências das respostas inata e imune à infecção (Quadro 18-2).

Quadro 18-1 Fatores de Virulência Bacterianos

Aderência

Invasão

Produtos de metabolismo (gás, ácido)

Toxinas

Enzimas degradativas

Proteínas citotóxicas

Endotoxina

Superantígeno

Indução de excesso de inflamação

Evasão dos fagócitos e depuração imunológica

Cápsula

Resistência aos antibióticos

Crescimento intracelular

Quadro 18-2 Produção de Doença Bacteriana

1. A doença é causada pelos danos produzidos pelas bactérias mais as consequências das respostas imunes e inatas à infecção

2. Os sinais e sintomas das doenças são determinados pela função e importância do tecido afetado.

3. A duração do período de incubação é o tempo requerido pela bactéria e/ou resposta hospedeira para causar suficiente dano e iniciar o desconforto ou interferir com as funções essenciais.

Nem todas as bactérias ou infecções bacterianas causam doença; porém, algumas causam doença sempre. O corpo humano é colonizado por inúmeros micróbios (**microbiota normal**), muitos apresentando importantes funções para seus hospedeiros. As bactérias da flora normal ajudam na digestão dos alimentos, produzem vitaminas (p. ex., vitamina K) e podem proteger o hospedeiro da colonização com micróbios patogênicos. Estas bactérias endógenas geralmente residem em locais como o trato gastrointestinal (GI), boca, pele e trato respiratório superior, que estão tecnicamente do lado externo do corpo (Fig. 18-1). As bactérias da flora normal causam doença se elas entram em sítios normalmente estéreis do corpo. As **bactérias virulentas** possuem mecanismos que promovem seu crescimento no hospedeiro à custa dos tecidos do hospedeiro ou da função dos órgãos desse hospedeiro. Para crescer e causar doenças mais graves, as **bactérias oportunistas** aproveitam as condições preexistentes, como a imunossupressão que aumenta a suscetibilidade do paciente. Por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa* infecta vítimas de queimaduras e pulmões de pacientes com fibrose cística. Pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) são muito suscetíveis a infecções por bactérias que crescem intracelularmente como as micobactérias.

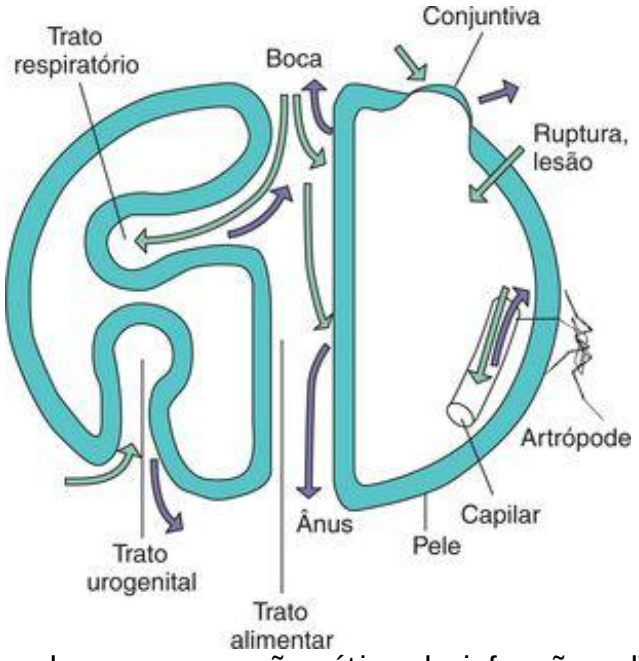


Figura 18-1 Superfícies do corpo que são sítios de infecção e liberação microbiana. As setas verdes indicam infecção; as setas violetas indicam liberação.

(Extraída de Mims C, et al: Medical Microbiology. London, Mosby-Wolfe, 1993)

As doenças resultam do dano ou perda de tecidos e funções dos órgãos, ou ainda do desenvolvimento da resposta inflamatória do hospedeiro. Os **sinais e sintomas de uma doença** são determinados pela função do tecido afetado. As **respostas sistêmicas** são produzidas pelas toxinas e citocinas produzidas em resposta à infecção. A gravidade da doença depende da importância do órgão afetado e da extensão do dano causado pela infecção. Infecções do sistema nervoso central são sempre graves. A **cepa bacteriana** e o **tamanho do inóculo** são também fatores importantes para determinar se a doença ocorrerá. No entanto, o limite de detecção de cada doença é diferente para as diferentes bactérias (p. ex., menos de 200 isolados de *Shigella* são necessários para causar shigelose, porém são necessários 10^8 isolados de *Vibrio choreae* ou de *Campylobacter* para causar infecção do trato GI). Fatores do hospedeiro também podem ser importantes. Por exemplo: embora 1 milhão ou mais de isolados de *Salmonella* sejam necessários para estabelecer gastroenterite

em um indivíduo saudável, apenas poucos milhares são necessários para estabelecer gastroenterite em um indivíduo que tenha o pH gástrico neutro. Defeitos congênitos, imunodeficiência (Cap. 14) e outras condições relacionadas à doença, também podem aumentar a suscetibilidade de um indivíduo à infecção. Quanto mais tempo uma bactéria permanece no hospedeiro, maior será o seu número, sua habilidade de disseminação e seu potencial para causar dano tecidual e doença.

Muitos dos fatores de virulência consistem em estruturas ou atividades complexas que somente são expressas sob condições especiais. Os componentes para estas estruturas são frequentemente codificados juntos, em uma ilha de patogenicidade. As **ilhas de patogenicidade** são regiões cromossômicas grandes que contêm conjuntos de genes que codificam numerosos fatores de virulência. Em muitos casos, um processo de virulência que requer a expressão coordenada de vários genes é codificado em uma ilha de patogenicidade. Estes genes podem ser ligados por um único estímulo (p. ex., a temperatura do intestino, pH do lisossoma). A ilha de patogenicidade é usualmente um transposon inserido no cromossoma ou num plasmídio. Estas ilhas podem ser transferidas como uma unidade para diferentes sítios de um cromossoma ou para outras bactérias. Por exemplo, o pH ácido de uma vesícula fagocítica no interior de um macrófago ativa a expressão de aproximadamente 25 proteínas codificadas na ilha de patogenicidade SPI-2 de uma *Salmonella*. Estas proteínas se reúnem como um dispositivo molecular semelhante a uma seringa que injeta proteínas tóxicas no interior da célula hospedeira para facilitar a liberação da bactéria no citoplasma. De maneira semelhante, o biofilme produzido por *Pseudomonas* é iniciado quando há um número suficiente de bactérias (um quórum) produzindo quantidades suficientes de *N*-acetil homoserina lactona (AHL). Esta produção provocará a expressão de genes para a produção de polissacarídios.

Entrada no Corpo Humano

Para o estabelecimento de uma infecção, as bactérias devem penetrar primeiro no corpo humano (Fig. 18-1; Tab. 18-1). Os mecanismos de defesa naturais e barreiras como a pele, muco, epitélio ciliado e secreções contendo substâncias antibacterianas (p. ex., lisozima) tornam difícil a entrada da bactéria no organismo humano. No entanto, estas barreiras são algumas vezes quebradas (p. ex., um corte na pele, um tumor ou uma úlcera no intestino), abrem uma porta de entrada para as bactérias. As bactérias podem também ter outros meios para comprometer a barreira e invadir o organismo. Durante a invasão, a bactéria pode viajar pela corrente sanguínea para outros sítios do corpo.

Tabela 18-1 Portas de Entrada para as Bactérias

Rota	Exemplos
Ingestão	*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica, Escherichia coli* enterotoxigênica, *Vibrio* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum, Bacillus cereus, Listeria* spp., *Brucella* spp.
Inalação	*Mycobacterium* spp., *Nocardia* spp., *Mycoplasma pneumoniae, Legionella* spp., *Bordetella, Chlamydophila psittaci, Chlamydophila pneumoniae, Streptococcus* spp.
Trauma	*Clostridium tetani*
Perfuração por agulha	*Staphylococcus aureus, Pseudomonas* spp.
Picadas de artrópodos	*Rickettsia, Ehrlichia, Coxiella, Francisella, e Borrelia* spp., *Yersinia pestis*
Transmissão sexual	*Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum*

A **pele** possui uma camada rígida e espessa de células mortas que protege o corpo das infecções. No entanto, cortes na pele produzidos acidentalmente ou cirurgicamente, mantidos abertos através de cateteres ou outros dispositivos cirúrgicos, fornecem um meio para as bactérias terem acesso ao tecido suscetível mais profundo. Por exemplo, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, que são parte da flora normal da pele, podem penetrar no organismo através de rupturas na pele e causar um grande problema para indivíduos com cateteres permanentes ou intravenosos.

A boca, o nariz, o trato respiratório, os ouvidos, os olhos, o trato urogenital e o ânus são sítios através dos quais as bactérias podem penetrar no corpo humano. Estas aberturas naturais na pele e as cavidades corporais associadas são protegidas pelas defesas naturais, como o muco e o epitélio ciliado que revestem o trato respiratório superior, a lisozima e outras secreções antibacterianas nas lágrimas e no muco e o ácido e a bile no trato GI. No entanto, muitas bactérias não são afetadas ou então possuem meios para escapar destas defesas. Por exemplo, a membrana externa das bactérias Gram negativas torna estas bactérias mais resistentes à lisozima, aos ácidos e à bile. Assim, as enterobactérias são capazes de colonizar o trato GI, onde possuem a função benéfica de produzir a vitamina K que o organismo necessita. Estas bactérias endógenas são normalmente benignas e restritas às cavidades do corpo que elas colonizam. No entanto, estas bactérias podem penetrar sítios do corpo normalmente estéreis, como o peritônio e a corrente sanguínea, através de rupturas da barreira normal. Um exemplo é o paciente que tem um tumor de cólon, diagnosticado após a detecção de uma septicemia (infecção da corrente sanguínea) por bactérias entéricas.

Colonização, Adesão e Invasão

Como mencionado previamente, o trato GI é naturalmente colonizado por bactérias benignas e potencialmente benéficas. Em alguns casos, as condições ambientais determinam as bactérias que podem ou irão colonizar um determinado sítio. Por exemplo, *Legionella* cresce nos pulmões, mas não é prontamente disseminada porque não tolera temperaturas altas (p. ex., 35°C). A colonização de sítios que são normalmente estéreis implica a existência de um defeito nos mecanismos de defesa natural ou numa nova porta de entrada. Pacientes com fibrose cística apresentam estes defeitos por causa da redução em sua função ciliar mucoepitelial e suas secreções mucosas alteradas; como resultado, os pulmões destes pacientes são colonizados por *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

As bactérias podem utilizar mecanismos específicos para aderir e colonizar diferentes superfícies do corpo (Tab. 18-2). Se as bactérias forem capazes de aderir aos revestimentos celulares epiteliais ou endoteliais da bexiga, intestino e vasos sanguíneos, não poderão ser eliminadas e esta aderência permitirá que colonizem o tecido. Por exemplo, a função natural da bexiga elimina qualquer bactéria que não esteja fixada à parede da mesma. *Escherichia coli* e outras bactérias possuem **adesinas** que se ligam a receptores específicos na superfície do tecido e impedem que estas bactérias sejam eliminadas. Muitas destas adesinas estão presentes nas extremidades das **fímbrias (pili)** e se ligam firmemente a açúcares específicos do tecido-alvo. (Esta atividade de ligação aos açúcares define estas proteínas como lectinas). Por exemplo, a maioria das cepas de *E. coli* que causa pielonefrite produz uma fímbria de adesão denominada fímbria P. Esta adesina pode se ligar à α-D-galactosil-β-D-galactosídio (Gal-Gal), que é parte da estrutura do antígeno do grupo sanguíneo P, encontrados nos eritrócitos e nas células uroepiteliais humanas. Os pili de *Neisseria gonorrhoeae* são também importantes fatores de virulência, pois se ligam a receptores oligossacarídios na superfície das células epiteliais. Microrganismos do gênero *Yersinia, Bordetella pertussis* e *Mycoplasma pneumoniae* expressam adesinas proteicas que não são fímbrias. *Streptococcus pyogenes* usam o **ácido lipoteicoico** e a proteína F (que se liga à fibronectina) para se ligarem às células epiteliais.

Tabela 18-2 Exemplos de Mecanismos de Aderência Bacteriana

Microrganismo	Adesina	Receptor
Staphylococcus aureus	LTA	Desconhecido
Staphylococcus spp.	Camada limosa	Desconhecido
Streptococcus do grupo A	Complexo LTA proteína M	Fibronectina
Streptococcus pneumoniae	Proteína	*N*-acetilhexosamina-galactose
Escherichia coli	Fímbria tipo 1	D-manose
	Fímbria antígeno fator de colonização	Gangliosídio GM 1
	Fímbria P	Glicolipídio grupo sanguíneo P
Neisseria gonorrhoeae	Fímbria	Gangliosídio GD_1
Treponema pallidum	P_1, P_2, P_3	Fibronectina
Chlamydia trachomatis	Lectina da superfície celular	*N*-acetilglicosamina
Mycoplasma pneumoniae	Proteína P1	Ácido siálico
Vibrio cholerae	Pili tipo 4	Fucose e manose

LTA, ácido lipoteicoico.

Uma adaptação especial que facilita a colonização, especialmente de dispositivos cirúrgicos como válvulas e cateteres permanentes, é um **biofilme** produzido pelas bactérias. As bactérias em um biofilme estão unidas com uma membrana viscosa de polissacarídios que liga as células entre si e à superfície. Algumas bactérias, como *Pseudomonas aeruginosa*, percebem quando um número suficiente de bactérias está presente para fazer um biofilme (percepção de quórum) e criam uma comunidade bacteriana. A placa dental é um exemplo de biofilme. A matriz do biofilme pode também proteger as bactérias das defesas do hospedeiro e dos antibióticos.

Embora as bactérias não possuam mecanismos que as capacitem atravessarem a pele, várias bactérias podem atravessar as membranas mucosas e outras barreiras teciduais para penetrar sítios normalmente estéreis e tecidos mais suscetíveis. Estas bactérias invasoras podem tanto destruir a barreira como penetrar nas células da barreira. *Shigella, Salmonella* e *Yersinia* são bactérias entéricas que usam fímbrias para se ligarem às células M (microvilosidades) do cólon e então injetar proteínas no interior destas células, o que estimula a membrana celular a envolver e engolfar a bactéria. Estas bactérias produzem um sistema de secreção do tipo III que se assemelha a uma seringa molecular que injeta fatores formadores de poros e moléculas efetoras no interior das células hospedeiras. As proteínas efetoras podem facilitar a internalização e a invasão, promover a sobrevivência intracelular e a replicação da bactéria, ou a morte por apoptose da célula do hospedeiro. *E. coli* enteropatogênica secreta proteínas no interior da célula hospedeira, tais proteínas criam um sistema de ancoramento portátil para elas mesmas (veja a animação no site do Howard Hughes Institute [http://www.hhmi.org/biointeractive/]) . *Salmonella* usa dispositivos para promover sua internalização em uma vesícula que a permite viver intracelularmente no interior dos macrófagos. *Shigella* utiliza um dispositivo de secreção do tipo III para entrar nas células. Uma vez no interior das células, os microrganismos causam a polimerização da actina celular que empurra a *Shigella* para o interior de uma célula adjacente. *Listeria monocytogenes* causa

a polimerização da actina na parte traseira da célula que impulsiona a bactéria para o interior da célula adjacente, como se estivesse no topo de um aríete.

Ações Patogênicas das Bactérias

Destruição dos Tecidos

Produtos do metabolismo resultante do crescimento bacteriano, especialmente da fermentação, incluem ácidos, gás, e outras substâncias que são tóxicas para o tecido. Além disso, *muitas bactérias liberam enzimas degradativas* para decompor o tecido, fornecendo desse modo alimento para o crescimento do microrganismo e promovendo a disseminação da bactéria. Por exemplo, os microrganismos da espécie *Clostridium perfringens* são parte da flora normal do trato GI, mas também são patógenos oportunistas que podem estabelecer uma infecção nos tecidos pobres em oxigênio e causar a gangrena gasosa. Estas bactérias anaeróbicas produzem, a partir do metabolismo bacteriano, enzimas (p. ex., fosfolipase C, colagenase, protease e hialuronidase), várias toxinas, ácido e gás, que destroem o tecido. Os estafilococos produzem muitas enzimas diferentes que modificam o ambiente do tecido. Estas enzimas incluem a hialuronidase, fibrinolisina e lípases. Os estreptococos também produzem enzimas, incluídas as estreptolisinas S e O, hialuronidase, DNAases, e estreptoquinases; estas enzimas facilitam o desenvolvimento da infecção e a disseminação para o tecido.

Toxinas

As **toxinas** são produtos bacterianos que danificam diretamente o tecido ou promovem atividades biológicas destrutivas. As toxinas e as substâncias com atividades semelhantes às toxinas são enzimas degradativas que causam a lise das células ou proteínas que se ligam a receptores específicos, que iniciam reações tóxicas em um tecido-alvo específico. Além disso, os componentes da parede celular iniciam uma resposta sistêmica (p. ex., febre) por promoverem a liberação inapropriada de citocinas. Em muitos casos, a toxina é completamente responsável por causar os sintomas característicos da doença. Por exemplo, a **toxina preformada** presente nos alimentos intercede na intoxicação alimentar causada por *S. aureus* e *Bacillus cereus* e no botulismo causado por *Clostridium botulinum*. Os sintomas causados pela toxina preformada ocorrem mais cedo do que nas outras formas de gastroenterite. O efeito é como se o indivíduo tivesse ingerido um veneno e a bactéria não necessitasse crescer para que os sintomas ocorram. Pelo fato da toxina poder se disseminar sistemicamente pela corrente sanguínea, os sintomas podem surgir em sítios distantes do sítio de infecção, como ocorre no tétano, que é causado pelo *Clostridium tetani*.

Exotoxinas

As **exotoxinas** são proteínas que podem ser produzidas pelas bactérias Gram positivas ou Gram negativas e incluem enzimas citolíticas e proteínas, que se ligam a receptores que alteram a função ou destroem as células. Em muitos casos, o gene que codifica a toxina está em um plasmídio (toxina tetânica do *C. tetani*, toxinas LT e ST de *E. coli* enteropatogênica) ou em um fago lisogênico (*Corynebacterium diphtheriae* e *C. botulinum*).

As toxinas citolíticas incluem as enzimas que rompem a membrana como a toxina α (fosfolipase C) produzida por *C. perfringens*, que decompõe a esfingomielina e outros fosfolipídios de membrana. As hemolisinas se inserem e destroem as membranas de eritrócitos e de outras células. As toxinas formadoras de poros, incluindo a estreptolisina O, podem promover o escape de íons e de água da célula e destruir as funções celulares ou causar a lise das células.

Muitas toxinas são diméricas com subunidades A e B (**toxinas A-B**). A porção B das toxinas A-B se liga a um receptor específico na superfície da célula e então a subunidade A é transferida para o interior da célula, onde induz dano à mesma. Os tecidos-alvo destas toxinas são bem definidos e limitados (Fig. 18-2 e Tab. 18-3). Os alvos bioquímicos das toxinas A-B incluem os ribossomas, os mecanismos de transporte e sinalização intracelular (produção de monofosfato cíclico de adenosina [cAMP], função da proteína G), com efeitos que variam desde diarreia até a perda da função neuronal e morte. As propriedades funcionais das toxinas citolíticas e outras exotoxinas são discutidas com mais detalhes nos capítulos que tratam da doença específica envolvida.

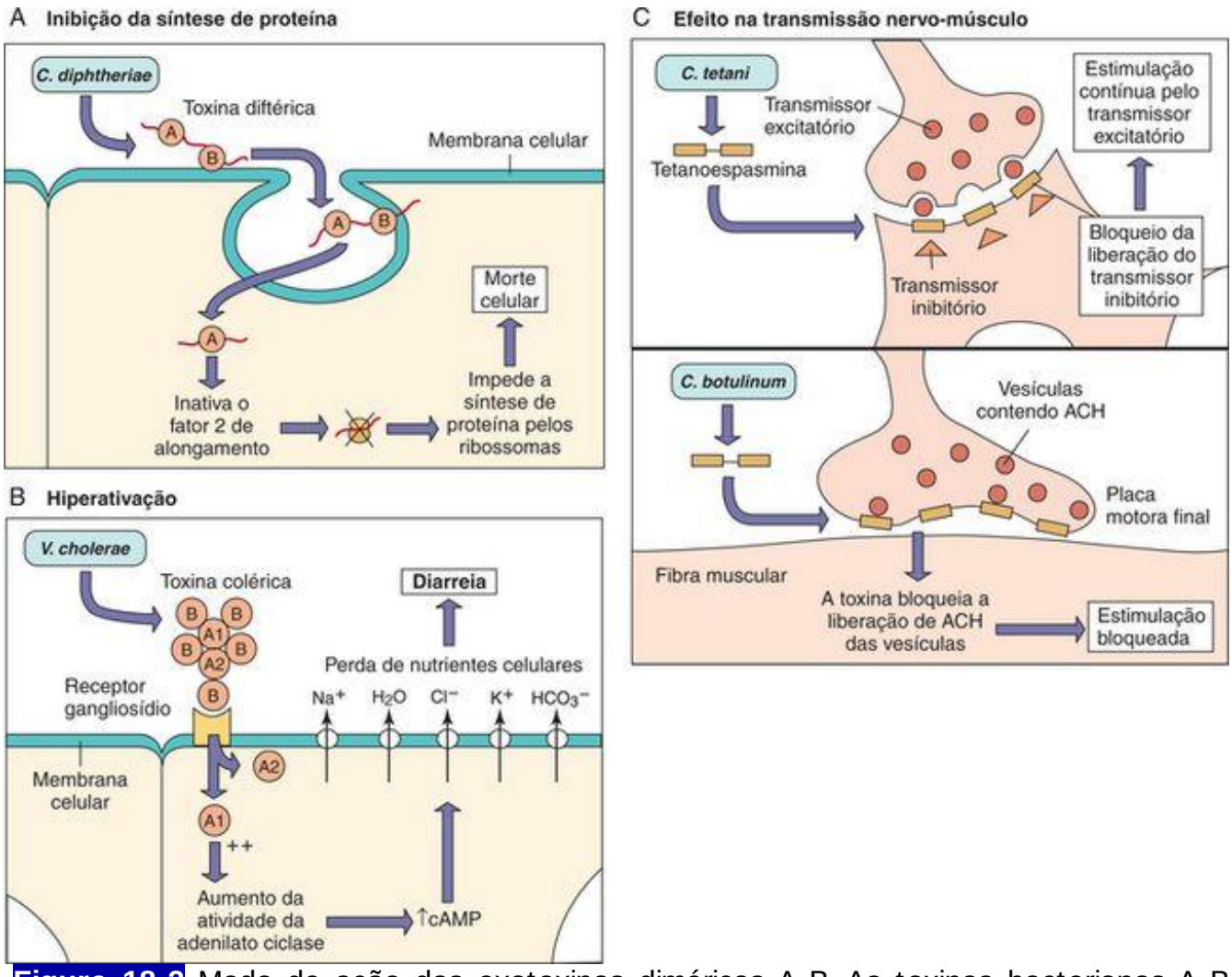


Figura 18-2 Modo de ação das exotoxinas diméricas A-B. As toxinas bacterianas A-B frequentemente consistem de uma molécula constituída de duas cadeias. A cadeia B promove

a entrada da bactéria na célula e a cadeia A apresenta atividade inibidora contra algumas funções vitais. ACH, acetilcolina; cAMP, monofosfato cíclico de adenosina.

(Extraída de Mims C, et al: Medical Microbiology. London, Mosby-Wolfe, 1993.)

Tabela 18-3 Propriedades das Toxinas Bacterianas Tipo A-B

Tabela 18-3. Propriedades das Toxinas Bacterianas Tipo A-B

Toxina	Organismo	Localização do Gene	Estrutura de Subunidade	Receptor da Célula-alvo	Efeitos Biológicos
Toxina do antraz	*Bacillus anthracis*	Plasmídio	Três proteínas separadas (EF, LF, PA)	Marcador 8 (TEM-8) de tumor endotelial; proteína 2 (CMG2) da morfogênese capilar	EF+PA: aumentam os níveis de cAMP na célula-alvo, edema localizado; LF+PA: morte das células-alvo e animais experimentais
Toxina adenilato ciclase de *Bordetella*	*Bordetella* spp.	Cromossoma	A-B	Desconhecido, provavelmente glicolipídio	Aumenta os níveis de cAMP na célula-alvo, função celular modificada ou morte celular
Toxina botulínica	*Clostridium botulinum*	Fago	A-B	Polisialogangliosídio mais sinatotagmina (correceptores)	Diminuição da liberação da acetilcoloina pré-sináptica periférica, paralisia flácida
Toxina da cólera	*Vibrio cholerae*	Cromossoma	A-5B	Gangliosídeo (GM_1)	Ativação de adenilato ciclase Aumento dos níveis de cAMP Diarreia secretória
Toxina diftérica	*Corynebacterium diphtheriae*	Fago	A-B	Precursor do receptor de fator de crescimento	Inibição da síntese de proteínas, morte celular
Enterotoxina termolábil	*Escherichia coli*	Plasmídio	Semelhantes ou idênticos aos da toxina colérica		
Toxina pertussis	*Bordetella pertussis*	Cromossoma	A-5B	Glicoproteína de superfície com resíduos terminais de ácido siálico	Bloqueio da transdução de sinal mediada por proteínas G-alvo
Exotoxina A de *Pseudomonas*	*Pseudomonas aeruginosa*	Cromossoma	A-B	Receptor de macroglobulina α-2 (α-2MR)	Semelhantes ou idênticos aos da toxina diftérica
Toxina de Shiga	*Shigella dysenteriae*	Cromossoma	A-5B	Globotriasoil ceramida (Gb3)	Inibição da síntese de proteína, morte celular
Toxinas semelhantes à toxina de Shiga	*Shigella spp., E. coli*	Fago	Semelhantes ou idênticos aos da toxina de Shiga		
Toxina tetânica	*Clostridium tetani*	Plasmídio	A-B	Polisialoganglio-sídios mais glicoproteína de 15-kDa (correceptores)	Diminuição na liberação de neurotransmissores a partir de neurônios inibidores, paralisia espástica

Modificada de Mandell G, Douglas G, Bennett J: Principles and Practice of Infectious Disease, 3rd ed. New York, Churchill Livingstone, 1990.
cAMP, monofosfato cíclico de adenosina.

Os **superantígenos** são um grupo especial de toxinas (Fig. 18-3). Estas moléculas ativam as células T por se ligarem simultaneamente a um receptor da célula T e a molécula do complexo principal de histocompatibilidade da classe II (MHC II) na superfície de uma célula apresentadora de antígenos sem necessitar da presença de um antígeno. *Os superantígenos ativam uma grande quantidade de células T, o que leva à liberação de grande quantidade de interleucinas (tempestade de citocinas*), incluindo IL-1, TNF, e IL-2, causando *respostas semelhantes às respostas autoimunes que ameaçam a vida*. Este estímulo das células T por

superantígenos pode também levar as células T ativadas à morte, resultando na perda de clones específicos de células T e de suas respostas imunes. Os superantígenos incluem a toxina do choque tóxico de *S. aureus*, as enterotoxinas estafilocócicas, e as toxinas eritrogênicas A ou C de *S. pyogenes*.

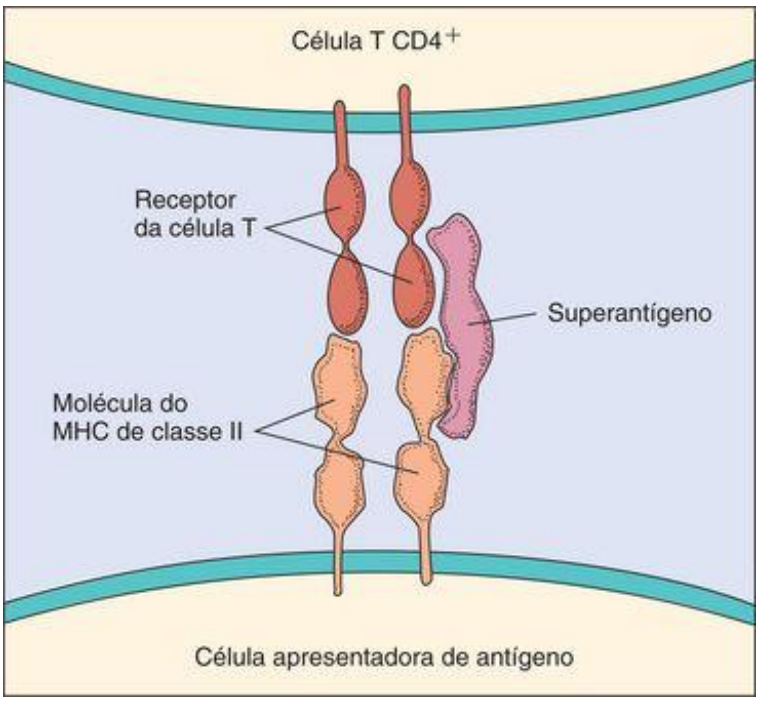


Figura 18-3 Ligação de superantígenos nas regiões externas dos receptores de células T e as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe II (MHC II).

Endotoxinas e outros Componentes da Parede Celular

A presença de componentes da parede celular bacteriana atua como um sinal de infecção que fornece um poderoso alarme múltiplo como aviso para o organismo ativar os sistemas de proteção do hospedeiro. Os padrões moleculares nessas estruturas (**padrões moleculares associados aos patógenos [PAMPs]**) ligam-se as moléculas semelhantes ao receptor Toll (TLR) e estimulam a produção de citocinas. Em alguns casos, a resposta do hospedeiro é excessiva e pode até ameaçar a vida. Em infecções com bactérias Gram positivas, o **peptídioglicano** e seus produtos, bem como os **ácidos teicoicos** e **lipoteicoicos**, são liberados. Isto estimula as **respostas pirogênicas** (febre) **de fase aguda** semelhantes às de endotoxinas. O **lipopolissacarídio** (LPS) produzido pelas bactérias Gram negativas é um ativador ainda mais potente da fase aguda e de reações inflamatórias, chamado de **endotoxina**. A porção do LPS composta pelo lipídio A é responsável pela atividade da endotoxina. É importante notar que endotoxina não é o mesmo que exotoxina e que *somente as bactérias Gram negativas produzem endotoxina*.

As bactérias Gram negativas liberam endotoxina durante a infecção. As endotoxinas ligam-se a receptores específicos (CD14 e TLR4) nos macrófagos, nas células B e em outras células e estimulam a produção e liberação de **citocinas de fase aguda**, tais como IL-1, TNF-α, IL-6 e prostaglandinas (Fig. 18-4). As endotoxinas também estimulam o crescimento (mitogênico) das células B.

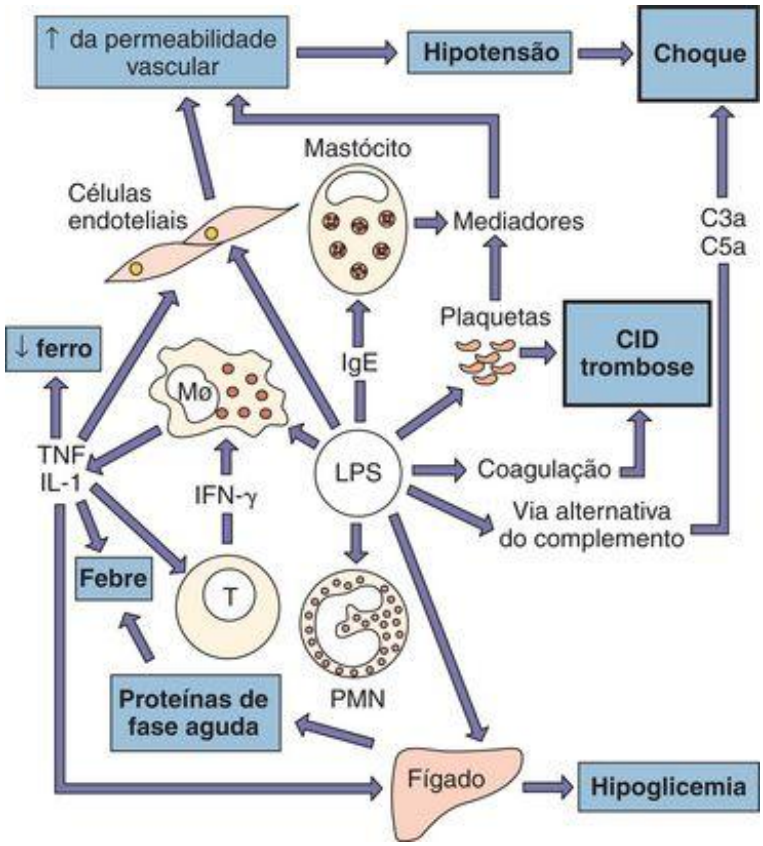


Figura 18-4 As diversas atividades do lipopolissacarídio (LPS). Esta endotoxina bacteriana ativa quase todos os mecanismos imunes, bem como a via de coagulação, que juntos fazem do LPS um dos mais potentes estímulos imunes conhecidos. CID, coagulação intravascular disseminada; IFN-γ, interferon γ; IgE, imunoglobulina E; IL-1, interleucina 1; PMN, leucócito polimorfonuclear (neutrófilo); TNF, fator de necrose tumoral.

(Extraída de Mims C, et al: Medical Microbiology. London, Mosby-Wolfe, 1993).

Em baixas concentrações as endotoxinas estimulam a montagem das respostas protetoras, como a febre, vasodilatação e ativação das respostas inflamatória e imune

(Quadro 18-3). No entanto, os níveis de endotoxina no sangue de pacientes com **septicemia por bactérias Gram negativas** (bactérias no sangue) podem ser muito altos e a resposta sistêmica para estes pode ser superpotente, resultando em choque e, possivelmente, em morte. Altas concentrações de endotoxinas podem também ativar a via alternativa do complemento e a produção de anafilotoxinas (C3a, C5a), contribuindo para a vasodilatação e o extravasamento dos vasos sanguíneos. Em combinação com o TNF e a IL-1, pode levar a **hipotensão** e ao **choque**. A **coagulação intravascular disseminada (CID)** também pode resultar da ativação das vias de coagulação do sangue. A febre alta, petéquias (manchas na pele resultantes do extravasamento capilar) e os potenciais sintomas de choque (resultante da permeabilidade vascular aumentada), associados à infecção por *Neisseria meningitidis*, podem estar relacionados a grande quantidade de endotoxina liberada durante a infecção.

Quadro 18-3 Toxicidade Mediada por Endotoxina

Febre
Leucopenia seguida de leucocitose
Ativação do complemento
Trombocitopenia
Coagulação intravascular disseminada
Diminuição da circulação periférica e da perfusão dos principais órgãos
Choque
Morte

Imunopatogênese

Em muitos casos, os sintomas de uma infecção bacteriana são produzidos pelas respostas inatas, imunes e inflamatórias excessivas disparadas pela infecção. Como descrito previamente, a resposta da fase aguda contra componentes da parede celular, quando limitada e controlada, é uma resposta antibacteriana protetora. No entanto, estas respostas também causam febre e mal-estar. A resposta da fase aguda, quando sistêmica e fora de controle, pode causar sintomas associados à septicemia e à meningite que ameaçam a vida (Fig. 18-4). Os neutrófilos, macrófagos e complemento ativados podem causar dano no sítio da infecção. A ativação do complemento pode também causar liberação de anafilotoxinas que iniciam a permeabilidade celular e o extravasamento capilar. A tempestade de citocinas gerada pelos superantígenos e endotoxinas pode causar choque e interrupção da função corpórea. A formação de granuloma induzido pelas células T CD4 e macrófagos para *Mycobacteruim tuberculosis* pode também levar à destruição do tecido. As respostas autoimunes podem ser disparadas por proteínas bacterianas, tal como a proteína M de *S. pyogenes*, que mimetiza antigenicamente o tecido cardíaco. Os anticorpos antiproteína M reagem cruzadamente e podem iniciar dano ao tecido cardíaco para causar a febre reumática. Complexos imunes depositados nos glomérulos renais causam a glomerulonefrite pós-estreptocócica. Para *Chlamydia, Treponema* (sífilis), *Borrelia* (doença de Lyme) e outras bactérias, a resposta imune é a principal causa dos sintomas da doença no paciente.

Mecanismos de Escape das Defesas do Hospedeiro

As bactérias são parasitas e a evasão das respostas protetoras do hospedeiro é uma vantagem seletiva. Logicamente, quanto mais uma infecção bacteriana permanece em um hospedeiro, mais tempo a bactéria tem para crescer e causar dano. Consequentemente a bactéria que pode evitar ou incapacitar as defesas do hospedeiro apresenta um maior potencial para causar doença. As bactérias evitam o reconhecimento e a morte pelas células fagocitárias, inativam ou evitam o sistema complemento e os anticorpos e até mesmo crescem no interior das células para se protegerem das respostas do hospedeiro (Quadro 18-4).

Quadro 18-4 Defesas Bacterianas contra a Depuração Imunológica pelo Hospedeiro

Encapsulamento
Mimetismo antigênico
Mascaramento antigênico
Alteração antigênica
Produção de proteases anti-imunoglobulinas
Destruição do fagócito
Inibição da quimiotaxia
Inibição da fagocitose
Inibição da fusão fagolisossoma
Resistência às enzimas lisossômicas
Replicação intracelular

A cápsula é um dos principais fatores de virulência (Quadro 18-5). Estas camadas limosas funcionam protegendo a bactéria das respostas imunes e fagocitárias. As cápsulas são tipicamente feitas de polissacarídios, que usualmente são imunógenos fracos. A cápsula do *S. pyogenes*, por exemplo, é feita de ácido hialurônico, que mimetiza o tecido conjuntivo humano, mascarando desse modo a bactéria e mantendo-a sem que seja reconhecida pelo sistema imune. A cápsula também atua como uma cobertura escorregadia, que é difícil de ser agarrada e que se rompe quando capturada por um fagócito. A cápsula também protege a bactéria da destruição no interior do fagolisossoma de um macrófago ou leucócito. Todas estas propriedades podem aumentar o tempo da bactéria no sangue (bacteremia) antes que a mesma seja eliminada pelas respostas do hospedeiro. Mutantes de bactérias normalmente capsuladas que perdem a habilidade de sintetizar cápsula também perdem suas virulências; exemplos de tais bactérias são *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis*. Um **biofilme** constituído de material capsular pode evitar que anticorpos e complemento tenham acesso à bactéria.

Quadro 18-5 Exemplos de Microrganismos que Possuem Cápsula

Staphylococcus aureus

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pyogenes (grupo A)

Streptococcus agalactiae (grupo B)

Bacillus anthracis

Bacillus subtilis

Neisseria gonorrhoeae

Neisseria meningitidis

Haemophilus influenzae

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Salmonella spp.

Yersinia pestis

Campylobacter fetus

Pseudomonas aeruginosa

Bacteroides fragilis

*Cryptococcus neoformans (*levedura*)*

As bactérias podem evitar as respostas de anticorpos pelo **crescimento intracelular, variação antigênica** ou pela **inativação dos anticorpos ou complemento**. As bactérias que crescem intracelularmente incluem micobactérias, franciselas, brucelas, clamídias e riquétsias (Quadro 18-6). Diferente da maioria das outras bactérias, o controle das infecções por estes microrganismos requer respostas imunes das células T auxiliadoras TH1, as quais ativam os macrófagos a matarem a bactéria ou a criarem uma parede (granuloma) ao redor da célula infectada (como o que acontece com *Mycobacterium tuberculosis*) . *Neisseria gonorrhoeae* pode variar a estrutura dos antígenos de superfície para evadir as respostas de anticorpos e também produz uma protease que degrada a imunoglobulina A (IgA). *S. pyogenes* limita a quimiotaxia de leucócitos ao sítio de infecção porque degrada o componente C5a.

Quadro 18-6 Exemplos de Patógenos Intracelulares

Mycobacterium spp.

Brucella spp.

Francisella spp.

Rickettsia spp.

Chlamydia spp.

Listeria monocytogenes

Salmonella typhi

Shigella dysenteriae

Yersinia pestis

Legionella pneumophila

Os fagócitos (neutrófilos, macrófagos) são uma defesa antibacteriana importante, porém muitas bactérias podem contornar a morte pelos fagócitos de várias maneiras. Elas podem produzir enzimas capazes de lisar as células fagocitárias (p. ex., a estreptolisina produzida pelo *S. pyogenes* ou a toxina α produzida pelo *C. perfringens*). Podem inibir a fagocitose (p. ex., os efeitos da **cápsula** e da **proteína M** produzida pelo *S. pyogenes*) ou bloquear a morte intracelular. Os mecanismos bacterianos para a proteção da morte intracelular incluem o bloqueio da fusão fagolisossoma para evitar o contato com seus conteúdos bactericidas (espécies de *Mycobacterium*), resistência às enzimas ou substâncias bactericidas lisossômicas e a habilidade de sair do fagossoma para o citoplasma bacteriano, antes de serem expostas às enzimas lisossômicas (Tab. 18-4 e Fig. 18-5). A produção de catalase pelos estafilococos pode quebrar o peróxido de hidrogênio pelo sistema da mieloperoxidase. Muitas bactérias que são internalizadas e sobrevivem à fagocitose podem usar as células como um local para crescer, se proteger da resposta imune e também como um meio de se disseminar pelo corpo todo.

Tabela 18-4 Métodos que Evitam a Morte pelos Fagócitos

Método	Exemplo

Inibição da fusão fagolissoma	*Legionella* spp., *Mycobacterium tuberculosis, Chlamydia* spp.
Resistência às enzimas lissossômicas	*Salmonella typhimurium, Coxiella* spp., *Ehrlichia* spp., *Mycobacterium leprae, Leishmania* spp.
Adaptação à replicação no citoplasma	*Listeria, Francisella, e Rickettsia* spp.

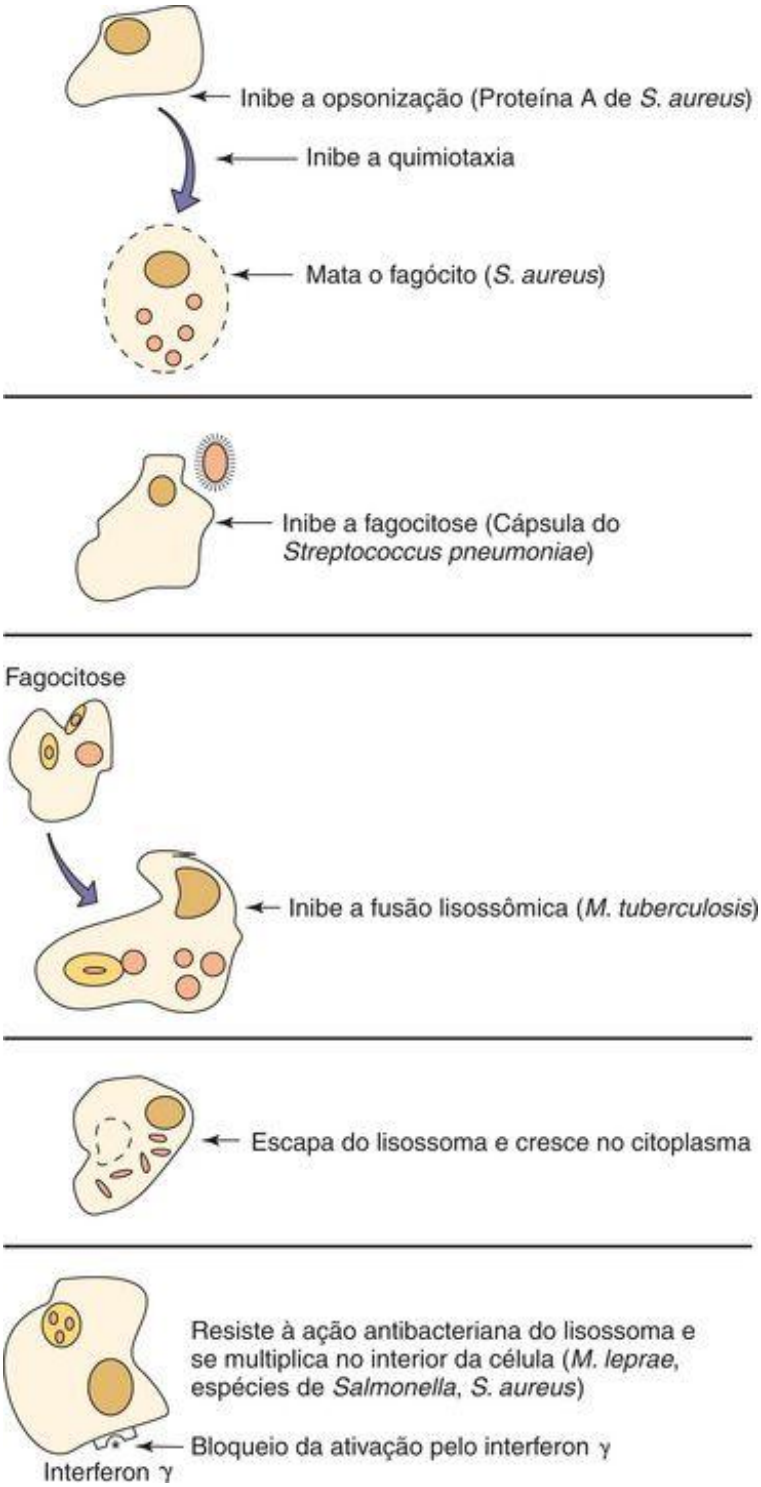


Figura 18-5 Mecanismos bacterianos para escapar da eliminação pelos fagócitos. São dados exemplos selecionados de bactérias que usam os mecanismos antifagocitários indicados.

Outras importantes defesas do hospedeiro subvertidas pelas bactérias incluem a via alternativa do complemento e os anticorpos. As bactérias evitam a ação do complemento

mascarando-se e inibindo a ativação da cascata. O antígeno O do LPS longo previne o complemento de ter acesso à membrana e protege as bactérias Gram negativas dos danos. *S. aureus* produz uma proteína de ligação à imunoglobulina G, a proteína A, que mascara a bactéria e consequentemente previne da ação dos anticorpos.

S. aureus pode também escapar das defesas do hospedeiro isolando o sítio de infecção. *S. aureus* pode produzir coagulase, uma enzima que promove a conversão de fibrina a fibrinogênio para produzir uma barreira semelhante a um coágulo; esta característica distingue *S. aureus* do *S. epidermidis*. *M. tuberculosis* é capaz de sobreviver em um hospedeiro promovendo o desenvolvimento de um granuloma, no interior do qual a bactéria viável pode residir por toda a vida do indivíduo infectado. A bactéria pode reassumir o crescimento se houver um declínio no estado imune do indivíduo.

Resumo

Os principais fatores de virulência das bactérias são a cápsula, as adesinas, invasinas, enzimas degradativas, toxinas e os mecanismos para escapar da eliminação pelas defesas do hospedeiro. As bactérias podem possuir apenas um mecanismo de virulência. Por exemplo, *C. diphtheriae* apresenta um único mecanismo de virulência, o qual é a toxina diftérica. Outras bactérias expressam muitos fatores de virulência. *S. aureus* é um exemplo de tal bactéria; esta bactéria expressa adesinas, enzimas degradativas, toxinas, catalases e coagulases, que são responsáveis por produzir um espectro de doenças. Além do mais, diferentes cepas dentro de uma mesma espécie bacteriana podem expressar mecanismos de virulência distintos. Por exemplo, os sintomas e as sequelas da gastroenterite (diarreia) causada pela *E. coli* podem incluir invasão e fezes sanguinolentas, fezes aquosas semelhantes às causadas pela cólera e até mesmo uma grave doença hemorrágica dependendo da cepa específica infectante.

Questões

1. Cite três rotas pelas quais patógenos exógenos podem infectar um indivíduo. Dê cinco exemplos de microrganismos que podem utilizar cada rota.

1. (Para obter as respostas, consulte a Tabela 18-1)

Ingestão: Salmonella spp, Shigella spp, Bacillus cereus, E. coli, Vibrio spp

Inalação: *Mycobacterium* spp, *Mycoplasma pneumonia, Legionella* spp, Bordetella, *Streptococcus* spp, *Chlamydophila pneumoniae*

Picadas de artrópodes: *Rickettsia, Ehrlichia, Coxiella, Francisella, Borrelia burgdorferei*

2. Como os microrganismos são capazes de resistir ao sistema imunológico? Cite pelo menos um exemplo específico de cada mecanismo.

2. (Para obter respostas, consulte o Quadro 18-4)

Encapsulamento antifagocítico: *Streptococcus pneumoniae*

Crescimento intracelular: *Francisella tularensis*

Produção de proteases anti-imunoglobulinas: *Neisseria gonorrhoeae*

Proteínas de ligação IgG: *Staphylococcus* proteína A.

Inibição da fusão fagolisossoma: *Legionella, Mycobacterium tuberculosis*

Resistência às enzimas lisossômicas: *Salmonella typhimurium*

3. Quais são os dois tipos gerais de exotoxinas? Cite exemplos de cada um deles.

3. Exotoxinas:

Enzimas degradativas: Alfa-toxina (Fosfolipase C de *C. perfringens*)

Toxinas A-B: Toxina tetânica

Superantígenos: Toxina da Síndrome do Choque Tóxico de *Staphylococcus aureus*

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site www.StudentConsult.com e assista à animação com as funções de *C. diphtheriae, B. anthracis, B. pertussis, P. aeruginosa, V. cholerae, E. coli* (enterotoxigênica), *C. botulinus, C. tetani* e *C. difficile*.

Bibliografia

Bisno AL, Brito MO, Collins CM. Molecular basis of group A streptococcal virulence. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:191-200.

Bower S, Rosenthal KS. Bacterial cell walls: The armor, artillery and Achilles heel. *Infect Dis Clin Pract*. 2006;14:309-317.

Brodell LA, Rosenthal KS. Skin structure and function: The body's primary defense against infection. *Infect Dis Clin Pract*. 2008;16(2):113-117.

Cohen J, Powderly WC. Infectious Diseases, 2nd ed., London: Mosby, 2004.

Desvaux M, et al. Type III secretion: What's in a name? *Trends Microbiol*. 2006;14:157-160.

Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1997;61:136-169.

Groisman EA, Ochman H. How Salmonella became a pathogen. *Trends Microbiol*. 1997;5:343-349.

Lee CA. Pathogenicity islands and the evolution of bacterial pathogens. *Infect Agents Dis*. 1996;5:1-7.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.

McClane BA, et al. Microbial Pathogenesis: A Principles-Oriented Approach. Madison, CT: Fence Creek, 1999.

Papageorgiou AC, Acharya KR. Microbial superantigens: From structure to function. *Trends Microbiol*. 2000;8:369-375.

Reading N, Sperandio V. Quorum sensing: The many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 2006;254:1-11.

Rosenthal KS. Are microbial symptoms "self-inflicted"?: The consequences of immunopathology. *Infect Dis Clin Pract*. 2005;13:306-310.

19 Diagnóstico Laboratorial de Doenças Bacterianas

O diagnóstico laboratorial de doenças bacterianas requer que a amostra apropriada seja coletada adequadamente, transportada rapidamente para o laboratório e processada de maneira a maximizar a detecção dos patógenos mais prováveis. A obtenção da amostra apropriada e a rápida entrega ao laboratório clínico primordialmente são da responsabilidade do médico do paciente, enquanto que o microbiologista clínico seleciona as condições de transporte adequado e o método de detecção (ou seja, microscopia, cultura, detecção de antígeno ou anticorpo e testes baseados em ácidos nucleicos). Estas responsabilidades não são mutuamente exclusivas. O microbiologista deve estar preparado para instruir o médico sobre as amostras a serem coletadas quando suspeitar de um diagnóstico particular. O médico deve fornecer informações sobre o diagnóstico clínico ao microbiologista, para que os testes apropriados sejam selecionados. Este capítulo tem o objetivo de fornecer uma visão geral sobre a coleta e transporte da amostra, assim como os métodos utilizados no laboratório de microbiologia clínica para a detecção e identificação de bactérias. Em virtude de a cobertura exaustiva deste assunto ir além do âmbito deste capítulo, o aluno poderá ampliar seu conhecimento consultando as citações bibliográficas e os capítulos individuais deste livro, relacionados ao tema, para obter informações mais detalhadas.

Coleta, Transporte e Processamento de Amostras

As instruções para coleta apropriada e transporte de amostras, desde o local da coleta até o laboratório clínico, estão resumidas no texto que se segue e na Tabela 19-1.

Tabela 19-1 Coleta de Bactérias Patogênicas – *Continuação*

Tabela 19-1. Coleta de Bactérias Patogênicas

Amostra	Sistemas de Transporte	Volume de Amostra	Outras Considerações
Sangue — cultura bacteriana de rotina	Frascos de hemocultura contendo meio nutriente	Adultos: 20 mL/cultura Criança: 5-10 mL/cultura Neonatos: 1-2 mL/cultura	Deve ser realizada a assepsia da pele com álcool – 70%, seguida de iodo 2%; 2-3 amostras coletadas a cada 24 horas, a menos que o paciente esteja em choque séptico ou a administração de antibióticos tenha que ser iniciada imediatamente; a coleta de sangue deve ter intervalos de 30-60 min; o sangue é aliquotado em partes iguais, que devem ser inoculadas em dois frascos contendo meio nutriente.
Sangue — bactéria intracelular (p. ex., *Brucella*, *Francisella*, *Neisseria* spp.)	Semelhante a hemoculturas de rotina; sistema de lise-centrifugação	Semelhante a hemoculturas de rotina	As considerações são as mesmas que as de hemoculturas de rotina; a liberação de bactérias intracelulares para o meio pode otimizar o isolamento do organismo; espécies de *Neisseria* são inibidas por alguns anticoagulantes (polianetolsulfonato de sódio).
Sangue — *Leptospira* spp.	Tubo heparinizado estéril	1-5 mL	As amostras são úteis apenas durante a primeira semana da doença; depois, amostras de urina devem ser cultivadas.
Fluido cerebrospinal	Tubo com tampa de rosca estéril	Cultura bacteriana: 1-5 mL; Cultura de micobactérias: o maior volume possível	A amostra deve ser coletada assepticamente e enviada imediatamente ao laboratório; essa amostra não deve ser exposta ao calor ou frio.
Outros fluidos normalmente estéreis (p. ex., abdominal, torácico, sinovial, pericardial)	Pequeno volume: tubo com tampa de rosca estéril; grande volume: frasco de hemocultura contendo meio nutritivo	O maior volume possível	As amostras são coletadas por seringa; *swab* não é utilizado porque a quantidade de amostra coletada é insuficiente; ar não deve ser injetado no frasco de cultura, porque inibirá o crescimento de anaeróbios.
Cateter	Tubo com tampa de rosca estéril ou frasco de coleta	N/A	Deve ser realizada assepsia do local de entrada do cateter com álcool 70%; o cateter deve ser removido assepticamente no momento da recepção da amostra pelo laboratório; o cateter é utilizado para inocular, por meio de rolamento, toda a superfície da placa de Petri, contendo ágar sangue. Em seguida deve ser descartado adequadamente.
Respiratório — garganta	*Swab* é imerso em meio de transporte	N/A	Material da área da inflamação é coletado com *swab*; quando presente, o exsudato é coletado; o contato com a saliva deve ser evitado, pois pode inibir a recuperação de estreptococos do grupo A.
Respiratório — epiglote	Coleta de sangue para cultura	Semelhante à hemocultura	Coleta com *swab* pode precipitar o completo fechamento das vias aéreas; hemoculturas devem ser realizadas para diagnóstico específico.
Respiratório — seios faciais	Tubos ou pequenos frascos estéreis para anaeróbios	1-5 mL	As amostras devem ser coletadas por seringa; culturas de material da orofaringe ou nasofaringe não têm valor diagnóstico; a amostra deve ser cultivada em meios para bactérias aeróbias e para anaeróbias.

(*Continua*)

Tabela 19-1. Coleta de Bactérias Patogênicas – *Continuação*

Amostra	Sistemas de Transporte	Volume de Amostra	Outras Considerações
Respiratório — vias aéreas inferiores	Frasco com tampa de rosca estéril; tubo ou pequeno frasco para anaeróbios apenas para as amostras coletadas, evitando a contaminação da microbiota do trato respiratório superior	1-2 mL	Escarro expectorado: se possível, o paciente deve lavar a boca com água antes da coleta da amostra; o paciente deve tossir intensamente e expectorar as secreções das vias aéreas inferiores diretamente no frasco estéril; deve-se evitar a contaminação com a saliva. Amostra coletada por broncoscopia: anestésicos podem inibir o crescimento de bactérias, assim as amostras devem ser processadas imediatamente; se broncoscópio "protegido" é utilizado, culturas para anaeróbios podem ser realizadas. Aspiração direta do pulmão: amostras podem ser processadas para bactérias aeróbias e anaeróbias.
Ouvido	Seringas com agulhas cobertas	Qualquer volume coletado	A amostra deve ser aspirada por seringa; cultura do ouvido externo não tem valor preditivo para otite média
Olho	Inocular placas com o material coletado à beira do leito (selar e transportar para o laboratório imediatamente)	Qualquer volume coletado	Para infecções oculares superficiais, as amostras são coletadas por *swab* ou por raspado da córnea; para infecções profundas, a aspiração de líquido aquoso ou vítreo é realizada, todas as amostras devem ser inoculadas em meios adequados, no momento da coleta; o adiamento resultará em uma perda significativa de organismos viáveis.
Exudatos (transudatos, secreções, úlceras)	*Swab* imerso em meio de transporte; acondicionar material aspirado em tubo com tampa de rosca estéril	Bactérias: 1-5 mL; Micobactérias: 3-5 mL	A contaminação com material de superfície deve ser evitada; as amostras geralmente são inadequadas para a cultura de anaeróbios.
Feridas (abscesso, pus)	Acondicionar material aspirado em tubo com tampa de rosca estéril ou tubo/pequeno frasco estéreis para anaeróbios	1-5 mL de pus	As amostras devem ser coletadas por seringas estéreis; a cureta é utilizada para coletar amostras na base da ferida; coleta por *swab* deve ser evitada.
Tecidos	Tubo com tampa de rosca estéril ou tubo/pequeno frasco estéreis para anaeróbios	Amostra representativa do centro e das bordas da lesão	A amostra deve ser acondicionada assepticamente em recipiente apropriado estéril; quantidade adequada de amostra deve ser coletada para recuperar um número reduzido de organismos.
Urina — jato médio	Frasco para urina estéril	Bactérias: 1 mL; Micobactérias: ≥ 10 mL	A contaminação da amostra com bactérias da uretra ou vagina deve ser evitada; primeiro jato deve ser descartado; os organismos podem crescer rapidamente na urina, assim, as amostras devem ser imediatamente transportadas para o laboratório, mantidas em presença de agente bacteriostático ou sob refrigeração.
Urina — cateterismo	Coletor para urina estéril	Bactérias: 1 mL; Micobactérias: ≥ 10 mL	O cateterismo de rotina não é recomendado (risco de induzir infecção); a primeira amostra coletada pode estar contaminada com bactérias da uretra, de modo que deve ser descartada (semelhante à Urina — jato médio); a amostra deve ser transportada rapidamente ao laboratório.
Urina — punção suprapúbica	Tubo ou pequeno frasco estéreis para anaeróbios	Bactérias: 1 mL; Micobactérias: ≥ 10 mL	Este é um procedimento invasivo, de modo que bactérias da uretra devem ser evitadas; único método válido disponível para coleta de amostras para cultura de anaeróbios; também é útil para a coleta de amostras de crianças ou adultos incapazes de evitar a contaminação de amostras.

(*Continua*)

Tabela 19-1. Coleta de Bactérias Patogênicas – *Continuação*

Amostra	Sistemas de Transporte	Volume de Amostra	Outras Considerações
Genitália	*Swabs* especialmente desenvolvidos para sondas de *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydia*	N/A	As amostras devem ser coletadas na área de inflamação ou de exsudato; para uma ótima detecção, devem ser cultivadas amostras endocervical (e não vaginal) e uretral.
Fezes (evacuação)	Recipiente com tampa de rosca estéril	N/A	O transporte rápido para o laboratório é necessário para prevenir a produção de ácidos (bactericida para alguns patógenos entéricos) por bactérias fecais normais; imprópria para cultura de anaeróbios; *swabs* não devem ser utilizados para coleta, por causa do grande número de meios diferentes a serem inoculados.

Sangue

A cultura de sangue (hemocultura) é um dos procedimentos mais importantes realizados no laboratório de microbiologia clínica. O sucesso deste teste está diretamente relacionado com os métodos utilizados para coletar a amostra de sangue. O fator mais importante que determina o sucesso de uma hemocultura é o volume de sangue processado. Por exemplo, 40% das culturas são positivas quando 20 mL de sangue, em vez de 10 mL, são inoculados no meio de hemocultura. Isto ocorre porque mais da metade de todos os pacientes sépticos apresentam menos que um organismo por mililitro de sangue. Cerca de 20 mL de sangue deve ser coletado de um adulto para cada hemocultura e volumes proporcionalmente menores devem ser coletados de crianças e recém-nascidos. A assepsia apropriada da pele do paciente é importante, uma vez que muitos pacientes hospitalizados são suscetíveis a infecções com organismos que colonizam a pele.

Os termos **bacteremia** e **fungemia** são definidos como a presença de bactérias e fungos, respectivamente, no sangue; estas infecções são referidas coletivamente como **septicemia**. Estudos clínicos demonstraram que a septicemia pode ser contínua ou intermitente. **Septicemia contínua** ocorre primariamente em pacientes com infecções intravasculares (p. ex., endocardite, tromboflebite séptica, infecções associadas a cateteres intravasculares) ou com sepse severa (p. ex., choque séptico). **Septicemia intermitente** ocorre em pacientes com infecções localizadas (p. ex., pulmões, sistema urinário, tecidos moles). A cronometragem da coleta não é importante para pacientes com septicemia contínua, mas é importante para pacientes com septicemia intermitente. Além disso, em razão dos sinais clínicos da sepse (p. ex., febre, calafrios e hipotensão) serem uma resposta à liberação de endotoxinas ou exotoxinas dos organismos, estes sinais ocorrem uma hora após o microrganismo entrar na corrente sanguínea. Assim, poucos ou nenhum organismo deve estar no sangue quando o paciente se torna febril. Por esta razão, recomenda-se que duas a três amostras de sangue sejam coletadas em tempos aleatórios durante um período de 24 horas.

A maioria das amostras de sangue é inoculada diretamente em frascos de cultura contendo meio de enriquecimento. Para garantir a máxima recuperação de organismos importantes, o inóculo deve ser realizado em duplicata (10 mL de sangue por frasco). Quando estes frascos inoculados são recebidos no laboratório, devem ser incubados a 37°C e inspecionados em intervalos regulares para a observação do crescimento microbiano. Na maioria dos laboratórios, este procedimento é realizado em equipamentos de hemocultura automatizados. Quando o crescimento é detectado, as culturas são inoculadas em meio sólido para isolar e identificar o microrganismo e para realizar o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos. A maioria dos isolados com significado clínico é detectada após 1 a 2 dias de incubação. Porém, todas as culturas devem ser incubadas por um mínimo de 5 a 7 dias. Incubações mais longas geralmente são desnecessárias. Em virtude de poucos organismos estarem normalmente presentes no sangue de um paciente séptico, não vale realizar uma coloração de Gram da amostra de sangue para análise microscópica.

Fluido Cerebrospinal

A meningite bacteriana é uma doença grave associada à alta morbidade e mortalidade, se o diagnóstico etiológico for retardado Em virtude de alguns patógenos comuns serem lábeis (p. ex., *Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae*), amostras de fluido cerebrospinal devem ser tratadas imediatamente após serem coletadas. Em nenhuma circunstância a amostra deve ser refrigerada ou incubada diretamente. Deve-se efetuar uma assepsia da pele do paciente antes da punção lombar e o líquido cefalorraquidiano coletado deve ser dispensado em tubos estéreis com tampa de rosca. Quando a amostra é recebida no laboratório de microbiologia, esta é concentrada por centrifugação e o sedimento é utilizado para inocular o meio bacteriológico e preparar a lâmina com a coloração de Gram. Se a presença de microrganismos é observada microscopicamente ou por cultura, o laboratorista deve notificar o médico imediatamente.

Outros Fluidos Normalmente Estéreis

Uma variedade de outros fluidos normalmente estéreis pode ser coletada para a cultura bacteriológica, incluindo fluidos abdominal (peritoneal), torácico (pleural), sinovial e pericárdico. Se um grande volume de fluidos pode ser coletado por aspiração (p. ex., fluidos abdominal ou torácico), este deve ser inoculado em frascos de hemocultura contendo meio nutriente. Uma pequena alíquota também deve ser enviada ao laboratório em um tubo estéril para que técnicas de coloração (p. ex., Gram, resistência ao álcool-ácido) possam ser realizadas. Muitos microrganismos estão associados a infecções nestes locais, incluindo misturas polimicrobianas de organismos aeróbios e anaeróbios. Por esta razão, a coloração é útil para identificar os organismos responsáveis pela infecção. Em razão de que relativamente poucas células de microrganismos possam estar presentes na amostra (como um resultado de diluição dos microrganismos ou eliminação pela resposta imune), é importante inocular o maior volume de fluido possível. No entanto, se apenas pequenas quantidades de fluidos são coletadas, a amostra pode ser inoculada diretamente em meio agar e em um tubo contendo meio de enriquecimento. Em virtude da possibilidade da presença de anaeróbios na amostra (especialmente amostras obtidas de pacientes com infecções intra-abdominais ou pulmonares), a amostra não deve ser exposta ao oxigênio.

Amostras do Trato Respiratório Superior

A maioria das infecções bacterianas da faringe é causada por *Streptococcus* do grupo A. Outras bactérias que podem causar faringite incluem *Corynebacterium diphtheriae, B. pertussis, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydophila pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae*. No entanto, técnicas especiais geralmente são necessárias para recuperar esses organismos. Outras bactérias potencialmente patogênicas, como *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa*, podem estar presentes na orofaringe, mas raramente causam faringite.

Swabs de Dacron ou alginato de cálcio devem ser utilizados para coletar amostras da faringe. As regiões tonsilar, faringe posterior e qualquer exsudato ou área ulcerativa devem ser avaliadas. A contaminação de amostras com a saliva deve ser evitada, pois bactérias da saliva podem crescer excessivamente ou inibir o crescimento de estreptococos do grupo A. Se uma pseudomembrana estiver presente (p. ex., em infecções por *C. diphtheriae*), uma parte deve ser retirada e inoculada em cultura. Estreptococos do grupo A e *C. diphtheriae* são muito resistentes à dessecação e, por isto, precauções especiais não são necessárias para o transporte da amostra até o laboratório. Em contraste, amostras coletadas para o isolamento de *B. pertussis* e *N. gonorrhoeae* devem ser inoculadas em meios de cultura imediatamente após a coleta e antes de serem enviadas ao laboratório. As amostras obtidas para o isolamento de *C. pneumoniae* e *M. pneumoniae* devem ser transportadas em meios especiais.

Estreptococos do grupo A podem ser detectados diretamente na amostra clínica por imunoensaios com antígenos específicos para este grupo. Embora estes testes sejam muito específicos e facilmente disponíveis, são também pouco sensíveis e não podem ser utilizados para excluir o diagnóstico confiável de faringite estreptocócica do grupo A. Em outras palavras, um teste negativo deve ser confirmado por cultura.

Outras vias respiratórias superiores podem envolver a epiglote e os seios faciais. A completa obstrução de vias aéreas pode ser induzida por tentativas de coleta de material da epiglote para cultura (particularmente em crianças), assim, estas culturas nunca devem ser realizadas. O diagnóstico específico de uma infecção sinusal requer (1) a aspiração direta do seio, (2) transporte anaeróbio adequado da amostra para o laboratório (utilizando um sistema que evite a exposição de anaeróbios ao oxigênio e a dessecação), e (3) processamento rápido. As culturas de material da nasofaringe ou orofaringe não são úteis e não devem ser realizadas. *S. pneumoniae, H. influenzae, Moraxella catarrhalis, S. aureus* e anaeróbios são os patógenos mais comuns causadores de sinusite.

Amostras do Trato Respiratório Inferior

Uma variedade de técnicas pode ser utilizada para coletar amostras do trato respiratório inferior. Estas incluem expectoração, indução com solução salina, broncoscopia e aspiração direta através da parede torácica. As amostras expectoradas devem ser analisadas microscopicamente, uma vez que contaminação por bactérias das vias aérea superiores pode ocorrer durante a coleta. Amostras contendo muitas células epiteliais escamosas e sem o predomínio de bactérias em associação com neutrófilos não devem ser processadas para a cultura. A presença de células epiteliais escamosas indica que a amostra foi contaminada com saliva. Estas contaminações podem ser evitadas pela obtenção de amostra utilizando broncoscópios especialmente concebidos para esse fim ou pela aspiração pulmonar direta. Se uma infecção pulmonar causada por anaeróbios é suspeita, estes procedimentos invasivos devem ser utilizados. Caso contrário, a contaminação da amostra por microrganismos das vias aéreas superiores tornaria a amostra inútil. A maioria dos agentes patogênicos do trato respiratório inferior cresce rapidamente (2 a 3 dias), porém, algumas bactérias de crescimento lento, tais como micobactérias ou nocárdias, exigirão incubação prolongada.

Ouvido e Olho

A **tipanocentese** (ou seja, a aspiração de fluido do ouvido médio) é necessária para fazer o diagnóstico específico de uma infecção do ouvido médio. Porém, este procedimento é desnecessário na maioria dos pacientes, uma vez que os agentes patogênicos mais comuns que causam estas infecções (*S. pneumoniae, H. influenzae* e *M. catarrhalis*) podem ser tratados empiricamente. Infecções do ouvido externo são normalmente causadas por *P. aeruginosa* ("ouvido de nadador") ou *S. aureus*. A amostra adequada para cultura pode ser obtida por raspagem da área envolvida do ouvido.

A coleta de amostras para o diagnóstico de infecções oculares é difícil, pois a amostra obtida geralmente é muito pequena e relativamente poucos organismos podem estar presentes. Amostras de superfície do olho devem ser coletadas com o auxílio de um *swab* antes que anestésicos tópicos sejam aplicados, seguida por raspagem da córnea, quando necessário. Amostras intraoculares são coletadas pela aspiração direta do olho. Os meios de cultura devem ser inoculados no local da coleta e antes de serem enviados para o laboratório. Embora a maioria dos patógenos oculares comuns cresça rapidamente (p. ex., *S. aureus, S. pneumoniae, H. influenzae, P. aeruginosa, Bacillus cereus*), alguns podem exigir incubação prolongada (p. ex., estafilococos coagulase negativa) ou a utilização de meios de cultura específicos (*N. gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis*).

Feridas, Abscessos e Tecidos

Feridas abertas com secreção podem ser frequentemente contaminadas com agentes patogênicos não relacionados àqueles do processo infeccioso. Por isso, é importante coletar amostras em camadas profundas da ferida após a assepsia da superfície. Sempre que possível, a coleta por *swab* deve ser evitada, porque é difícil obter uma amostra representativa sem contaminação por organismos colonizadores da superfície. Do mesmo modo, abscessos fechados devem ser coletados por aspiração tanto do centro quanto da parede do abscesso. A simples coleta de pus de um abscesso geralmente não é adequada, porque a maioria dos organismos replica-se ativamente na base do abscesso e não no centro. Secreções produzidas em infecções de tecidos moles podem ser coletadas por aspiração. Se o material do abscesso não for obtido, pode ser realizada a infusão de uma pequena quantidade de soro fisiológico no tecido e, em seguida, o material pode ser aspirado para a cultura. Salina contendo agentes bactericidas não deve ser utilizada.

Sempre que possível, os tecidos devem ser obtidos a partir de áreas representativas do processo infeccioso, com múltiplas amostras coletadas. A amostra de tecido deve ser transportada em um recipiente estéril com tampa de rosca e quando uma pequena amostra (p. ex., amostra de biopsia) é coletada, salina estéril deve ser acrescentada para evitar a dessecação. Uma amostra de tecido também deve ser reservada para exame histológico. Em razão de a coleta de amostras de tecido necessitar de procedimentos invasivos, todos os esforços devem ser realizados para coletar a amostra apropriada e assegurar que todos os microrganismos clinicamente significativos para a respectiva infecção, sejam inoculados no meio de cultura. Isto exige uma comunicação próxima entre o médico e o microbiologista.

Urina

A urina é uma das amostras mais submetidas à cultura. Em virtude de bactérias potencialmente patogênicas colonizarem a uretra, o primeiro jato de urina por coleta espontânea ou o primeiro volume coletado por cateterismo devem ser descartados. Patógenos do trato urinário também podem crescer na urina e, por isto, o transporte de amostras para o laboratório deve ser imediato. Se a amostra não puder ser cultivada imediatamente, essa deve ser refrigerada ou preservada pela adição de um **agente bacteriostático urinário**. Uma vez que a amostra é recebida no laboratório, 1 a 10 µL deverão ser inoculados em cada cultura (geralmente em agar seletivo e não seletivo). Este procedimento permite que o número de organismos na urina seja quantificado, o que é útil para avaliar o significado clínico de um isolado bacteriano embora um pequeno número de organismos em um paciente com piúria também possa ser clinicamente significativo. Numerosos procedimentos de rastreamento na urina (p. ex., testes bioquímicos, colorações para microscopia) foram desenvolvidos e são amplamente utilizados. No entanto, esses procedimentos não são recomendados, pois não sensíveis na detecção de bacteriúrias de baixa contagem, mas clinicamente significativas.

Amostras do Trato Genital

Apesar da diversidade de bactérias associadas a doenças sexualmente transmissíveis, a maioria dos laboratórios se concentra na detecção de *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis*. Tradicionalmente este procedimento era realizado pela inoculação da amostra em meios seletivos para esses microrganismos. Entretanto, este processo é lento, necessitando de 2 dias ou mais para a obtenção de uma cultura positiva e ainda um tempo maior para identificação definitiva do isolado. A cultura também é considerada insensível, pois os organismos são extremamente lábeis e morrem rapidamente quando transportados em condições subótimas. Por estas razões, uma variedade de métodos alternativos à cultura são utilizados atualmente. Os métodos mais populares são procedimentos envolvendo a amplificação de ácidos nucleicos (p. ex., amplificação de sequências espécies-específicas de ácido desoxirribonucleico [DNA] pela reação em cadeia da polimerase e por outros métodos moleculares). A subsequente detecção por sondas das sequências amplificadas é sensível e específica. No entanto, uma contaminação cruzada pode ocorrer se os procedimentos não forem cuidadosamente controlados. Se a urina é utilizada para esses testes, o primeiro jato de urina deve ser testado e não o jato mediano (como é utilizado para a cultura).

Outra bactéria relevante que provoca a doença sexualmente transmitida é *Treponema pallidum*, o agente etiológico da sífilis. Este organismo não pode ser cultivado em laboratório clínico, o diagnóstico deve ser realizado por microscopia ou sorologia. O material coletado das lesões deve ser examinado por microscopia de campo escuro, pois o organismo é muito delgado para ser detectado por microscopia ótica convencional. Além disso, o organismo morre rapidamente quando exposto ao ar e, portanto, o exame microscópico deve ser realizado no momento em que a amostra é coletada.

Amostras Fecais

Uma grande variedade de bactérias pode causar infecções gastrointestinais. Para que estas bactérias possam ser recuperadas em cultura, amostras adequadas de evacuação espontânea devem ser coletadas (geralmente is2to não é um problema em pacientes com diarreia), transportadas para o laboratório, de uma forma que garanta a viabilidade do organismo infectante, e inoculadas em meios seletivos apropriados. *Swabs* retais não devem ser utilizados, pois diversos meios seletivos devem ser inoculados para que os múltiplos agentes patogênicos possíveis possam ser recuperados. Desta maneira, a quantidade de fezes coletada por um *swab* seria insuficiente.

A evacuação espontânea deve ser coletada em um frasco limpo e, em seguida, transferida para um recipiente hermeticamente fechado e impermeável. As amostras devem ser transportadas imediatamente para o laboratório para prevenir acidificação das fezes (causada pelo metabolismo das bactérias), que é tóxica para alguns organismos (p. ex., *Shigella*). Se um atraso no transporte está previsto, as fezes devem ser misturadas a um conservante, como o tampão fosfato contendo glicerol ou o meio de transporte Cary-Blair. Em geral, o transporte rápido das amostras para o laboratório é mais adequado que qualquer outro meio de transporte.

É importante notificar o laboratório se um patógeno entérico particular é suspeito, pois isto auxiliará na seleção do meio de cultura apropriado. Por exemplo, embora possa haver crescimento de *Vibrio* spp. em meios comuns utilizados na cultura de amostras de evacuação, o cultivo em meios seletivos para *Vibrio* facilita o rápido isolamento e identificação deste organismo. Além disso, alguns organismos não são isolados rotineiramente por procedimentos laboratoriais. Por exemplo, *Escherichia coli* enterotoxigênica pode crescer em meios de cultura rotineiros, mas não seria facilmente distinguida de uma estirpe de *E. coli* não patogênica. Do mesmo modo, não se esperaria encontrar nas fezes microrganismos em que as doenças respectivas são causadas por toxinas liberadas no alimento e não pelo crescimento do microrganismo no trato gastrintestinal (p. ex., *S. aureus, Bacillus cereus*). O microbiologista deve ser capaz de escolher o teste adequado (p. ex., cultura, detecção de toxina) se o agente patogênico específico for indicado. *Clostridium difficile* constitui uma causa significativa de doença gastrintestinal associada à antibioticoterapia. Embora esse microrganismo possa ser cultivado a partir de amostras de evacuação, quando as amostras são prontamente enviadas ao laboratório, a maneira mais específica para diagnosticar a infecção em extratos fecais é pela detecção de toxinas responsáveis pela doença produzida por *C. difficile*.

Em virtude de muitas bactérias patogênicas e não patogênicas estarem presentes em amostras fecais, são necessários pelo menos 3 dias para que o patógeno entérico seja isolado e identificado. Por esta razão, coproculturas são utilizadas para confirmar o diagnóstico clínico e a terapia, se indicada, não deve ser adiada em função do resultado da cultura.

Detecção e Identificação Bacteriana

A detecção de bactérias em amostras clínicas é realizada por cinco procedimentos gerais: (1) microscopia, (2) detecção de antígenos bacterianos, (3) detecção de ácidos nucleicos específicos de bactérias, (4) cultura e (5) detecção de uma resposta imunológica à bactéria (sorologia). As técnicas específicas utilizadas para estes procedimentos foram descritas em capítulos anteriores e não serão repetidas neste capítulo. No entanto, a Tabela 19-2 resume o valor relativo de cada procedimento para a detecção de organismos discutidos nos Capítulo 21 a 46.

Tabela 19-2 Métodos de Detecção de Bactérias

Tabela 19-2. Métodos de Detecção de Bactérias

Organismo	Métodos de Detecção				
	Microscopia	Detecção de Antígeno	Detecção de Ácidos Nucleicos	Cultura	Detecção de Anticorpos
Cocos Gram Positivos					
Staphylococcus aureus	A	B	C	A	D
Streptococcus pyogenes	B	A	A	A	B
Streptococcus agalactiae	B	B	B	A	D
Streptococcus pneumoniae	A	B	C	A	C
Enterococcus spp.	A	D	B	A	D
Bacilos Gram Positivos					
Bacillus anthracis	B	C	B	A	D
Bacillus cereus	B	D	D	B	D
Listeria monocytogenes	A	D	D	A	D
Erysipelothrix rhusiopathiae	A	D	D	A	D
Corynebacterium diphtheriae	B	D	C	A	D
Outras espécies de *Corynebacterium*	A	D	D	A	D
Tropheryma whippelii	B	D	A	D	D
Bacilos Álcool-Ácido Resistentes ou Parcialmente Resistentes					
Nocardia spp.	A	D	D	A	D
Rhodococcus equi	A	D	D	A	D
Mycobacterium tuberculosis	A	B	B	A	C
Mycobacterium leprae	B	D	D	D	B
Outras espécies de *Mycobacterium*	A	D	B	A	D
Cocos Gram Negativos					
Neisseria gonorrhoeae	A	D	A	A	D
Neisseria meningitidis	A	B	D	A	D
Moraxella catarrhalis	A	D	D	A	D
Bacilos Gram Negativos					
Escherichia coli	A	B	C	A	D
Salmonella spp.	B	D	D	A	B
Shigella spp.	B	D	D	A	D
Yersinia pestis	B	C	B	A	C
Yersinia enterocolitica	B	D	D	A	B
Outros gêneros de *Enterobacteriaceae*	A	D	D	A	D
Vibrio cholerae	B	D	D	A	D

(Continua)

Tabela 19-2. Métodos de Detecção de Bactérias – *Continuação*

Organismo	Métodos de Detecção				
	Microscopia	Detecção de Antígeno	Detecção de Ácidos Nucleicos	Cultura	Detecção de Anticorpos
Outras espécies de *Vibrio*	B	D	D	A	D
Aeromonas spp.	B	D	D	A	D
Campylobaceter spp.	B	A	D	A	D
Helicobacter pylori	B	A	C	B	A
Pseudomonas aeruginosa	A	D	D	A	D
Burkholderia spp.	A	D	D	A	D
Acinetobacter spp.	A	D	D	A	D
Haemophilus influenzae	A	B	C	A	D
Haemophilus ducreyi	B	D	C	A	D
Bordetella pertussis	B	C	A	B	A
Brucella spp.	B	C	D	A	B
Francisella tularensis	B	C	D	A	B
Legionella spp.	B	A	B	A	B
Bartonella spp.	C	D	B	A	A
Anaeróbios					
Clostridium perfringens	A	D	D	A	D
Clostridium tetani	B	D	D	A	D
Clostridium botulinum	B	A	D	B	D
Clostridium difficile	B	A	B	B	D
Cocos Gram positivos anaeróbios	A	D	D	A	D
Bacilos Gram positivos anaeróbios	A	D	D	A	D
Bacilos Gram negativos anaeróbios	A	D	D	A	D
Bactérias Espiraladas					
Treponema pallidum	B	D	D	D	A
Borrelia burgdorferi	C	D	A	B	A
Outras espécies de *Borrelia*	A	D	D	B	D
Leptospira spp.	B	D	D	B	A
Micoplasma e Bactérias Intracelulares Obrigatórias					
Mycoplasma pneumoniae	D	C	A	B	A
Rickettsia spp.	B	D	C	D	A
Orientia spp.	B	C	C	C	A
Ehrlichia spp.	B	C	C	C	A

(*Continua*)

Tabela 19-2. Métodos de Detecção de Bactérias – *Continuação*

Organismo	Métodos de Detecção				
	Microscopia	Detecção de Antígeno	Detecção de Ácidos Nucleicos	Cultura	Detecção de Anticorpos
Anaplasma spp.	B	C	C	C	A
Coxiella burnetii	C	C	C	C	A
Chlamydia trachomatis	B	B	A	B	D
Chlamydophila pneumoniae	D	D	B	C	B
Chlamydophila psittaci	D	D	B	D	A

A: teste utilizado normalmente para o diagnóstico; B: teste utilizado em certas circunstâncias ou para o diagnóstico de formas específicas de doença; C: teste normalmente não utilizado em laboratórios de diagnóstico ou utilizado apenas em laboratórios de referência; D: teste geralmente não utilizado.

Embora muitos organismos específicos possam ser identificados por uma variedade de técnicas, o procedimento mais comum utilizado em laboratórios de diagnóstico consiste em identificar um organismo isolado em cultura por testes bioquímicos. Acreditamos que a maioria dos alunos usuários deste livro-texto não está interessada nos detalhes da identificação bioquímica. Aqueles que estiverem interessados devem consultar livros como o *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* e o *Manual of Clinical Microbiology*, publicados pela Sociedade Americana de Microbiologia (ASM). É importante que todos os estudantes compreendam que a terapia antimicrobiana empírica pode ser refinada, baseando-se na identificação preliminar de um organismo, pelas morfologias microscópicas e macroscópicas e por testes bioquímicos rápidos selecionados. Consulte a Tabela 19-3 para ver exemplos específicos.

Tabela 19-3 Identificação Preliminar de Bactérias Isoladas em Culturas – Continuação

Organismo	Propriedades
Staphylococcus aureus	Cocos Gram positivos agrupados; grandes, colônias β-hemolíticas; catalase positiva, coagulase positiva
Streptococcus pyogenes	Cocos Gram positivos em cadeias longas; colônias pequenas com uma grande zona de β hemolise; catalase negativa, PYR positivo (L-pirrolidonil arilamidase)
Streptococcus pneumoniae	Cocos Gram positivos em pares e cadeias curtas, colônias pequenas e α-hemolíticas; catalase negativa, solúvel em bile
Enterococcus spp.	Cocos Gram positivos em pares e cadeias curtas; colônias grande, α- ou não hemolíticas; catalase negativa, PYR positivo
Listeria monocytogenes	Bacilos Gram positivos pequenos; colônias pequenas e fracamente β-hemolíticas; motilidade característica (oscilação)
Nocardia spp.	Cora-se fracamente (Gram e álcool-ácido modificado), bacilos delgados, filamentosos e com ramificação; crescimento lento; colônias felpudas (hifas aéreas)
Rhodococcus equi	Cora-se fracamente (Gram e álcool-ácido modificado); inicialmente bacilos não ramificados, cocos em culturas velhas; crescimento lento; colônias rosa avermelhadas
Mycobacterium tuberculosis	Bacilos que se coram fortemente por coloração de resistência ao álcool-ácido modificado; crescimento lento; colônias não pigmentadas; identificação por sondas moleculares específicas
Enterobacteriaceae	Bacilos Gram negativos com coloração “bipolar” (mais intensa nas extremidades); tipicamente células isoladas; colônias grandes; crescimento em agar MacConkey (pode ou não fermentar lactose); oxidase negativa
Pseudomonas aeruginosa	Bacilos Gram negativos com coloração uniforme, tipicamente em pares; colônias grandes, espalhadas, com pigmentação verde, geralmente β-hemolíticas, odor frutado (semelhante à uva); crescimento em agar MacConkey (não fermentador); oxidase positiva
Stenotrophomonas maltophilia	Bacilos Gram negativos com coloração uniforme, normalmente em pares; coloração lavanda/verde sobre agar sangue; crescimento em agar MacConkey (não fermentador); oxidase negativa
Acinetobacter spp.	Cocobacilos Gram negativos grandes isolados ou em pares; retêm cristal violeta e pode assemelhar-se a cocos Gram positivos grandes, em pares; crescimento em agar sangue e agar MacConkey (podem oxidar lactose e aparecer na cor violeta fraca); oxidase negativa
Campylobacter spp.	Bacilos Gram negativos delgados e curvos dispostos em pares (pares em forma de S), crescimento em meios altamente seletivos para *Campylobacter*; nenhum crescimento em meios de rotina (agar sangue, chocolate, ou MacConkey)
Haemophilus spp.	Cocobacilos Gram negativos pequenos, células isoladas; crescem em agar chocolate, mas não em agar sangue ou MacConkey; oxidase positiva
Brucella spp.	Cocobacilos Gram negativos muito pequenos, células isoladas, crescimento lento e não crescem em agar MacConkey; risco biológico
Francisella spp.	Cocobacilos Gram negativos muito pequenos, células isoladas, crescimento lento, não crescem em agar sangue ou MacConkey; risco biológico

Legionella spp.	Bacilos Gram negativos, delgados, coram-se fracamente; crescimento lento, crescimento em agar específico para este patógeno; não crescem em agar sangue, chocolate ou MacConkey
Clostridium perfringens	Bacilos retangulares grandes, com esporos não observados; crescimento rápido de colônias com uma “dupla zona” de hemólise (grande zona de α-hemólise com uma zona interior de β-hemólise); anaeróbio estrito
Grupo *Bacteroides fragilis*	Bacilos Gram negativos, coram-se fracamente, pleomórficos (comprimento variável); crescimento rápido estimulado pelo acréscimo de bile ao meio; anaeróbios estritos

Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana

Os resultados do teste de suscetibilidade antimicrobiana *in vitro* são valiosos para selecionar agentes quimioterápicos ativos contra o organismo infectante. Trabalho extensivo tem sido realizado visando padronizar os métodos de ensaios clínicos e otimizar o valor preditivo dos resultados. Apesar destes esforços, ensaios *in vitro* são simplesmente uma medida do efeito do agente antimicrobiano contra o organismo, realizados sob condições específicas. A seleção do agente e o resultado do tratamento no paciente são influenciados por uma variedade de fatores relacionados entre si, incluindo as propriedades farmacocinéticas e a toxicidade do fármaco, a doença clínica e o estado geral do paciente. Assim, alguns organismos que são "sensíveis" a um antibiótico, por exemplo, persistirão em uma infecção e alguns organismos que são "resistentes" a um antibiótico, poderão ser eliminados. Por exemplo, a necessidade da presença de oxigênio para que os aminoglicosídeos sejam internalizados em uma célula bacteriana faz com que esses antibióticos sejam ineficazes para o tratamento de um abscesso causado por um anaeróbio. Do mesmo modo, concentrações muito elevadas de antibióticos podem ser encontradas na urina. Assim, bactérias responsáveis por infecções do trato urinário e resistentes a determinados antibióticos podem ser eliminadas por meio de altas concentrações destes antibióticos na urina.

Duas formas gerais de testes de suscetibilidade antimicrobiana são realizadas no laboratório clínico: **testes de diluição em caldo** e **testes de agar-difusão**. Para testes de diluição em caldo, diluições seriadas de um antibiótico são adicionadas a um meio líquido nutritivo e, em seguida, são inoculadas com uma concentração padronizada da bactéria a ser testada. Após a incubação por uma noite, a menor concentração do antibiótico, que é capaz de inibir o crescimento da bactéria é referida como **concentração inibitória mínima (CIM)**. Para testes de agar-difusão, uma concentração padronizada das bactérias é semeada sobre a superfície de um meio sólido e, em seguida, discos ou fitas de papéis impregnados com fármacos antimicrobianos são colocados sobre a superfície do meio agar. Após incubação por uma noite, uma zona de inibição do crescimento é observada em torno dos discos ou fitas de papel. O tamanho da área de inibição corresponde à atividade do fármaco — quanto mais suscetível ao agente antimicrobiano o organismo for, maior será a área de inibição do crescimento. Padronizando as condições dos testes de difusão em agar, a zona de inibição poderá corresponder ao valor do CIM.

Originalmente, os testes de diluição em meio eram realizados em tubos de ensaio e eram extremamente trabalhosos. Atualmente, sistemas comerciais estão disponíveis; diluições de antibióticos são preparadas em microplacas, sendo que a inoculação das placas e a interpretação das CIMs são automatizadas. As desvantagens destes sistemas consistem em diferentes tipos de fármacos antimicrobianos utilizados, determinados pelo fabricante e no número de diluições limitado de cada fármaco. Dessa forma, tais sistemas podem muitas vezes não conter os antibióticos ou outros agentes antimicrobianos recém-disponibilizados no mercado. Testes de difusão são trabalhosos, e a interpretação da zona de inibição pode ser subjetiva, porém, a vantagem desses testes é que na prática todos os antibióticos podem ser testados. A capacidade de ambos os métodos de suscetibilidade em predizer a resposta clínica a um antibiótico é equivalente, por isso, a seleção do teste deve ser determinada por considerações práticas.

Questões

1. Qual é o fator mais importante que influencia o isolamento de microrganismos do sangue coletado de pacientes com sepse?

1. O sucesso em obter uma hemocultura positiva de um paciente com bacteremia ou fungemia é diretamente relacionado ao volume de sangue processado. A maioria dos pacientes clinicamente sépticos possui menos de um organismo por mL de sangue. A

recomendação para garantir uma ótima recuperação de organismos é coletar 20 mL de sangue de um paciente adulto para cada hemocultura e volumes proporcionalmente menores para crianças e neonatos. Duas a três hemoculturas devem ser coletadas num período de 24 horas.

2. Quais organismos são importantes causas de faringite bacteriana?

2. Streptococcus pyogenes (*Streptococcus* do grupo A) é a causa mais comum de faringite bacteriana. Outras bactérias que podem causar faringites incluem *Streptococcus dysgalactiae* (*Streptococcus* grupo C ou G), *Arcanobacterium haemolyticum, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydophila pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae. Corynebacterium diphtheriae* e *Bordetella pertussis* também podem causar faringite, mas não são comumente isoladas nos Estados Unidos.

3. Que critérios devem ser utilizados para avaliar a qualidade de uma amostra do trato respiratório inferior?

3. Organismos que causam infecções do trato respiratório inferior (exemplos: pneumonia, bronquite, abscesso pulmonar) são frequentemente originados do trato respiratório superior. A amostra apropriada para o diagnóstico de infecções do trato respiratório inferior deve ser livre de contaminação do trato respiratório superior. Estas características podem ser acessadas no laboratório clínico pela avaliação da amostra clínica quanto à presença de células epiteliais escamosas. Amostras contendo muitas células epiteliais escamosas e nenhuma bactéria predominante em associação com leucócitos não devem ser processadas para cultura.

4. Que métodos são utilizados para detectar as três bactérias mais comuns causadoras de doenças sexualmente transmissíveis?

4. Atualmente, os testes de amplificação de ácidos nucleicos são usados para detectar *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydophila trachomatis* em espécimes clínicas. Uma variedade de sistemas comerciais vem sendo desenvolvida com este propósito. Estes métodos são mais sensíveis que as técnicas convencionais de cultura. A sífilis, causada por *Treponema pallidum*, é mais comumente diagnosticada por métodos sorológicos. A microscopia de campo escuro também pode ser realizada, mas poucos laboratórios possuem experiência suficiente para utilizar esta técnica. O organismo é muito fino para ser observado pelo método de coloração de Gram.

Bibliografia

Forbes B, et al. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 12th ed., St Louis: Mosby, 2007.

Mandell G, Bennett J, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., New York: Churchill Livingstone, 2005.

Murray P, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

20 Agentes Antibacterianos

Este capítulo fornece uma visão geral dos mecanismos de ação e espectro dos antibacterianos mais comumente utilizados, assim como uma descrição dos mecanismos comuns de resistência bacteriana. A terminologia apropriada para a discussão é sumarizada no Quadro 20-1 e os mecanismos básicos, como os sítios de atividade dos antibióticos, estão sumarizados na Tabela 20-1 e Figura 20-1, respectivamente.

Quadro 20-1 Terminologia

Espectro antibacteriano

Extensão da atividade de um antimicrobiano contra bactérias. Um fármaco antibacteriano de **amplo espectro** pode inibir uma variedade de bactérias Gram positivas e Gram negativas, entretanto um fármaco com um **espectro menor** é ativo somente contra uma variedade limitada de bactérias.

Atividade bacteriostática

Nível de atividade antimicrobiana que **inibe** o crescimento de um organismo. Esta é determinada *in vitro* testando concentrações padronizadas de organismos contra uma série de diluições. A concentração mais baixa que inibe o crescimento do organismo é denominada **concentração inibitória mínima (CIM)**

Atividade bactericida

Nível da atividade antibacteriana que mata o organismo testado. Esta é determinada *in vitro* testando concentrações padronizadas de organismos contra uma série de diluições. A concentração mais baixa que mata 99,9% da população é denominada **concentração bactericida mínima (CBM)**

Combinações de antibióticos

Combinações de antibióticos que podem ser utilizadas para (1) aumentar o espectro antibacteriano para a terapia empírica ou para o tratamento de infecções polimicrobianas, (2) previnir o aparecimento de organismos resistentes durante o tratamento, e (3) atingir um efeito letal sinérgico.

Sinergismo de antibióticos

Combinações de dois antibióticos que produzem juntos uma intensificada atividade bactericida quando comparada com a atividade de cada antibiótico separado.

Antagonismo de antibiótico

Combinações de antibióticos na qual a atividade de um antibiótico interfere com a atividade do outro (p. ex., a soma das atividades é menor do que a atividade do fármaco mais ativo, quando usada individualmente).

β-Lactamase

Enzima que hidrolisa o anel β-lactâmico presente na classe de antibióticos β-lactâmicos, inativando o antibiótico. As enzimas específicas para penicilinas, cefalosporinas e carbapenemas são as **penicilinases, cefalosporinases** e **carbapenemases** (metalo- β-lactamases), respectivamente.

Tabela 20-1 Mecanismos Básicos de Ação de Antibióticos

Antibiótico	Ação
Ruptura da Parede Celular	
Penicilinas Cefalosporinas Cefamicinas Carbapenens Monobactâmicos	Ligam-se às PBPs e às enzimas responsáveis pela síntese do peptidoglicano
β-lactâmico/inibidores da β-lactamase	Ligam-se às β-lactamases e impedem a inativação enzimática do β-lactâmico
Vancomicina	Inibe as ligações cruzadas das camadas do peptidoglicano
Daptomicina	Causa a despolarização da membrana citoplasmática, resultando na ruptura dos gradientes de concentração iônica
Bacitracina	Inibe a membrana citoplasmática bacteriana e o movimento de precursores do peptidoglicano
Polimixinas	Inibe as membranas bacterianas
Isoniazida Etionamida	Inibem a síntese de ácidos micólicos
Etambutol	Inibe a síntese de arabinogalactana
Cicloserina	Inibe as ligações cruzadas das camadas do peptidoglicano
Inibidores da Síntese Proteica	
Aminoglicosídeos	Produzem a liberação prematura de cadeias aberrantes de peptídeos, na região 30S do ribossomo
Tetraciclinas	Inibem a extensão de polipeptídeo na região 30S do ribossomo
Glicilciclinas	Ligam-se à região 30S do ribossomo e inibem a iniciação da síntese proteica
Oxazolidinona	Inibe a iniciação da síntese proteica na região 50S do ribossomo
Macrolídeos Cetolídeos	

Cetolídeos Clindamicina Estreptograminas	Inibem a extensão do polipeptídeo na região 50S do ribossomo
Inibição da Síntese de Ácido Nucleico	
Quinolonas	Ligam-se à subunidade α da DNA girase
Rifampicina Rifabutina	Inibe a transcrição se ligando à RNA-polimerase DNA-dependente
Metronidazol	Rompe o DNA bacteriano (é um composto citotóxico)
Antimetabólitos	
Sulfonamidas	Inibem a di-hidropteroato sintetase e interrompem a síntese de ácido fólico
Dapsona	Inibe a di-hidropteroato sintetase
Trimetoprim	Inibe a di-hidrofolato redutase e interrompe a síntese de ácido fólico

DNA, ácido desoxirribonucleico; PBPs, proteínas ligadoras de penicilina; RNA, ácido ribonucleico.

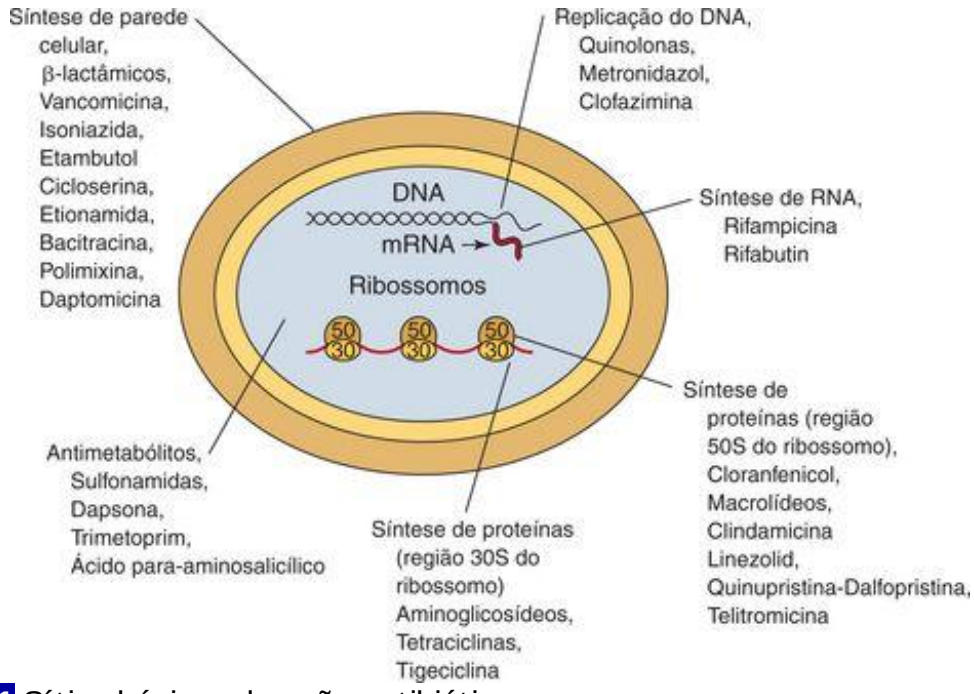


Figura 20-1 Sítios básicos da ação antibiótica.

O ano de 1935 foi especialmente importante para a quimioterapia das infecções bacterianas sistêmicas. Embora os antissépticos fossem aplicados topicamente para prevenção do crescimento de microrganismos, os antissépticos existentes eram ineficazes contra as infecções bacterianas sistêmicas. Em 1935, demonstrou-se que o corante protosil era capaz de proteger camundongos contra infecções estreptocócicas sistêmicas e que permitia a cura de pacientes que sofriam de tais infecções. Logo se descobriu que o protosil era rompido no organismo para liberar *p*-aminobenzeno sulfonamina (sulfanilamida), que demonstrou apresentar atividade antibacteriana. O primeiro fármaco "sulfa" introduziu-nos em

uma nova era na medicina. Os compostos produzidos por microrganismos (antibióticos) foram casualmente reconhecidos como capazes de inibir o crescimento de outros microrganismos. Alexander Fleming, por exemplo, foi o primeiro a conceber que o fungo *Penicillium* prevenia a multiplicação de *Staphylococcus*. Foi preparado um concentrado de uma cultura deste fungo e pode se demonstrar a notável atividade antimicrobiana e a ausência de toxicidade do primeiro antibiótico, a penicilina. A estreptomicina e as tetraciclinas foram desenvolvidas nos anos de 1940 e 1950, seguidas do desenvolvimento de aminoglicosídeos adicionais, penicilinas semissintéticas, cefalosporinas, quinolonas e outros antimicrobianos. Todos esses agentes antibacterianos aumentaram muito o espectro de doenças infecciosas passíveis de prevenção e de cura. Embora o desenvolvimento tenha sido retardado nos anos recentes, algumas novas classes de agentes têm sido introduzidas, incluindo-se os ketolídeos (p. ex., **telitromicina**), glicilciclinas (**tigeciclina**), lipopeptídeos (**daptomicina**), estreptograminas (**quinupristina-dalfopristina**) e oxazolidinonas (**linezolid**).

Infelizmente, com a introdução de novos agentes terapêuticos, as bactérias têm mostrado uma notável capacidade de desenvolver resistência. Desta forma, a terapia antibiótica não será a cura mágica de todas as infecções, como se pensava; mais propriamente, é somente uma arma, ainda que importante, contra as doenças infecciosas. É também importante reconhecer que pela resistência aos antibióticos ser frequentemente imprevisível, os médicos devem se valer das suas experiências clínicas para a seleção inicial d a **terapia empírica**. Diretrizes para a conduta nas infecções causadas por organismos específicos são discutidas em capítulos relevantes desse texto.

Inibição da Síntese de Parede Bacteriana

O mais importante mecanismo de atividade dos antibióticos é a interferência com a síntese da parede celular bacteriana. A maioria dos antibióticos ativos em paredes celulares é classificada como antibióticos β-lactâmicos (p. ex., penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenens, monobactâmicos, inibidores de β-lactamases), são assim chamados porque compartilham uma estrutura de anel β-lactâmico. Outros antibióticos podem interferir com a construção da parede celular bacteriana, incluindo vancomicina, daptomicina, bacitracina e os seguintes agentes antimicobacterianos: isoniazida, etambutol, cicloserina e etionamida.

Antibióticos β-lactâmicos

O principal componente estrutural da maioria das paredes celulares é a camada de peptidoglicano. A estrutura básica é uma cadeia de 10 a 65 resíduos de dissacarídeos constituído de moléculas alternantes de *N*-acetilglicosamina e de ácido *N*-acetilmurânico. Estas cadeias são ligadas por pontes de peptídeos que criam uma cobertura rígida para as bactérias. A construção das cadeias e as ligações cruzadas são catalisadas por enzimas específicas (p. ex., transpeptidases, transglicosilases, carboxipeptidases), que são membros de uma grande família das **proteases serinas**. Estas enzimas regulatórias são também chamadas de **proteínas ligadoras de penicilina (PBPs)**, porque são os alvos de antibióticos β-lactâmicos. Quando as bactérias em crescimento são expostas a estes antibióticos, o antibiótico se liga às PBPs específicas na parede celular bacteriana e inibe a montagem das cadeias de peptidoglicano. Isso, por sua vez, ativa as autolosinas que degradam a parede celular resultando na morte da célula bacteriana. Desta forma, os antibióticos β-lactâmicos atuam como agentes bactericidas.

As bactérias podem se tornar resistentes aos antibióticos β-lactâmicos por três mecanismos gerais: (1) impedimento da interação entre o antibiótico e a PBP-alvo; (2) modificação da ligação do antibiótico com a PBP; e (3) hidrólise do antibiótico por β-lactamases. O primeiro mecanismo de resistência é encontrado somente em bactérias Gram negativas (particularmente em espécies de *Pseudomonas*), porque estas possuem uma membrana externa que se sobrepõe ao peptidoglicano. A penetração dos antibióticos β-lactâmicos nos bacilos Gram negativos exige a passagem através de poros da membrana externa. Alterações nas proteínas (**porinas**) que formam as paredes dos poros podem alterar o tamanho ou a carga desses canais e resultar na exclusão do antibiótico.

A resistência pode também ser adquirida pela modificação da ligação do antibiótico β-lactâmico à PBP. Isto pode ser mediado por (1) superprodução de PBP (uma ocorrência rara), (2) aquisição de nova PBP (p. ex., a resistência à meticilina em *Staphylococcus aureus*), ou (3) modificação de uma PBP existente por recombinação (p. ex., resistência à penicilina em *Streptococcus pneumoniae*) ou uma mutação pontual (resistência à penicilina em *Enterococcus faecium*).

Finalmente, as bactérias podem produzir **β-lactamases** que inativam os antibióticos β-lactâmicos. É interessante que as β-lactamases estão na mesma família das proteases serinas, como as PBPs. Mais de 200 β-lactamases diferentes foram descritas. Algumas são específicas para penicilinas (penicilinases), cefalosporinas (cefalosporinases) ou carbapenens (carbapenemases). Outras possuem um amplo espectro de atividade, incluindo algumas que são capazes de inativar a maioria dos antibióticos β-lactâmicos. Uma ampla discussão sobre as β-lactamases está além da finalidade deste capítulo; entretanto, uma breve discussão é pertinente para a compreensão das limitações dos antibióticos β-lactâmicos. Seguindo um dos esquemas de classificação, as β-lactamases podem ser separadas em quatro classes (A até D). A classe mais comum das β-lactamases é a classe A, onde estão a SHV-1 e a TEM-1, penicilinases encontradas em bacilos Gram negativos comuns (p. ex., *Escherichia, Klebsiella*), com atividade mínima sobre as cefalosporinas. Infelizmente, mutações pontuais nos genes que codificam estas enzimas criaram β-lactamases com atividade contra todas as penicilinas e cefalosporinas. Estas β-lactamases são denominadas de **β-lactamases de espectro estendido** (ESBLs) e são particularmente problemáticas, pois são codificadas em plasmídios que podem ser transferidos entre organismos. As β-lactamases da classe B são as metaloenzimas, que são dependentes de zinco e possuem amplos espectros de atividade contra antibióticos β-lactâmicos, incluindo-se as cefamicinas e os carbapenens. As **β-lactamases da classe C** são cefalosporinases codificadas no cromossomo bacteriano. A expressão dessas enzimas é geralmente reprimida, embora isto possa ser alterado pela exposição a certos antibióticos β-lactâmicos "indutores", ou ainda, por mutações nos genes que controlam a expressão das enzimas. A expressão dessa classe de β-lactamases é particularmente problemática, pois estas enzimas são ativas às mais potentes cefalosporinas de espectro ampliado. As β-lactamases da classe D são penicilinases encontradas

principalmente em bacilos Gram negativos.

Penicilinas

As penicilinas (Tab. 20-2) são antibióticos altamente eficientes, com uma toxicidade extremamente baixa. O composto básico é um ácido orgânico com um anel β-lactâmico obtido em culturas do fungo *Penicillium chrysogenum*. Se o fungo cresce em processo fermentativo, são produzidas grandes quantidades de ácido 6-aminopenicilânico (o anel β-lactâmico é fundido com um anel de tiazolidina). A modificação bioquímica desse intermediário produz derivados que possuem uma instabilidade dimuída a ácido, aumentada absorção no trato gastrointestinal, resistência à destruição por penicilinase ou um espectro de ação mais amplo que inclui bactérias Gram negativas.

Tabela 20-2 Penicilinas

Antibióticos	Espectros de Ação

Penicilinas naturais: Benzil penicilina (penicilina G), Fenoximetil penicilina (penicilina V)	Ativa contra todos os *Streptococcus* β-hemolíticos e a maioria das outras espécies; limitada atividade contra *Staphylococcus*; ativa contra meningococos e a maioria dos Gram positivos anaeróbios; pouca atividade contra bacilos Gram negativos aeróbios e anaeróbios
Penicilinas resistentes a penicilinase: Meticilina, nafcilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina	Semelhantes às penicilinas naturais, exceto pela maior atividade contra *Staphylococcus*
Penicilinas de amplo espectro: Aminopenicilinas (ampicilina, amoxacilina); carboxipenicilinas (carbenicilina, ticarcilina); ureidopenicilinas (piperacilina)	Atividade contra cocos Gram positivos equivalente à das penicilinas naturais; atividade contra alguns bacilos Gram negativos, sendo a piperacilina a mais ativa
β-lactâmico com inibidor de β-lactamase (ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulanato, ticarcilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam)	Atividade semelhante aos β-lactâmicos naturais, atividade mais intensa contra *Staphylococcus* produtores de β-lactamase e um grupo particular de bacilos Gram negativos; nem todas as β-lactamases são inibidas: piperacilina-tazobactam é a mais ativa

A penicilina G não é absorvida completamente, uma vez que é inativada pelo ácido gástrico. Por isso é utilizada principalmente como um fármaco intravenoso para o tratamento de infecções causadas por um número limitado de organismos sensíveis. A penicilina V é mais resistente ao ácido gástrico, sendo a forma oral preferida para o tratamento de bactérias sensíveis a este fármaco. As **penicilinas resistentes à penicilinase**, como a meticilina e a oxacilina, são utilzadas no tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus* sensíveis. A ampicilina foi a primeira **penicilina de amplo espectro**, embora o espectro de ação contra bacilos Gram negativos fosse limitado a *Escherichia, Proteus* e *Haemophilus*. Outras penicilinas (p. ex., carbenicilina, ticarcilina, piperacilina) são eficientes contra um espectro mais amplo de bactérias Gram negativas, incluindo espécies de *Klebsiella, Enterobacter* e *Pseudomonas*.

Penicilinas selecionadas foram combinadas com **inibidores de β-lactamase**. Os inibidores de β-lactamase (p. ex., ácido clavulânico, sulbactam, tazobactam) são relativamente inativos por si mesmos; mas quando combinados com certas penicilinas (p. ex., ampicilina, amoxacilina, ticarcilina, piperacilina), são eficientes no tratamento de algumas infecções causadas por bactérias produtoras de β-lactamase. Os inibidores se ligam irreversivelmente e inativam as β-lactamases bacterianas sensíveis (embora nem todas sejam ligadas por esses inibidores), permitindo que o fármaco associado interrompa a síntese da parede celular bacteriana.

Cefalosporinas e Cafamicinas

As cefalosporinas (Tab. 20-3) são antibióticos β-lactâmicos derivados do ácido 7-aminocefalosporânico (o anel β-lactâmico é fundido com o anel di-hidrotiazina) que foi originalmente isolado a partir do fungo *Cephalosporium*. As cefamicinas são relacionadas às cefalosporinas, exceto pelo fato de conterem oxigênio no lugar do enxofre no anel di-hidrotiazina, o que as tornam mais estáveis à hidrólise pelas β-lactamases. As cefalosporinas e cefamicinas apresentam o mesmo mecanismo de ação das penicilinas; entretanto, possuem um espectro antibacteriano mais amplo, são resistentes a várias β-lactamases e dispõem de melhores propriedades farmacocinéticas (p. ex., meia-vida mais longa).

Tabela 20-3 Exemplos Selecionados de Cefalosporinas e Cefamicinas

Antibióticos	Espectro de Ação
Pouco espectro de ação (cefalexina, cafalotina, cafazolina, cefapirina, cefradina)	Atividade equivalente à oxacilina contra bactérias Gram positivas; atividade contra algumas Gram negativas (p. ex., *Escherichia coli, Klebsiella, Proteus mirabilis*)
Cefalosporinas de espectro ampliado (cefaclor, cefuroxima)	Atividade equivalente à oxacilina contra bactérias Gram positivas; alta atividade contra Gram negativas, incluindo *Enterobacter, Citrobacter* e espécies de *Proteus*
Cefamicinas de espectro	

Cefamicinas de espectro ampliado (cefotetan, cefoxitina)	Atividade semelhante à cefalosporinas de espectro ampliado, porém, menos sensíveis às β-lactamases
Espectro ampliado (cefixima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima)	Atividade equivalente à oxacilina contra bactérias Gram positivas; intensificada atividade contra Gram negativas, incluindo *Pseudomonas*
Espectro ampliado (cefepima, cefpiroma)	Atividade equivalente à oxacilina contra bactérias Gram positivas; discreta intensificação da atividade contra Gram negativas

As modificações bioquímicas na molécula base do antibiótico resultaram no desenvolvimento de antibióticos com atividades mais intensas e com propriedades farmacocinéticas mais favoráveis. As cefalosporinas possuem atividade mais intensas contra bactérias Gram negativas quando comparadas às penicilinas. Esta atividade, por outro lado, é variável entre as várias "gerações" de cefalosporinas. A atividade de **espectro restrito** dos antibióticos de primeira geração é restrita à *Escherichia coli*, espécies de *Klebsiella, Proteus mirabilis* e cocos Gram positivos sensíveis à oxacilina. Muitos antibióticos de **espectro ampliado** de segunda geração possuem atividade adicional contra *Haemophilus influenzae, Enterobacter, Citrobacter* e espécies de *Serratia*, além de agir sobre alguns anaeróbios como *Bacteroides fragilis*. Os antibióticos de **amplo espectro** de terceira geração e os antibióticos de **espectro ampliado** de quarta geração são ativos contra a maioria das *Enterobacteriaceae* e das *Pseudomonas aeruginosa*. Os antibióticos de espectro ampliado possuem a vantagem de uma maior estabilidade frente às β-lactamases. Infelizmente, bactérias Gram negativas desenvolveram rapidamente resistência à maioria das cefalosporinas e cefamicinas (principalmente como resultado da produção de β-lactamases), o que tem comprometido significativamente a utilização de todos esses agentes.

Outros Antibióticos β-lactâmicos

Outras classes de antibióticos β-lactâmicos (Tab. 20-4) são os **carbapenens** (p. ex., imipenem, meropenem, ertapenem) e os **monobactâmicos** (p. ex., aztreonam). Os carbapenêmicos são antibióticos importantes, amplamente prescritos e na prática ativos contra todos os grupos de organismos, com poucas exceções (p. ex., foi relatada resistência a todos os *Staphylococcus* resistentes à oxacilina, algumas *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* e, a outros bacilos Gram negativos). De forma contrastante, os monobactâmicos são antibióticos de espectro restrito, ativos somente contra bactérias Gram negativas aeróbias. As bactérias anaeróbias e as bactérias Gram positivas são resistentes. A vantagem dos antibióticos de espectro restrito é que eles podem ser utilizados para tratar organismos sensíveis sem comprometer a população normal de bactérias protetoras do paciente. Apesar desta vantagem, os monobactâmicos não são amplamente empregados.

Tabela 20-4 Outros Antibióticos β-lactâmicos

Antibióticos	**Espectro de Atividade**
Carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem)	Antibióticos de amplo espectro ativos contra a maioria das bactérias Gram positivas e Gram negativas, aeróbias ou anaeróbias, exceto contra *Staphylococcus* resistentes à oxacilina, a maioria dos *Enterococcus faecium* e alguns bacilos Gram negativos (p. ex., alguns isolados de *Burkholderia, Stenotrophomonas* e alguns isolados de *Pseudomonas*)
Monobactâmicos (aztreonam)	Ativos contra alguns bacilos Gram negativos; não possuem atividade contra anaeróbios ou cocos Gram positivos

Glicopeptídeos

A **vancomicina**, originalmente obtida de *Streptomyces orientalis*, é um glicopeptídeo complexo que interrompe a síntese do peptidoglicano da parede celular em bactérias Gram positivas, em crescimento. A vancomicina interage com a terminação D-alanina-D-alanina das cadeias pentapeptídicas laterais, que interfere na formação das pontes entre as cadeias do peptidoglicano. A vancomicina é utilizada para o tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus* resistentes à oxacilina e para outras bactérias Gram positivas resistentes aos antibióticos β-lactâmicos. A vancomicina é inativa contra bactérias Gram negativas, pois a molécula é muito grande para atravessar os poros da membrana externa e alcançar o peptidoglicano, que é o seu sítio-alvo. Além disso, alguns organismos são intrinsecamente resistentes à vancomicina (p. ex., *Leuconostoc, Lactobacillus, Pediococcus* e *Erysipelothrix*) porque os pentapeptídeos terminam em D-alanina-D-lactato, que não se ligam à vancomicina. A resistência intrínseca é também encontrada em algumas espécies de enterococos que contêm terminações D-alanina-E-serina (ou seja, *Enterococcus gallinarum, Enterococcus casseliflavus*). Finalmente, algumas espécies de enterococos (principalmente *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*) adquiriram resistência à vancomicina. Os genes para esta resistência (principalmente *van*A e *van*B), que também mediam alterações na terminação do pentapeptídeo, podem ser transportados em plasmídios. Estes genes vêm comprometendo seriamente o uso da vancomicina para o tratamento de infecções enterocócicas. Mais importante ainda, o gene para resistência à vancomicina contido em um transposon de um plasmídio conjugativo de multirresistência foi transferido *in vivo* de um *E. faecalis* para um *S. aureus* multirresistente. O transposon moveu-se do plasmídio de *E. faecalis*, recombinou-se e integrou-se no plasmídio de multirresistência de *S. aureus*. Isto resultou em um plasmídio de *S. aureus* que codifica resistência a β-lactâmicos, vancomicina, aminoglicosídeos e a outros antibióticos. Um plasmídio que pode ser transferido para outros *Staphylococcus* por conjugação. Obviamente, se tal resistência se tornar amplamente disseminada, as implicações médicas serão muito graves.

Lipopeptídeos

A **daptomicina**, um lipopeptídeo cíclico de ocorrência natural produzido por *Streptomyces roseosporus*, se liga irreversivelmente à membrana citoplasmática, resultando em despolarização e interrupção dos gradientes iônicos e, por fim, a morte celular. Apresenta potente atividade contra bactérias Gram positivas, porém as bactérias Gram negativas são resistentes à daptomicina, pois o fármaco não consegue penetrar através da parede celular até a membrana citoplasmática. A daptomicina tem boa atividade contra *Staphylococcus* multirresistentes, *Streptococcus* e *Enterococcus* (incluindo cepas resistentes à vancomicina)

Polipeptídeos

A **bacitracina**, que foi isolada de *Bacillus licheniformis*, é uma mistura de polipeptídeos utilizados para aplicações tópicas (p. ex., cremes, pomadas, *sprays*), para o tratamento de infecções de pele causadas por bactérias Gram positivas (particularmente aquelas causadas por *Staphylococcus* e por *Streptococcus* do grupo A). As bactérias Gram negativas são resistentes a este agente. A bacitracina inibe a síntese da parede celular, interferindo na desfosforilação e na reciclagem do lipídeo carreador responsável pela movimentação dos precursores do peptidoglicano através da membrana citoplasmática, até a parede celular. Isto pode também lesar a membrana citoplasmática bacteriana e inibir a transcrição do ácido robonucleico (RNA). A resistência ao antibiótico é mais comumente causada pelo fracasso do antibiótico em penetrar na célula bacteriana.

As **polimixinas** são um grupo de polipeptídeos cíclicos derivados do *Bacillus polymyxa*. Estes antibióticos se inserem nas membranas bacterianas como detergentes, interagindo com os lipopolissacarídeos e os fosfolipídios na membrana externa, produzindo aumento da permeabilidade celular e, eventualmente, a morte celular. As **polimixinas B** e **E (colistina)** são capazes de causar nefrotoxicidade grave. Desta forma, seu uso tem sido limitado principalmente a infecções externas localizadas, como as otites externas, infecções oculares e infecções cutâneas causadas por organismos sensíveis. A colistina, por outro lado, é utilizada para o tratamento de algumas infecções sistêmicas causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes. A administração oral é empregada para a esterilização intestinal. Esses antibióticos são muito mais ativos contra bacilos Gram negativos, pois as bactérias Gram positivas não possuem uma membrana externa.

Isoniazida, Etionamida, Etambutol e Cicloserina

A isoniazida, etionamida, etambutol e cicloserina são antibióticos ativos na parede celular, utilizados para o tratamento de infecções por micobactérias. A **isoniazida** (hidrazida do ácido isonicotínico [INH]) é bactericida contra micobactérias em replicação. Embora, não se conheça o mecanismo exato de sua ação, sabe-se que a síntese do ácido micólico é afetada (ocorre a desnaturação de ácidos graxos de cadeias longas e a interrupção do aumento de ácidos graxos e de hidroxilipídios). A **etionamida**, um derivado do INH, também bloqueia a síntese de ácido micólico. O **etambutol** interfere com a síntese da arabinogalactana da parede celular e a **cicloserina** inibe duas enzimas, D-alanina-D-alanina sintase e alanina racemase, que catalisam a síntese da parede celular. A resistência a esses quatro antibióticos resulta principalmente da captação reduzida do fármaco para o interior da célula bacteriana ou de alterações nos sítios-alvo.

Inibição da Síntese Proteica

A principal ação dos agentes na segunda maior classe de antibióticos é a inibição da síntese proteica (Tab. 20-1).

Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos (Tab. 20-5) são antibióticos constituídos por aminoaçúcares, ligados por pontes glicosídicas a um anel aminociclitol. A estreptomocina, neomicina, kanamicina e tobramicina foram originalmente isoladas a partir de espécies de *Streptomyces* e a gentamicina e sisomicina foram isoladas a partir de espécies de *Micromonospora*. A amicacina e netilmicina são derivados sintéticos da kanamicina e da sisomicina, respectivamente. Esses antibióticos exercem suas funções atravessando a membrana externa bacteriana (nas bactérias Gram negativas), a parede celular e a membrana citoplasmática até chegarem no citoplasma, onde inibem a síntese proteica bacteriana por ligação irreversível às proteínas da região 30S do ribossomo. Esta ligação aos ribossomos produz dois efeitos: a produção de proteínas anômalas como resultado dos erros de leitura do RNA mensageiro (RNAm) e a interrupção da síntese proteica por conta do ribossomo liberar prematuramente o RNAm.

Tabela 20-5 Inibidores da Síntese Proteica

Antibióticos	**Espectro de Atividade**
Aminoglicosídeos (estreptomicina, kanamicina, gentamicina, tobramicina, amicacina)	Utilizados principalmente no tratamento de infecções por bacilos Gram negativos; kanamicina com limitada atividade; tobramicina um pouco mais ativa do que a gentamicina contra *Pseudomonas*; amicacina mais ativa; estreptomicina e gentamicina combinadas com antibiótico ativo na parede celular para o tratamento de infecções por enterococos; estreptomicina ativa contra micobactérias e alguns bacilos Gram negativos
Aminociclitol (espectinomicina)	Ativa contra *Neisseria gonorrhoeae*
Tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina, minociclina)	Antibióticos de amplo espectro ativos contra bactérias Gram positivas e Gram negativas (*Neisseria*, algumas *Enterobacteriaceae*), *Mycoplasma, Chlamydia*e e *Rickettsiae*
Glicilciclinas (tigeciclina)	Espectro de ação similar às tetraciclinas, porém com maior atividade contra bactérias Gram negativas e micobactérias de crescimento rápido
Oxazolidinona (linezolida)	Ativas contra *Staphylococcus* (incluindo os resistentes à meticilina e cepas com resistência intermediária à vancomicina), *Enterococcus, Streptococcus*, bacilos Gram positivos, *Clostridium* e cocos anaeróbios; não são ativos contra bactérias Gram negativas

Macrolídeos (eritromicina, azitromicina, claritromicina)	Antibióticos de amplo espectro contra bactérias Gram positivas e algumas Gram negativas, *Neisseria, Legionella, Mycoplasma, Chlamydia, Chlamydophila, Treponema* e *Rickettsia*; claritromicina e azitromicina são ativas contra algumas micobactérias
Cetolídeos (telitromicina)	Antibiótico de amplo espectro com atividade similar aos macrolídeos; ativo contra alguns estafilococos e estreptococos resistentes a macrolídeos
Lincosamida (clindamicina)	Atividade de amplo espectro contra cocos Gram positivos e anaeróbios
Estreptograminas (quinupristina-dalfopristina)	Ativos principalmente contra bactérias Gram positivas; boa atividade tanto contra os estafilococos sensíveis à meticilina, quanto aos resistentes à meticilina, estreptococos; *Enterococcus faecium* sensíveis ou resistentes à vancomicina (não são ativos contra *E. faecalis*); *Haemophilus, Moraxella* e anaeróbios (incluindo *Bacteroides fragilis*); não são ativos contra *Enterobacteriaceae* ou outros bacilos Gram negativos

Os aminoglicosídeos são bactericidas pela capacidade de ligarem-se irreversivelmente aos ribossomos. São comumente utilizados para o tratamento de infecções graves causadas por vários bacilos Gram negativos (p. ex., *Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Acinetobacter*) e alguns organismos Gram positivos. A penetração através da membrana citoplasmática é um processo aeróbio dependente de energia. Desta forma, os anaeróbios são resistentes aos aminoglicosídeos e os organismos sensíveis, quando estão em ambientes anaeróbicos (p. ex., abscessos) não respondem bem ao tratamento. Estreptococos e enterococos são resistentes aos aminoglicosídeos, pois os aminoglicosídeos não conseguem penetrar nas paredes celulares dessas bactérias. O tratamento desses organismos exige a coadministração de um aminoglicosídeo com um inibidor de síntese de parede celular (p. ex., penicilina, ampicilina, vancomicina) que facilitam a penetração do aminoglicosídeo.

Os antibióticos mais comumente utilizados nessa classe são **amicacina, gentamicina** e **tobramicina**. Todos os três antibióticos são utilizados no tratamento de infecções sistêmicas causadas por bactérias Gram negativas sensíveis. A **amicacina** tem a melhor atividade e é frequentemente reservada para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram negativas que são resistentes à gentamicina e à tobramicina. A **estreptomicina** não é facilmente disponível, mas tem sido utilizada no tratamento da tuberculose, tularemia e infecções causadas por *Streptococcus* ou *Enterococcus* resistentes à gentamicina (em combinação com a penicilina).

A resistência à ação antibacteriana dos aminoglicosídeos pode se desenvolver por uma das quatro formas seguintes: (1) mutação no sítio de ligação do ribossomo, (2) redução da entrada de antibiótico na célula, (3) aumento na eliminação do antibiótico de dentro da célula, e (4) modificação enzimática do antibiótico. O mecanismo de resistência mais comum é o de modificação enzimática de aminoglicosídeos. Esta é realizada pela ação de fosfotransferases (APHs; sete descritas), adeniltransferases (ANTs; quatro descritas) e acetiltransferases (AACs; quatro descritas), nos grupos amino e hidroxila do antibiótico. As diferenças na atividade antibacteriana dos aminoglicosídeos são determinadas por suas relativas sensibilidades a essas enzimas. Os outros mecanismos pelo qual as bactérias desenvolvem resistência aos aminoglicosídeos são relativamente raros e exigem mutações sistemáticas das múltiplas cópias dos genes ribossômicos, que existem na célula bacteriana. A resistência causada pela inibição do transporte do antibiótico para dentro da célula bacteriana é ocasionalmente observada em *Pseudomonas*, porém é mais comum em bactérias anaeróbias. Este mecanismo produz baixo nível de resistência cruzada a todos os aminoglicosídeos. O efluxo ativo de aminoglicosídeos ocorre somente em bactérias Gram negativas e é raramente observado.

Tetraciclina

As tetraciclinas (Tab. 20-5) são antibióticos bacteriostáticos de amplo espectro que inibem a síntese proteica em bactérias pela ligação reversível à unidade 30S do ribossomo, bloqueando desta forma a ligação do aminoacil-RNA de transferência (RNAt) ao complexo ribossômico 30S-mRNA. As tetraciclinas (ou seja, **tetraciclina, doxiciclina, minociclina**) são eficientes no tratamento de infecções causadas por espécies de *Chlamydia, Mycoplasma* e *Rickettsia* e por outras bactérias Gram positivas e Gram negativas. Todas as tetraciclinas têm espectros de atividade similares, sendo as propriedades farmacocinéticas as principais diferenças entre esses antibióticos (doxiciclina e minociclina são bem absorvidas e possuem longas meia-vidas).

A resistência às tetraciclinas pode ocorrer pela diminuição da penetração do antibiótico para o interior da célula bacteriana, pelo efluxo ativo do antibiótico para fora da célula, por alteração de sítio-alvo no ribossomo ou por modificação enzimática do antibiótico. Mutações no gene cromossomal que codificam a proteína porina da membrana externa, OmpF, podem levar à resistência em nível baixo às tetraciclinas, como a outros antibióticos (p. ex., β-lactâmicos, quinolonas, cloranfenicol).

Pesquisadores identificaram uma variedade de genes que controlam o efluxo ativo celular das tetraciclinas em diferentes bactérias. Esta é a causa mais comum de resistência. A resistência às tetraciclinas pode resultar também da produção de proteínas semelhantes a fatores de extensão que protegem a região 30S do ribossomo. Quando isto acontece, o antibiótico ainda pode ligar-se ao ribossomo, mas a síntese de proteína não é interrompida.

Glicilciclinas

A **tigeciclina**, o primeiro representante dessa classe de antibióticos, é um derivado semissintético da minociclina. Inibe a síntese de proteínas da mesma forma que as tetraciclinas. A tigeciclina tem uma alta afinidade de ligação ao ribossomo e é menos afetada pelo efluxo e pela modificação enzimática. Tem um amplo espectro de atividade contra bactérias Gram positivas, Gram negativas e bactérias anaeróbias, embora *Proteus, Morganella, Providencia* e *Pseudomonas aeruginosa* sejam geralmente resistentes a este fármaco.

Oxazolidinonas

As oxazolidinonas são uma classe de antibióticos de espectro de ação restrito, sendo a linezolida o agente de utilização atual. **Linezolida** bloqueia a iniciação da síntese proteica, interferindo na formação do complexo de iniciação constituído por RNAt, RNAm e ribossomo. O fármaco se liga à subunidade 50S do ribossomo, que distorce o sítio de ligação do RNAt, inibindo desta forma a formação do complexo de iniciação 70S. Por causa deste mecanismo único, não ocorre resistência cruzada com outros inibidores da síntese de proteínas. Linezolida apresenta atividade contra todos os estafilococos, estreptococos e enterococos (incluindo cepas resistentes a penicilinas, vancomicina e aminoglicosídeos). Linezolida é geralmente reservada para o tratamento de infecções causadas por enterococos multirresistentes.

Cloranfenicol

Cloranfenicol tem um amplo espectro antibacteriano, similar ao da tetraciclina, porém não é utilizado comumente nos Estados Unidos. A razão para este uso limitado é porque além de interferir na síntese proteica bacteriana, pode interromper a síntese proteica nas células da medula óssea humana e podem produzir discrasias sanguíneas como a anemia aplástica (um a cada 24.000 pacientes tratados). O cloranfenicol exerce seu efeito bacteriostático ligando-se de forma reversível ao componente peptidil transferase da subunidade 50S do ribossomo, bloqueando desta forma a extensão do peptídeo. A resistência ao cloranfenicol é observada em bactérias que produzem a acetiltransferase, codificadas em plasmídios e que catalisam a acetilação do grupo 3-hidroxi do cloranfenicol. O produto é incapaz de se ligar à subunidade 50S. A ocorrência de mutações que alteram as proteínas porinas da membrana externa, causando a menor permeabilidade ao fármaco em bacilos Gram negativos não é tão comum.

Macrolídeos

A **eritromicina**, derivada do *Streptomyces erythreus*, é o modelo de antibiótico da classe dos macrolídeos (Tab. 20-5). A estrutura básica dessa classe de antibióticos é um anel lactona macrocíclico ligado a dois açúcares, desosamina e cladinose. A modificação da estrutura do macrolídeo levou ao desenvolvimento da **azitromicina** e da **claritromicina**. Os macrolídeos exercem suas funções pela ligação reversível à região 23S do RNA ribossomal, bloqueando a extensão do polipeptídio. A resistência aos macrolídeos comumente ocorre pela metilação da região 23S do RNA ribossomal, impedindo a sua ligação com o antibiótico. Outros mecanismos de resistência incluem a inativação de macrolídeos por enzimas (p. ex., esterases, fosforilases, glicosidases) ou por mutações na região 23S do RNAr e nas proteínas do ribossomo. Os macrolídeos são antibióticos bacteriostáticos com amplo espectro de atividade. Têm sido utilizados no tratamento de infecções pulmonares causadas por *Mycoplasma, Legionella* e *Chlamydia*, como para tratar infecções causadas por espécies de *Campylobacter* e por bactérias Gram positivas em pacientes alérgicos à penicilina. A maioria das bactérias Gram negativas é resistente aos macrolídeos. A azitromicina e a claritromicina também vêm sendo utilizadas para o tratamento de infecções causadas por micobactérias (p. ex., complexo *Mycobacterium avium*).

Cetolídeos

Os cetolídeos são derivados semissintéticos da eritromicina, modificada para aumentar a estabilidade em meio ácido. A **telitromicina** é atualmente o único cetolídeo disponível para uso nos Estados Unidos. Como os macrolídeos, a telitromicina se liga à subunidade 50S do ribossomo e bloqueia a síntese proteica. As mutações na região 23S do RNAr e nas proteínas do ribossomo podem levar à resistência. A telitromicina apresenta boa atividade contra *Staphylococcus* (exceto para as cepas que possuem resistência constitutiva para a eritromicina), *Streptococccus pneumoniae*, outros patógenos respiratórios (p. ex., *Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis*), bacilos Gram positivos e alguns anaeróbios. Não é ativa contra *Bacteroides fragilis* e a maioria dos bacilos Gram negativos aeróbios (p. ex., *Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Acinetobacter, Stenotrophomonas*). A telitromicina apresenta, também, uma boa atividade contra patógenos intracelulares (p. ex., *Legionella, Mycoplasma, Chlamydia, Chlamydophila*), *Rickettsia, Bartonella, Coxiella, Francisella* e *M. avium*.

Clindamicina

A **clindamicina** (antibiótico da família das lincosamidas) é um derivado da lincomicina, que foi originalmente isolada a partir de *Streptomyces lincolnensis*. Como o cloranfenicol e os macrolídeos, a lincomicina bloqueia a extensão da proteína pela sua ligação ao ribossomo 50S. Isto inibe a peptidiltransferase interferindo com a ligação do complexo aminoácido acyl-RNAt. A clindamicina é ativa contra estafilococos e bacilos Gram negativos anaeróbios, mas é geralmente inativa contra as bactérias Gram negativas aeróbias. A metilação da região 23S do RNA ribossomal é a origem da resistência bacteriana. Tanto a eritromicina quanto a clindamicina podem induzir resistência enzimática (também mediada por plasmídio) e, portanto, observa-se resistência cruzada entre essas duas classes de antibióticos.

Estreptograminas

As estreptograminas são uma classe de peptídeos cíclicos produzidos por espécies de *Streptomyces*. Estes antibióticos são administrados como uma combinação de dois componentes, estreptograminas grupo A e grupo B, que agem sinergicamente para inibir a síntese proteica. O antibiótico desta classe, comumente disponível é a **quinupristina-dalfopristina**. A dalfopristina se liga à subunidade 50S do ribossomo e induz alterações que facilitam a ligação da quinupristina. A dalfopristina impede a extensão das cadeias peptídicas e a quinupristina inicia a liberação prematura das cadeias peptídicas pelo ribossomo. Esta combinação de fármacos é ativa contra estafilococos, estreptococos e *E. faecium* (mas não contra *E. faecalis*). A utilização deste antibiótico tem sido restrita principalmente ao tratamento de infecções causadas por *E. faecium* resistentes à vancomicina.

Inibição da Síntese de Ácido Nucleico

Quinolonas

As quinolonas (Tab. 20-6) são uma das classes de antimicrobianos mais utilizadas. Estes agentes quimioterápicos sintéticos inibem a DNA topoisomerase tipo II (girase) ou topoisomerase tipo IV das bactérias, que são necessárias para a replicação do DNA, recombinação e reparo. A subunidade A da DNA girase é o alvo principal das quinolonas em bactérias Gram negativas, enquanto a topoisomerase tipo IV é o principal alvo em bactérias Gram positivas. A primeira quinolona empregada na prática clínica foi o **ácido nalidíxico**. Este fármaco foi utilizado para o tratamento de infecções urinárias causadas por uma variedade de bactérias Gram negativas, mas a resistência a esse fármaco desenvolveu-se rapidamente. Este fármaco foi substituído por quinolonas mais novas e mais ativas como a **ciprofloxacina, levofloxacina, gatifloxacina** e **moxifloxacina**. As novas quinolonas (denominadas de **fluoroquinolonas**) foram feitas a partir de modificações do núcleo com dois anéis. Estes antimicrobianos apresentam excelente atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, embora possa rapidamente desenvolver resistência em *Pseudomonas*, estafilococos resistentes à oxacilina e enterococos. Particularmente, as novas quinolonas de espectro ampliado apresentam significativa atividade contra bactérias Gram positivas.

Tabela 20-6 Quinolonas

Antimicrobianos	Espectro de Atividade
Espectro reduzido (ácido nalidíxico)	Ativo contra alguns bacilos Gram negativos; não possuem atividade contra bactérias Gram positivas

Amplo espectro (ciprofloxacina, levofloxacina, ofloxacina)	Antimicrobiano de amplo espectro com atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas
Espectro ampliado (gatifloxacina, clinafloxacina, moxifloxacina, trovafloxacina)	Antimicrobianos de amplo espectro, com grande atividade contra bactérias Gram positivas (particularmente estreptococos e enterococos) quando comparados com as primeiras quinolonas; atividade contra bacilos Gram negativos similar à da ciprofloxacina e quinolonas relacionadas

A resistência às quinolonas é mediada por mutações cromossômicas em genes estruturais da DNA girase e da topoisomerase tipo IV. Outros mecanismos incluem a superexpressão de bombas de efluxo que eliminam o fármaco de dentro da célula e diminuem a entrada do fármaco por mutações nos genes regulatórios da permeabilidade de membrana. Cada um desses mecanismos é primariamente mediado pelo cromossomo.

Rifampicina e Rifabutin

A **rifampicina**, um derivado semissintético da rifampicina B produzida pelo *Streptomyces mediterranei*, se liga à RNA-polimerase DNA-dependente e inibe a iniciação da síntese de RNA. A rifampicina é bactericida para *Mycobacterium tuberculosis* e é muito ativa contra os cocos Gram positivos, incluindo estafilococos e estreptococos.

Como a resistência pode se desenvolver rapidamente, a rifampicina é utilizada em combinação com um ou mais antibióticos eficientes. A resistência à rifampicina em bactérias Gram positivas resulta da mutação no gene cromossômico que codifica a subunidade b da RNA-polimerase. As bactérias Gram negativas são intrinsecamente resistentes à rifampicina por causa da limitada penetração deste antibiótico hidrofóbico. O **rifabutin**, um derivado da rifampicina, possui similar atividade e espectro. É particularmente ativo contra *M. avium*.

Metronidazol

O **metronidazol** foi introduzido, originalmente, como um agente de uso oral para o tratamento de vaginites por *Trichomonas*. Entretanto, este antibiótico mostrou ser eficiente também no tratamento de amebíases, giardíases e graves infecções causadas por bactérias anaeróbias (incluindo aquelas causadas por *B. fragilis*). O metronidazol não apresenta atividade significativa contra bactérias aeróbias ou facultativamente anaeróbias. As propriedades antimicrobianas do metronidazol ocorrem pela redução de seu grupo nitro em nitrorredutases bacterianas, produzindo compostos tóxicos que rompem o DNA do hospedeiro. A resistência pode resultar tanto da diminuição da entrada do antimicrobiano quanto da eliminação dos compostos citotóxicos antes que estes possam interagir com o DNA do hospedeiro.

Antimetabólitos

A s **sulfonamidas** são antimetabólitos que competem com o ácido *p*-aminobenzoico, impedindo a síntese do ácido fólico exigido por certos microrganismos. Como os mamíferos não sintetizam ácido fólico (necessário como uma vitamina), as sulfonamidas não interferem com o metabolismo das células dos mamíferos. O **trimetoprim** é outro antimetabólito que interfere com o metabolismo do ácido fólico pela inibição da di-hidrofolato redutase, impedindo a conversão do di-hidrofolato para tetrahidrofolato. Esta inibição bloqueia a formação de timidina, algumas purinas, metionina e glicina. O trimetoprim é comumente utilizado em combinação com o sulfametoxazol para produzir uma combinação sinergética ativa em duas etapas da síntese de ácido fólico. A **dapsona** e o ácido ***p*-aminossalicílico** são também antifolatos que provaram ser úteis para o tratamento de infecções por micobactérias.

As sulfonamidas são eficientes contra uma ampla variedade de organismos Gram positivos e Gram negativos, tais como *Nocardia, Chlamydia* e alguns protozoários. As sulfonamidas de curta duração estão entre os fármacos de escolha para o tratamento de infecções agudas do trato urinário causadas por bactérias sensíveis, como *E. coli*. O sulfametoxazol-trimetoprim é eficiente contra uma ampla variedade de microrganismos Gram positivos e Gram negativos, sendo o fármaco de escolha para o tratamento de infecções agudas e crônicas do trato urinário. A combinação também é eficiente no tratamento de infecções causadas por *Pneumocystis carinii*, infecções bacterianas do trato respiratório inferior, otites médias e gonorreia não complicada.

A resistência a esses antimicrobianos pode ocorrer por uma variedade de mecanismos. *Pseudomonas*, por exemplo, são resistentes por possuírem barreiras de permeabilidade. Uma redução na afinidade do di-hidrofolato redutase pode ser a origem da resistência ao trimetoprim. Além disso, as bactérias que utilizam timidina exógena (p. ex., enterococos) são, também, intrinsecamente resistentes.

Outros Antibióticos

A **clofazimina** é um antibiótico lipofílico que se liga ao ácido desoxirribonucleico (DNA) de micobactérias. É altamente ativa contra *M. tuberculosis*, sendo o fármaco de primeira escolha para o tratamento de infecções pelo *M. leprae* e o antibiótico secundário recomendado para o tratamento de infecções causadas por outras espécies de micobactérias.

A **pirazinamida (PZA)** é ativa contra *M. tuberculosis* em pH baixo, como encontrado nos fagolisossomas. A forma ativa deste antibiótico é o ácido pirazinoico, produzido quando a PZA é hidrolisado no fígado. É desconhecido o mecanismo pelo qual a PZA exerce sua função.

Questões

1. Descreva o mecanismo de ação dos seguintes antimicrobianos: penicilina, vancomicina, isoniazida, gentamicina, tetraciclina, eritromicina, polimixina, ciprofloxacina e sulfametoxazol.

1. A penicilina interfere na síntese da parede celular pela ligação específica às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), as enzimas reguladoras (exemplo: transpeptidases, transglicosilases, carboxipeptidases) responsáveis pela construção da camada de peptidoglicano da parede celular. A vancomicina também interrompe a síntese do peptidoglicano na parede celular, neste caso em bactérias Gram positivas. Porém, isto só é realizado quando a vancomicina interage com a terminação D-alanina-D-alanina das cadeias pentapeptídicas laterais, que interferem na formação das pontes que ligam as cadeias do peptidoglicano. A isoniazida inibe a síntese de ácidos micólicos, um importante componente da parede celular de micobactérias. A gentamicina, tetraciclina e eritromicina inibem a síntese proteica em bactérias. A gentamicina se liga de forma irreversível às proteínas da região 30S do ribossomo. Esta ligação aos ribossomos produz dois efeitos: a produção de proteínas anômalas como resultado dos erros de leitura do RNA mensageiro (mRNA) e a interrupção da síntese proteica por conta do ribossomo liberar prematuramente o mRNA. A tetraciclina liga-se de forma reversível à unidade 30S do ribossomo, bloqueando assim a ligação do aminoacil-RNA de transferência (RNAt) ao complexo ribossômico 30S-RNAm. A eritromicina, um antibiótico da classe dos macrolídeos, liga-se de forma reversível à região 23S do RNA ribossomal, bloqueando a extensão do polipeptídio. As polimixinas inserem-se nas membranas bacterianas como detergentes, interagindo com os lipopolissacarídeos e os fosfolipídios na membrana externa, produzindo aumento da permeabilidade celular e, eventualmente, a morte celular. A ciprofloxacina, que é uma fluoroquinolona, inibe as enzimas DNA topoisomerase tipo II (girase) das bactérias, que são necessárias para a replicação do DNA, recombinação e reparo. O sulfametoxazol é um antimetabólito que interfere com a síntese do ácido fólico.

2. Cite os três mecanismos pelos quais as bactérias se tornam resistentes aos antibióticos β-lactâmicos. Qual é o mecanismo responsável pela resistência à oxacilina em *Staphylococcus*? E pela resistência ao imipenem em *Pseudomonas*? E resistência à penicilina em *S. pneumoniae*?

2. As bactérias podem se tornar resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos pela (1) hidrólise do antibiótico por beta-lactamases, (2) modificação do alvo de ligação do antibiótico (PBP), por intermédio de uma nova PBP adquirida pelo organismo ou uma PBP existente alterada, que produz uma PBP enzimaticamente ativa e que não é reconhecida pelo antibiótico, ou (3) prevenção do acesso ao alvo, criando uma barreira de permeabilidade (exemplo: mudança nas porinas da parede celular de Gram negativos). *Staphylococcus aureus* se tornam resistentes à oxacilina e beta-lactâmicos relacionados, pela aquisição de uma nova PBP que é enzimaticamente ativa (p. ex., pode ser usada para construir a camada de

peptidoglicano na parede celular), mas não é ligada e inativada pelo antibiótico. *Streptococcus pneumoniae* se torna resistente à penicilina quando adquire uma PBP alterada (por recombinação). *Pseudomonas aeruginosa* pode se tornar resistente ao imipenem por um ou dois mecanismos: (1) aquisição de beta-lactamases que degradam os antibióticos da classe dos carbapenens; ou (2) alteração da membrana externa da parede celular (mutação da porina) que impede a entrada de antibióticos dentro da célula.

3. Quais os três mecanismos pelos quais os organismos desenvolvem resistência a aminoglicosídeos?

3. Os organismos podem se tornar resistentes aos aminoglicosídeos pela: (1) modificação enzimática do antibiótico (o método mais comum), (2) redução da entrada de antibiótico na célula bacteriana, (3) aumento na eliminação do antibiótico de dentro da célula ou, (4) mutação no sítio de ligação do ribossomo.

4. Que mecanismo é responsável pela resistência às quinolonas?

4. As bactérias se tornam resistentes às quinolonas por mutações cromossômicas em genes estruturais da DNA girase e da topoisomerase tipo IV. Outros mecanismos menos comuns incluem a superexpressão de bombas de efluxo que eliminam o antibiótico de dentro da célula e diminuem a entrada dos mesmos por mutações nos genes que regulam a permeabilidade da membrana.

5. Como o trimetoprim e as sulfonamidas diferem em seus mecanismos de ação?

5. O trimetoprim interfere com o metabolismo do ácido fólico pela inibição da dihidrofolato redutase, impedindo a conversão do dihidrofolato para tetrahidrofolato. As sulfonamidas competem com o ácido *p*-aminobenzoico, impedindo também a síntese do ácido fólico, mas em uma etapa diferente.

Bibliografia

Bryskier A. Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals. Washington, DC: ASM Press, 2005.

Kucers A, Bennett NM. The Use of Antibiotics: A Comprehensive Review with Clinical Emphasis, 4th ed., Philadelphia: Lippincott, 1989.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.

Murray P, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

21 Staphylococcus e Cocos Gram Positivos Relacionados

Os cocos Gram positivos são uma coleção heterogênea de bactérias. Apresentam características comuns como a forma esférica, a reação frente à coloração de Gram e a ausência de endosporo. A presença ou a ausência da atividade de **catalase** é um teste simples usado para subdividir os vários gêneros. As catalases são enzimas que catalisam o **peróxido de hidrogênio** à água e oxigênio. Quando uma gota de solução de peróxido é colocada sobre a colônia de uma bactéria produtora de catalase, aparecem bolhas do oxigênio formado. Os gêneros aeróbios catalase-positivos (p. ex., *Staphylococcus, Micrococcus*, e organismos relacionados) são discutidos neste capítulo, os gêneros aeróbios catalase-negativos (*Streptococcus, Enterococcus* e organismos relacionados) serão discutidos nos próximos dois capítulos. Os cocos Gram positivos anaeróbios serão discutidos no Capítulo 40.

O nome do gênero *Staphylococcus* se refere ao fato de que as células destes cocos Gram positivos crescem com um perfil que se assemelha a cachos de uvas (Quadro 21-1; Fig. 21-1); no entanto, os organismos em material clínico podem também aparecer como células únicas, pares, ou cadeias curtas. A maioria dos estafilococos mede de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, são imóveis, anaeróbios facultativos (*i.e.*, crescem tanto em ambiente aeróbio como em ambiente anaeróbio), são capazes de crescer em meios contendo alta concentração de sal (p. ex., 10% de cloreto de sódio) e a temperaturas que variam de 18°C a 40°C. Estas bactérias estão presentes na pele e nas membranas mucosas dos seres humanos. O gênero consiste atualmente de 40 espécies e 24 subespécies, muitas das quais são encontradas no homem. Algumas espécies são encontradas em nichos específicos. Por exemplo, *Staphylococcus aureus* coloniza as narinas anteriores, *Staphylooccus capitis* é encontrado onde estão as glândulas sebáceas (p. ex., na testa), e *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus hominis* são encontrados em áreas onde estão presentes glândulas apócrinas (p. ex., nas axilas). Os estafilococos são importantes patógenos para os seres humanos, causam um amplo espectro de doenças sistêmicas que ameaçam a vida, incluindo infecções de pele, tecidos moles, ossos, trato urinário, bem como infecções oportunistas (Tab. 21-1). As espécies mais comumente associadas às doenças humanas são ***S. aureus*** (o mais virulento e o mais conhecido membro do gênero), ***Staphylococcus epidermidis, S. haemolyticus, Staphylococcus lugdunensis*** e ***Staphylococcus saprophyticus. Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)** é notável por produzir infecções graves em pacientes hospitalizados e, mais recentemente, em crianças e adultos não hospitalizados e previamente saudáveis. As colônias de *S. aureus* são douradas como resultado de pigmentos carotenoides formados durante o seu crescimento; daí o nome da espécie. Também é a única espécie encontrada em seres humanos que produz a enzima **coagulase**. Quando uma colônia de *S. aureus* é suspensa em plasma, a coagulase se liga a um fator sérico e este complexo converte o fibrinogênio a fibrina, resultando na formação de um coágulo. Outras espécies de estafilococos que não produzem coagulase são referidas coletivamente como **estafilococos coagulase-negativa**.

Tabela 21-1 Espécies Comuns de *Staphylococcus* e suas Doenças

Organismo	Doenças
S. aureus	Mediadas por toxina (intoxicação alimentar, síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico); cutâneas (carbúnculo, foliculite, furúnculos, impetigo, infecções de feridas); outras (bacteremia, endocardite, pneumonia, epiema, osteomielite, artrite séptica)
S. epidermidis	Bacteremia; endocardite; infecções cirúrgicas; infecções do trato urinário; infecções oportunistas de cateteres, *shunts*, dispositivos prostéticos e pacientes dialisados pelo peritônio
S. saprophyticus	Infecções do trato urinário; infecções oportunistas
S. lugdunensis	Endocardite; artrite; bacteremia; infecções oportunistas e infecções do trato urinário
S. haemolyticus	Bacteremia; endocardite; infecções dos ossos e articulações; infecções do trato urinário; infecções de ferida e infecções oportunistas

Quadro 21-1 Estafilococos Importantes

Organismo	Derivação Histórica
Staphylococcus	*staphylé* “cacho de uvas”; *coccus* “grão” ou “semente” (cocos semelhantes a uvas)
S. aureus	*aureus*, “dourado” (dourado ou amarelo)
S. epidermidis	*epidermidis*, “camada externa da pele” (da epiderme ou camada externa da pele)
S. lugdunensis	*Lugdunum*, nome latino para Lyon, França, onde o microrganismo foi isolado pela primeira vez

S. saprophyticus	*sapros*, "pútrido"; phyton, "planta" (saprofítico ou que cresce em tecido morto)

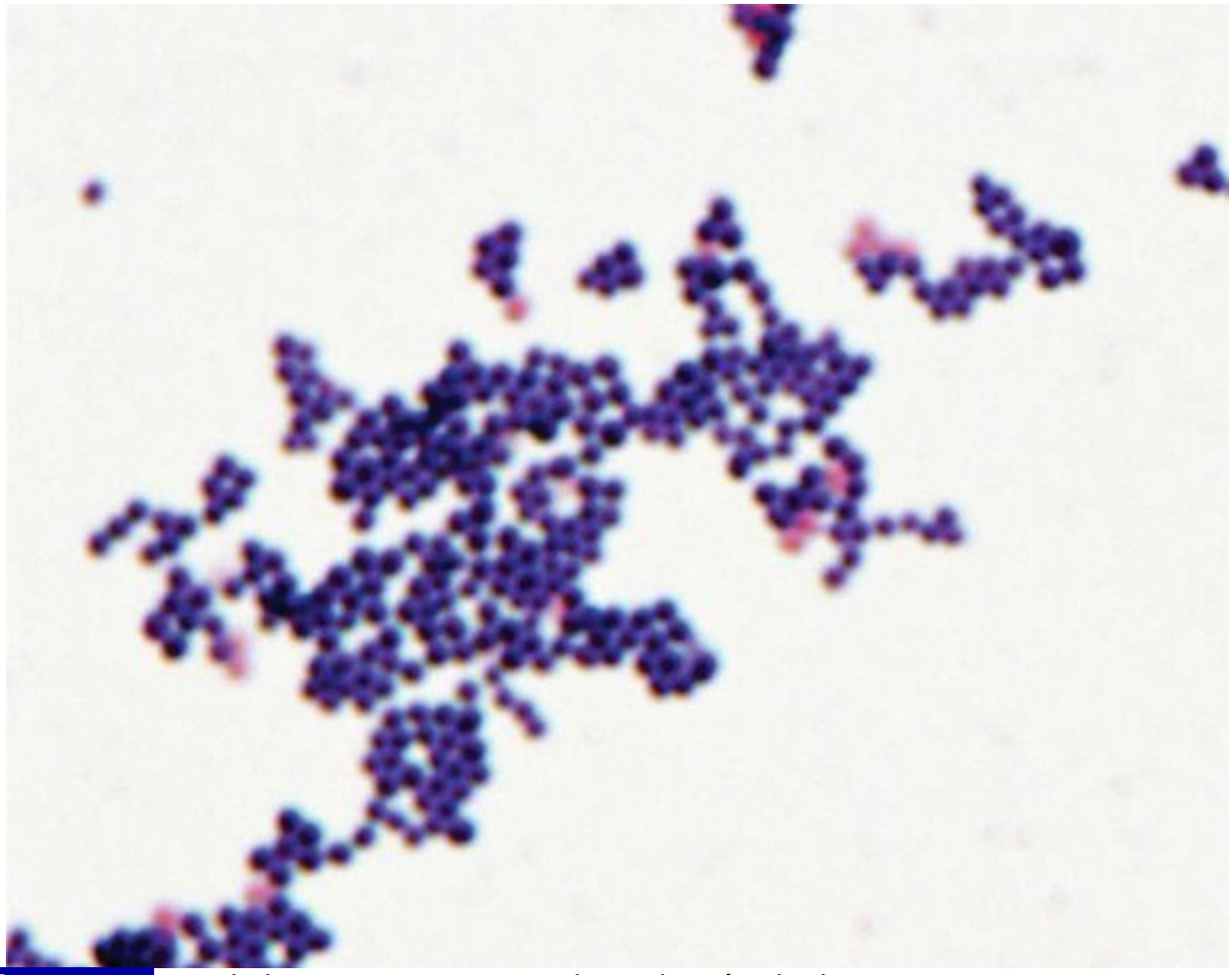


Figura 21-1 *Staphylococcus aureus* corados pelo método de Gram.

Os organismos originalmente alocados no gênero *Micrococcus* foram subdivididos em seis gêneros, sendo que os gêneros ***Micrococcus, Kocuria*** e ***Kytococcus*** são encontrados colonizando mais comumente a superfície da pele humana. Estes cocos se asse melham aos estafilococos e podem ser confundidos com os estafilococos coagulase-negativa. Embora estas bactérias possam causar infecções oportunistas em alguns pacientes, seu isolamento em espécimes clínicos usualmente representa contaminação clinicamente insignificante. O restante deste capítulo se concentra na descrição de *Staphylococcus* e seu papel na doença humana.

Fisiologia e Estrutura (Quadros 21-2 e 21-3)

Cápsula e Camada Limosa

A camada mais externa da parede celular de muitos estafilococos é coberta com uma **cápsula de polissacarídio**. Foram identificados 11 sorotipos capsulares em *S. aureus*. Os sorotipos 1 e 2 estão associados a cápsulas muito espessas e a colônias de aparência mucoide, porém são raramente associados à doença humana. Ao contrário, os sorotipos 5 e 7 estão associados à maioria das infecções em seres humanos. A cápsula protege a bactéria, inibindo a fagocitose dos organismos pelos leucócitos polimorfonucleares (PMN). A maioria dos estafilococos produz, em quantidades variáveis, um filme solúvel na água, frouxamente ligado à célula (**camada limosa**) e que consiste em monossacarídios, proteína e pequenos peptídios. Esta substância extracelular liga a bactéria aos tecidos e corpos estranhos como cateteres, enxertos, válvulas prostéticas, articulações e *shunts* e é particularmente importante para a sobrevivência dos estafilococos coagulase-negativos relativamente não virulentos.

Quadro 21-2 Resumo: *Staphylococcus aureus*

Biologia, Virulência e Doença

Cocos Gram positivos em aglomerados

Espécies caracterizadas pela presença de coagulase, proteína A e ácido teicoico ribitol espécie-específico, com resíduos de *N*-acetilglucosamina (“polissacarídio A”)

Fatores de virulência que incluem componentes estruturais que facilitam a aderência aos tecidos do hospedeiro e evitam a fagocitose, e uma variedade de toxinas e enzimas hidrolíticas (Tab. 21-2).

As doenças incluem aquelas mediadas por toxinas (intoxicação alimentar, síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada), doenças piogênicas (impetigo, foliculite, furúnculos, carbúnculos, infecções de feridas), e outras doenças sistêmicas

Infecções hospitalares e comunitárias causadas por MRSA são um problema mundial

Epidemiologia

Flora normal da pele e superfícies mucosas de seres humanos

Os organismos podem sobreviver em superfícies secas por longos períodos (devido à densidade do peptidoglicano e ausência de membrana externa)

Disseminação pessoa-pessoa por contato direto ou exposição a fômites contaminados (p. ex., roupas de cama, vestimentas)

Os fatores de risco incluem a presença de um corpo estranho (p. ex., farpa, sutura, prótese e cateter), procedimento cirúrgico prévio e uso de antibióticos que suprimem a microbiota normal

Os pacientes sob risco para doenças específicas incluem crianças (síndrome da pele escaldada), crianças pequenas com pouca higiene pessoal (impetigo e outras infecções cutâneas), mulheres menstruadas (síndrome do choque tóxico), pacientes com cateteres intravasculares (bacteremia e endocardite) ou *shunts* (meningites) e pacientes com função pulmonar comprometida ou infecção respiratória viral antecedente (pneumonia)

MRSA é, atualmente, a principal causa de infecções de pele e tecidos moles adquiridas na comunidade

Diagnóstico

A microscopia é útil para infecções piogênicas, mas não para infecções sanguíneas ou mediadas por toxinas

Os estafilococos crescem rapidamente quando cultivados em meios não seletivos

Os meios seletivos (p. ex., agar manitol salgado) podem ser utilizados para recuperar *S. aureus* em espécimes contaminados

Tratamento, Prevenção e Controle

Antibióticos de escolha são oxacilina (ou outra penicilina resistente às penicilinases) ou vancomicina para cepas resistentes à meticilina; antibióticos alternativos para o tratamento de infecções por MRSA incluem o sulfametoxazol-trimetoprim, clindamicina, linezolida, daptomicina ou quinupristina-dalfopristina

O foco da infecção (abscesso) deve ser identificado e drenado

O tratamento é sintomático para os pacientes com intoxicação alimentar (embora a fonte de infecção deva ser identificada para que medidas apropriadas de prevenção possam ser decretadas)

A limpeza apropriada das feridas e o uso de desinfetantes ajudam a prevenir a infecção

A equipe médica pode prevenir as infecções ou a disseminação para outros pacientes com a lavagem das mãos e proteção da pele exposta do paciente

Quadro 21-3 Resumo: Estafilococos Coagulase-Negativos

Biologia, Virulência e Doença

Cocos Gram positivos em aglomerados, catalase-positivos e coagulase-negativos

Relativamente não virulentos, embora a produção de uma camada “limosa” possa permitir a aderência a corpos estranhos (p. ex., cateteres, *shunts*, enxertos, válvulas e articulações prostéticas) e a proteção à fagocitose e antibióticos

As infecções incluem endocardite subaguda, infecção de corpos estranhos e infecções do trato urinário

Epidemiologia

Flora normal da pele e das mucosas de seres humanos

Os organismos podem sobreviver em superfícies secas por longos períodos de tempo

A disseminação se dá pessoa-pessoa por contato direto ou exposição a fômites contaminados, embora a maioria das infecções seja causada por organismos do próprio indivíduo

Os pacientes estão sob risco quando corpos estranhos estão presentes

Os organismos são ubíquos, não existindo assim limitações sazonais ou geográficas

Diagnóstico

Como nas infecções por *S. aureus*

Tratamento, Prevenção e Controle

Os antibióticos de escolha são oxacilina (ou outra penicilina resistente às penicilinases) ou vancomicina (para as cepas resistentes à oxacilina)

A remoção do corpo estranho é frequentemente necessária para o sucesso do tratamento

O pronto tratamento da endocardite ou de infecções de *shunt* é necessário para evitar o dano tecidual ou a formação de complexos imunes

Peptidoglicano e Enzimas Associadas

Metade do peso da parede celular é o **peptidoglicano**, uma característica comum das bactérias Gram positivas. O peptidoglicano consiste em camadas de cadeias de glicano construídas de 10 a 12 subunidades alternadas de ácido *N*-acetilmurâmico e *N*-acetilglicosamina. Cadeias laterais de oligopeptídios são ligadas às subunidades de ácido *N*-acetilmurâmico e, depois, ligadas cruzadamente por pontes peptídicas. As cadeias de glicano de *S. aureus*, por exemplo, são ligadas cruzadamente por pontes de pentaglicina, que são unidas a L-lisina em uma cadeia de oligopeptídio e a D-alanina na cadeia adjacente. Ao contrário das bactérias Gram negativas, a camada de peptidoglicano nos organismos Gram positivos consiste em **muitas camadas unidas por ligações cruzadas**, o que torna a parede celular mais rígida. As enzimas que catalisam a construção da camada de peptidoglicano são chamadas de **proteínas que se ligam à penicilina** e são os alvos da penicilina e outros antibióticos betalactâmicos. A resistência bacteriana à meticilina e penicilinas relacionadas é mediada pela aquisição de um gene (*mec*A), que codifica uma proteína que se liga à penicilina, à PBP2′, e mantém sua atividade enzimática (veja Tratamento, Prevenção e Controle para obter detalhes adicionais). O **gene *mecA*** está localizado no cassete cromossômico do estafilococo denominado *mec* (SCC*mec*) e cinco sequências de genes deste cassete (tipos I-V) foram descritas. Esta informação é bastante relevante, pois os **estafilococos resistentes à meticilina (MRSA)**, previamente restritos às infecções adquiridas no hospital, estão agora presentes na comunidade e são responsáveis pela maioria das infecções por estafilococos. Comumente, a maior parte dessas cepas possui o SCC*mec* do tipo IV, que geralmente não está presente nas cepas de MRSA hospitalares. Desta maneira, estas cepas representam uma nova ameaça à comunidade e não simplesmente um relato de cepas que tenham passado do hospital à comunidade.

O peptidoglicano apresenta atividade semelhante à endotoxina, estimulando a produção de pirogênios endógenos, ativação de complemento, produção de Interleucina-1 a partir dos monócitos e agregação de PMN (um processo responsável pela formação de abscesso).

Ácidos Teicoicos

O s **ácidos teicoicos** são outros componentes principais da parede celular e compreendem de 30% a 50% do seu peso seco. Os ácidos teicoicos são polímeros **espécie-específicos** contendo fosfato e que estão ligados covalentemente aos resíduos de ácido *N*-acetilmurâmico da camada de peptidoglicano, ou a lipídios na membrana citoplasmática (**ácidos lipoteicoicos**). Apesar dos ácidos teicoicos serem pouco imunogênicos, uma resposta de anticorpos específicos é estimulada quando eles estão ligados ao peptidoglicano. O monitoramento desta resposta de anticorpos foi utilizado para detectar doença estafilocócica sistêmica. No entanto, este teste foi abandonado quando se observou que era menos sensível do que outros testes diagnósticos (veja Diagnóstico Laboratorial).

Proteína A

A superfície da maioria das cepas de *S. aureus* (mas não dos estafilococos coagulase-negativos) é coberta com a **proteína A**. Esta proteína é ligada à camada de peptidoglicano ou à membrana citoplasmática e possui habilidade de se ligar à porção Fc de imunoglobulinas IgG_1, IgG_2 e IgG_4. A presença da proteína A vem sendo explorada em alguns testes sorológicos, nos quais *S. aureus* coberto com a proteína A é usado como um carreador não específico de anticorpos, direcionados contra outros antígenos. Além disso, a detecção da proteína A pode ser utilizada como um **teste de identificação** específica para *S. aureus*.

Coagulase

Numerosas proteínas de superfície foram identificadas em estafilococos. A superfície externa da maioria das cepas de *S. aureus* contém o **fator de coagulação** (também chamado de **coagulase ligada**). Esta proteína é um importante fator de virulência de *S. aureus*. Ela se liga ao fibrinogênio e o converte em fibrina insolúvel, fazendo com que os estafilococos se agrupem. A detecção desta proteína é o **teste de identificação** primária para *S. aureus*.

Membrana Citoplasmática

A **membrana citoplasmática** é constituída de um complexo de proteínas, lipídios e uma pequena quantidade de carboidratos. Funciona como uma barreira osmótica para a célula e fornece uma âncora para as enzimas celulares biossintéticas e respiratórias.

Patogênese e Imunidade

A patologia das infecções por estafilococos depende da habilidade da bactéria de escapar da fagocitose, produzir proteínas de superfície que medeiam a aderência da bactéria aos tecidos do hospedeiro e da elaboração de toxinas específicas e enzimas hidrolíticas (Tab. 21-2).

Tabela 21-2 Fatores de Virulência de *Staphylococcus aureus*

Fatores de Virulência	Efeitos Biológicos
Componentes Estruturais	
Cápsula	Inibe a quimiotaxia e a fagocitose; inibe a proliferação das células mononucleares
Camada limosa	Facilita a aderência a corpos estranhos
Peptidoglicano	Fornece estabilidade osmótica; estimula a produção de pirogênio endógeno (atividade semelhante à endotoxina); quimioatraente para leucócitos (formação de abscessos); inibe a fagocitose
Ácido teicoico	Liga-se à fibronectina
Proteína A	Inibe a depuração mediada por anticorpos, ligando-se aos receptores Fc IgG1, IgG2 e IgG4; quimioatraente para leucócitos; anticomplementar
Toxinas	
Citotoxinas	Tóxica para muitas células, incluindo leucócitos, eritrócitos, fibroblastos, macrófagos e plaquetas
Toxina esfoliativa (ETA, ETB)	Serina proteases que clivam as pontes intercelulares no estrato granuloso da epiderme
Enterotoxinas	Superantígenos (estimulam a proliferação das células T e liberação de citocinas); estimulam a liberação de mediadores inflamatórios dos mastócitos, aumentando o peristaltismo intestinal e a perda de fluidos, bem como as náuseas e o vômito
Toxina-1 da síndrome do choque tóxico	Superantígeno (estimula a proliferação das células T e a liberação de citocinas); produz poros ou destruição das células endoteliais
Enzimas	
Coagulase	Converte o fibrinogênio em fibrina
Hialuronidase	Hidrolisa o ácido hialurônico do tecido conjuntivo, promovendo a disseminação dos estafilococos nos tecidos
Fibrinolisina	Dissolve os coágulos de fibrina
Lipases	Hidrolisa lipídios

Nucleases	Hidrolisa o DNA

Defesas contra a Imunidade Inata

Os estafilococos que possuem cápsula se ligam às opsoninas (lgG, fator C3 do complemento) no soro não imune normal e a **cápsula** cobre estas opsoninas, protegendo a bactéria e inibindo a fagocitose dos organismos pelos leucócitos polimorfonucleares (PMN). Na presença de anticorpos específicos dirigidos contra os estafilococos, o C3 ligado à bactéria aumenta, levando à fagocitose. A **camada limosa** extracelular também interfere com a fagocitose da bactéria. A habilidade da **proteína A** se ligar a imunoglobulinas evita de maneira eficiente que o microrganismo seja eliminado por anticorpos. A proteína A extracelular também pode se ligar a anticorpos, formando complexos imunes com subsequente consumo do complemento.

Proteínas de Adesão

Os ácidos teicoicos e as proteínas de adesão são importantes para a aderência às proteínas de matriz ligadas aos tecidos do hospedeiro (p. ex., fibronectina, fibrinogênio, elastina e colágeno). Estas proteínas superficiais de adesão são ligadas ao peptidoglicano da parede celular nos estafilococos e são designadas proteínas **MSCRAMM** (componentes microbianos superficiais que reconhecem moléculas adesivas da matriz).

Toxinas de Estafilococos

S. aureus produz muitas toxinas, incluindo cinco toxinas citolíticas ou toxinas que danificam a membrana (alfa, beta, delta, gama e leucocidina Panton-Valentine [PVL]), duas toxinas esfoliativas (A e B), oito enterotoxinas (A até E, G até I) e toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1). As toxinas citolíticas foram descritas como hemolisinas. Porém, este é um nome impróprio, uma vez que as atividades das quatro primeiras toxinas não estão restritas somente às células vermelhas e a leucocidina PVL é incapaz de lisar eritrócitos. As citotoxinas podem lisar os neutrófilos, que resultam na liberação das enzimas lisossômicas com subsequente dano aos tecidos adjacentes. A leucocidina PVL está associada a infecções graves pulmonares e da pele.

A toxina esfoliativa A, as enterotoxinas, e a TSST-1 pertencem a uma classe de polipeptídios conhecida como **superantígenos**. Estas toxinas se ligam às moléculas da classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC II) na superfície dos macrófagos, que interagem com a **R**egião **V**ariável da subunidade β dos **R**eceptores específicos das **C**élulas **T** (**VβTCR**). Isto resulta em uma liberação maciça de citocinas tanto pelos macrófagos (IL-1β e TNF-α), como pelas células T (IL-2, IFN-γ, e TNF-β). A liberação de TNF-α e TNF-β está associada à hipotensão e choque, e a febre está associada à liberação de IL-1β.

Citotoxinas

Toxina alfa, que pode ser codificada tanto pelo cromossomo como por um plasmídio, é um polipeptídio com 33.000 Da, que é produzido pela maioria das cepas de *S. aureus* que causam doença humana. A toxina rompe a musculatura lisa dos vasos sanguíneos e é tóxica para muitos tipos de células, incluindo eritrócitos, leucócitos, hepatócitos e plaquetas. Ela se integra a regiões hidrofóbicas da membrana celular do hospedeiro, levando à formação de poros de 1 a 2nm. O rápido efluxo de K^+ e influxo de Na^+, Ca^{2+} e outras pequenas moléculas leva ao inchamento osmótico e a lise celular. Acredita-se que a toxina alfa seja um importante mediador de dano ao tecido na doença causada por estafilococos.

Toxina beta, também chamada **esfingomielinase C**, é uma proteína termoestável de 35.000 Da produzida pela maioria das cepas de *S. aureus* que causa doença em seres humanos e animais. Esta enzima apresenta especificidade para esfingomielina e lisofosfatidilcolina e é tóxica para uma variedade de células, incluindo eritrócitos, fibroblastos, leucócitos e macrófagos. Nas células suscetíveis ela catalisa a hidrólise dos fosfolipídios de membrana e a lise é proporcional à concentração de esfingomielina exposta na superfície celular. Acredita-se que este fato seja responsável pelas diferenças na suscetibilidade das espécies à toxina.

Toxina delta é um polipeptídio de 3.000 Da, produzido por quase todas as cepas de *S. aureus* e outras espécies de estafilococos (p. ex., *S. epidermidis, S. haemolyticus*). A toxina possui um espectro amplo de atividade citolítica, afetando eritrócitos, outras células de mamíferos e estruturas membranosas intracelulares. Esta toxicidade, relativamente não específica para membranas, é consistente com a crença de que esta toxina age como um surfactante, rompendo as membranas celulares por meio de uma ação semelhante à de um detergente.

Toxina gama (produzida por quase todas as cepas de *S. aureus*) e **leucocidina PVL** são toxinas bicomponentes compostas de duas cadeias polipeptídicas: o componente S (proteínas que eluem vagarosamente) e F (proteínas que eluem rapidamente). Três proteínas S (HlgA [hemolisina gama A], HlgC, LukS-PV) e duas proteínas F (HlgB, LukF-PV) foram identificadas. As bactérias capazes de produzirem toxinas podem codificar todas estas proteínas, com potencial para produzir seis toxinas distintas. Todas as seis toxinas podem lisar neutrófilos e macrófagos, enquanto a maior atividade hemolítica está associada à HlgA/HlgB, HlgC/HlgB e HlgA/LukF-PV. A toxina leucocidina PVL (LukS-PV/LukF-PV) é

leucotóxica, mas não tem atividade hemolítica. Recentemente, a toxina leucocidina PVL estimulou interesse, pois embora seja encontrada em menos de 5% das cepas de MRSA que circulam no hospital, está presente, em quase todas as cepas de MRSA associadas a infecções adquiridas na comunidade. Ainda está por ser determinado se esta toxina é o principal fator de virulência ou somente um marcador de identificação para estas cepas. A lise celular pelas toxinas gama e leucocidina PVL é mediada pela formação de poros, com subsequente aumento da permeabilidade aos cátions e da instabilidade osmótica.

Toxinas Esfoliativas

A **síndrome da pele escaldada estafilocócica (SSSS)**, um espectro de doenças caracterizadas por dermatite esfoliativa, é mediada pelas toxinas esfoliativas. A prevalência da produção da toxina nas cepas de *S. aureus* varia geograficamente, mas está geralmente entre 5% e 10%. Foram identificadas duas formas diferentes de toxinas esfoliativas (ETA e ETB) e qualquer uma delas pode produzir doença. A ETA é termoestável e o gene que a codifica é cromossômico, enquanto a ETB é termolábil e mediada por plasmídio. As toxinas são **serinas proteases** que rompem a desmogleína 1, um membro da família de estruturas de adesão celular (desmossomas), responsável por formar pontes intracelulares no estrato granuloso da epiderme. As toxinas não são associadas à citólise ou inflamação, nem os leucócitos e estafilococos estão presentes na camada da epiderme envolvida (este é um importante indício para o diagnóstico). Após a exposição da epiderme à toxina, anticorpos neutralizadores protetores desenvolvem-se, levando a resolução do processo tóxico. A SSSS é mais observada em crianças novas e raramente em crianças mais velhas e em adultos.

Enterotoxinas

Uma família de **enterotoxinas estafilocócicas** distintas foi identificada com a enterotoxina A, mais comumente associada à intoxicação alimentar. As enterotoxinas C e D são encontradas em produtos lácteos contaminados e a enterotoxina B causa enterocolite pseudomembranosa estafilocócica. Pouco se sabe a respeito da prevalência das outras enterotoxinas. As enterotoxinas são reconhecidas por causarem doença transmitida por alimentos, serem estáveis ao aquecimento a 100°C por 30 minutos e por serem resistentes à hidrólise pelas enzimas gástricas e do jejuno. Desta maneira, se um produto alimentar for contaminado com um estafilococo produtor de enterotoxina e se a toxina tiver sido produzida, nem o reaquecimento brando do alimento, nem mesmo a exposição aos ácidos gástricos serão fatores protetores. Estas toxinas são produzidas por 30% a 50% das cepas de *S. aureus*. O mecanismo preciso de atividade da toxina não é compreendido. Estas toxinas são superantígenos, capazes de induzir a ativação não específica das células T e a liberação maciça de citocinas. As alterações histológicas características no estômago e no jejuno incluem infiltrados de neutrófilos no epitélio e na lâmina própria subjacente, com perda das bordas ciliadas no jejuno. Acredita-se que o estímulo da liberação de mediadores inflamatórios dos mastócitos seja responsável pela êmese que é característica da intoxicação alimentar por estafilococos.

Toxina 1 da Síndrome do Choque Tóxico

A **TSST-1** é uma exotoxina de 22.000 Da, resistente ao calor e à proteólise mediada cromossomicamente. Estima-se que 90% das cepas de *S. aureus* responsáveis pela síndrome do choque tóxico (TSS) associada à menstruação e metade das cepas responsáveis por outras formas de TSS produzem a TSST-1. A enterotoxina B e mais raramente a enterotoxina C são responsáveis por aproximadamente metade dos casos de TSS não associada à

menstruação. A expressão de TSST-1 *in vitro* requer uma concentração elevada de oxigênio e pH neutro. Esta é a razão pela qual a TSS é relativamente incomum quando comparada com a incidência de infecções de feridas causadas por *S. aureus* (ambiente de um abscesso é relativamente anaeróbio e ácido). A TSST-1 é um superantígeno que estimula a liberação de citocinas, que produz em baixas concentrações o escapamento de células endoteliais e em altas concentrações, um efeito citotóxico para as células. A habilidade de a TSST-1 penetrar as barreiras mucosas, mesmo quando a infecção permanece localizada na vagina ou no sítio de uma ferida, é responsável pelos efeitos sistêmicos da TSS. A morte em pacientes com TSS é causada por choque hipovolêmico que leva à falência múltipla de órgãos.

Enzimas Estafilocócicas

S. aureus possui duas formas de **coagulase**: a coagulase ligada e a coagulase livre. A coagulase ligada à parede celular do estafilococo pode converter diretamente o fibrinogênio a fibrina insolúvel e causar a agregação dos estafilococos. A coagulase livre alcança o mesmo resultado reagindo com o fator globulina do plasma (**fator que reage com a coagulase**) para formar a estafilotrombina, um fator semelhante à trombina. Este fator catalisa a conversão do fibrinogênio a fibrina insolúvel. O papel da coagulase na patogênese da doença é especulativo, porém a coagulase pode causar a formação de uma camada de fibrina ao redor do abscesso causado por estafilococos, localizando assim a infecção e protegendo o microrganismo da fagocitose. Algumas outras espécies de estafilococos produzem coagulase, mas são principalmente patógenos animais e não são isolados comumente em infecções humanas.

Os estafilococos produzem uma variedade de outras enzimas que hidrolisam componentes do tecido hospedeiro e ajudam na disseminação da bactéria. A **hialuronidase** hidrolisa os ácidos hialurônicos, presentes na matriz acelular do tecido conjuntivo. A **fibrinolisina**, também chamada **estafiloquinase**, pode dissolver os coágulos de fibrina. Todas as cepas de *S. aureus* e mais de 30% das cepas de *Staphylococcus* coagulase-negativos produzem várias **lipases** diferentes, que hidrolisam lipídios e asseguram a sobrevivência dos estafilococos nas áreas sebáceas do corpo. *S. aureus* também produz uma **nuclease** termoestável que pode hidrolisar o DNA viscoso.

Epidemiologia

Os estafilococos são **ubíquos**. Todos os indivíduos possuem estafilococos coagulase-negativos na pele e a colonização transitória das dobras úmidas da pele por *S. aureus* é comum. A colonização do coto umbilical, pele e área do períneo de neonatos com *S. aureus* é comum. *S. aureus* e os estafilococos coagulase-negativos também são encontrados na orofaringe, trato gastrointestinal e trato urogenital. A colonização persistente ou por períodos curtos de tempo com *S. aureus* em crianças mais velhas e em adultos é mais comum na **nasofaringe** anterior do que na orofaringe. Aproximadamente 30% dos adultos saudáveis são portadores persistentes de *S. aureus* na nasofaringe, com uma incidência maior em pacientes hospitalizados, médicos, indivíduos com doença equizematosa de pele e aqueles que usam agulhas regularmente, tanto de forma ilícita (p. ex., usuários de drogas) ou por questões médicas (p. ex., pacientes diabéticos dependentes de insulina, pacientes que recebem injeções para alergia, ou ainda pacientes que estejam sendo submetidos à hemodiálise). A aderência do organismo ao epitélio mucoso é regulada pelas adesinas da superfície celular dos estafilococos.

Pelo fato dos estafilococos serem encontrados na pele e na nasofaringe, a disseminação das bactérias é comum e o microrganismo é responsável por muitas das infecções adquiridas no hospital. Os estafilococos são suscetíveis a altas temperaturas, desinfetantes e soluções antissépticas. No entanto, o microrganismo pode sobreviver em superfícies secas por longos períodos. Os organismos podem ser transferidos a um indivíduo suscetível tanto por contato direto como através de fômites (p. ex., vestimentas e roupas de cama contaminadas). Consequentemente, a equipe médica deve usar técnicas apropriadas de lavagem de mãos para prevenir a transferência de estafilococos para pacientes ou entre pacientes.

Começando nos anos 1980, as cepas MRSA se disseminaram rapidamente em pacientes hospitalizados, alterando dramaticamente a terapia disponível para a prevenção e o tratamento das infecções por estafilococos. Embora as infecções por MRSA fossem relativamente incomuns entre indivíduos sadios na comunidade, uma dramática alteração foi observada em 2003, quando novas cepas de MRSA foram relatadas como responsáveis por surtos de infecções cutâneas e pneumonias graves adquiridas na comunidade. Interessantemente, as cepas não eram relacionadas às cepas que circulavam nos hospitais, e as cepas isoladas em cada país eram geneticamente diferentes. Embora estas cepas tenham surgido independentemente em todo o mundo, elas compartilhavam características comuns: (1) SCC*mec* tipo IV codificando resistência à meticilina; (2) toxina leucocidina Panton-Valentine; e (3) suscetibilidade à maioria dos antibióticos, com exceção dos beta-lactâmicos. A tipagem epidemiológica indica que estas cepas comunitárias de MRSA são relacionadas dentro dos países (o genótipo USA300, caracterizado por eletroforese em campo alternado, é o predominante entre as amostras dos Estados Unidos), mas diferentes entre os diferentes países.

Doenças Clínicas (Quadro 21-4)

Staphylococcus aureus

S. aureus causa doença pela produção de toxina ou por invasão direta e destruição tecidual. As manifestações clínicas de algumas doenças estafilocócicas são quase exclusivamente o resultado da atividade de uma toxina (p. ex., síndrome da pele escaldada estafilocócica, intoxicação alimentar estafilocócica e síndrome do choque tóxico), enquanto outras doenças resultam da proliferação dos organismos, o que leva à formação de abscessos e a destruição dos tecidos (p. ex., infecção cutânea, endocardite, pneumonia, empiema, osteomielite, artrite séptica) (Fig. 21-2). Na presença de um corpo estranho (p. ex., pino, cateter, *shunt*, válvula prostética ou articulação), significativamente o número de estafilococos necessários para estabelecer a doença é menor. Da mesma maneira, pacientes com doenças congênitas com resposta quimiotática ou fagocítica prejudicada (p. ex., síndrome Job-Buckley, síndrome Wiskott-Aldrich, doença granulomatosa crônica) são mais suscetíveis à doença por estafilococos.

Quadro 21-4 Doenças por Estafilococos: Resumos Clínicos

Staphylococcus aureus

Doenças Mediadas por Toxinas

Síndrome da pele escaldada: descamação disseminada do epitélio em crianças; bolhas sem microrganismos ou leucócitos

Intoxicação alimentar: após consumo de alimento contaminado com a toxina termo-estável, início abrupto de vômitos, diarreia e cólicas abdominais, com resolução em 24 horas

Choque tóxico: intoxicação multissistêmica caracterizada inicialmente por febre, hipotensão e uma erupção eritematosa macular difusa; alta mortalidade na ausência de antibioticoterapia rápida e eliminação apropriada do foco da infecção

Infecções Supurativas

Impetigo: infecção cutânea localizada, caracterizada por uma vesícula cheia de pus sobre uma base eritematosa

Foliculite: impetigo envolvendo o folículo piloso

Furúnculo: nódulos cutâneos cheios de pus, grandes e dolorosos

Carbúnculo: coalescência de furúnculos com extensão nos tecidos subcutâneos e evidência de doença sistêmica (febre, calafrios, bacteremia)

Bacteremia e endocardite: disseminação da bactéria no sangue a partir de um foco de infecção; a endocardite é caracterizada pelo dano no revestimento endotelial do coração

Pneumonia e epiema: consolidação e formação de abscesso nos pulmões; diagnosticada em muitos jovens e em idosos e pacientes com doença pulmonar de base ou recente; uma forma grave de pneumonia necrosante com choque séptico e alta mortalidade vem sendo identificada

Osteomielite: destruição dos ossos, principalmente da área de metáfise nos ossos longos

Artrite séptica: articulações eritematosas doloridas com material purulento nos espaços articulares.

Espécies de Estafilococos Coagulase-Negativos

Infecções de ferida: caracterizadas por eritema e pus no sítio de uma ferida traumática ou cirúrgica; infecções com corpos estranhos podem ser causadas por *S. aureus* e estafilococos coagulase-negativos

Infecções do trato urinário: disúria e piúria em mulheres jovens sexualmente ativas (*S. saprophyticus*), em pacientes com cateteres urinários (outros estafilococos coagulase-negativos) ou seguidos da contaminação do trato urinário por bacteremia (*S. aureus*)

Infecções de cateter ou *shunt*: resposta inflamatória crônica às bactérias que cobrem os cateteres ou *shunt* (mais comumente com estafilococos coagulase-negativos)

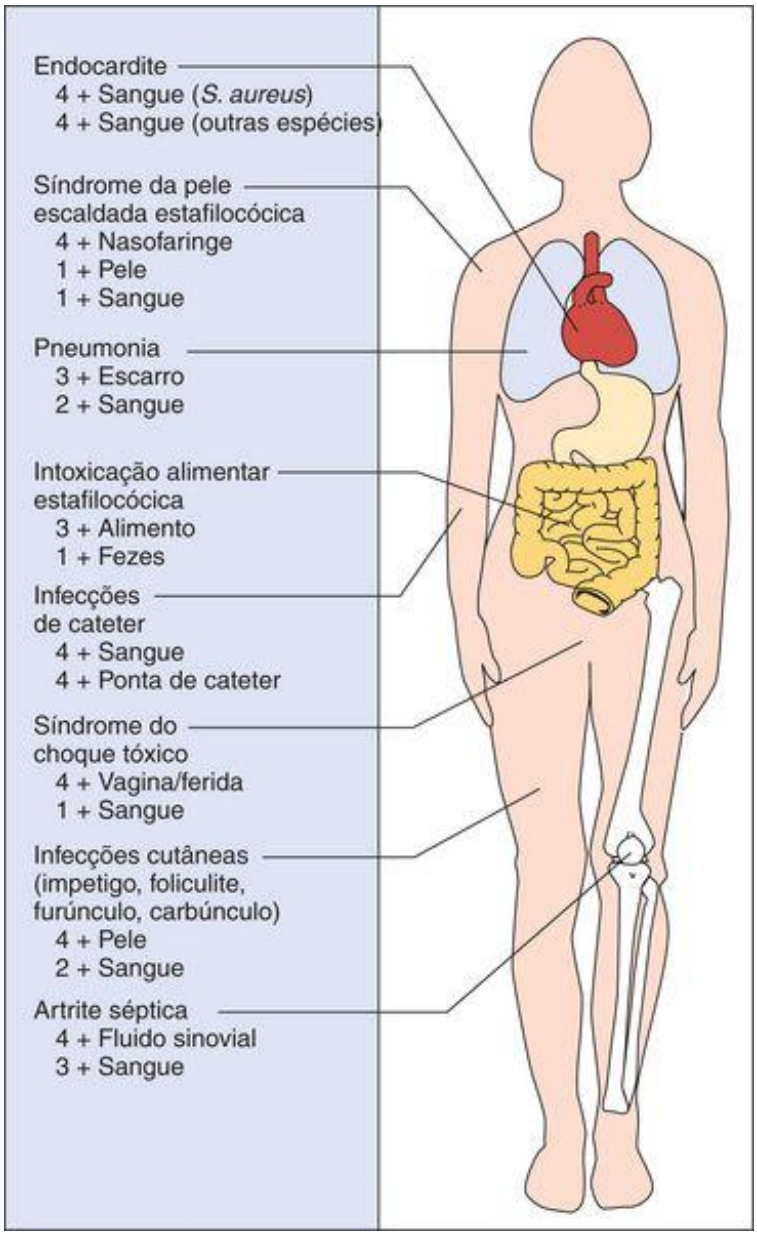


Figura 21-2 Doenças causadas por estafilococos. Isolamento de estafilococos dos sítios de infecção. 1, menos que 10% das culturas positivas; 2, 10% a 50% de culturas positivas; 3, 50% a 90% de culturas positivas, e 4, mais de 90% das culturas positivas.

Síndrome da Pele Escaldada por Estafilococos (SSSS)

Em 1878, Gottfried Ritter von Rittershain descreveu 297 crianças com menos de 1 mês de idade, que tinham dermatite esfoliativa bolhosa. A doença que ele descreveu, agora chamada **doença de Ritter** ou SSSS, é caracterizada pelo aparecimento abrupto de um eritema perioral localizado (vermelhidão e inflamação ao redor da boca), que se espalha pelo corpo inteiro em dois dias. Uma leve pressão desloca a pele (um sinal de Nikolsky positivo) e grandes bolhas ou **vesículas cutâneas** consequentemente se formam, seguidas pela descamação da epiderme (Fig. 21-3). As vesículas contêm um fluido claro, mas nenhum organismo nem leucócitos estão presentes. Esta observação é consistente com o fato da doença ser causada pela toxina bacteriana. O epitélio se torna intacto novamente dentro de 7 a 10 dias, quando os anticorpos contra a toxina aparecem. A doença não deixa cicatriz porque somente a camada superior da pele é descamada. Esta é uma doença principalmente de neonatos e crianças pequenas, com taxa de mortalidade menor que 5%. A morte pode ocorrer como resultado de infecções bacterianas secundárias em áreas desnudas da pele. A infecção em adultos ocorre em pacientes imunocomprometidos ou pacientes com doença renal e a taxa de mortalidade é alta, cerca de 60%.

Figura 21-3 Síndrome da pele escaldada estafilocócica

(Mandell, et al: Principles and Practice of Infectious Disease, 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2004.)

O **impetigo bolhoso** é uma forma localizada de SSSS. Nesta síndrome, cepas específicas de *S. aureus* produtores de toxina (p. ex., fagotipo 71) estão associadas à formação de bolhas superficiais na pele (Fig. 21-4). Diferentemente dos pacientes com manifestação disseminada de SSSS, os pacientes com impetigo bolhoso apresentam bolhas localizadas que são positivas quando se faz a cultura bacteriana. O eritema não se estende para o exterior da borda da bolha e os sinais de Nikolsky não estão presentes. A doença

ocorre principalmente em bebês e crianças pequenas e é altamente contagiosa.

Figura 21-4 Impetigo bolhoso, uma forma localizada de síndrome da pele escaldada por estafilococos.

(De Emond RT, Rowland HAK: A Color Atlas of Infectious Disease. London, Wolfe, 1987.)

Intoxicação Alimentar por Estafilococos (Caso Clínico 21-1)

A intoxicação alimentar por estafilococos, uma das principais causas de doença transmitida por alimentos, é uma **intoxicação** e não uma infecção. A doença é causada pela toxina bacteriana presente no alimento e não pela ação direta do microrganismo no paciente. Os alimentos mais comumente contaminados são **carnes processadas** como o presunto e carne de porco salgada, **massas recheadas com cremes, salada de batata** e **sorvete**. O crescimento de *S. aureus* em carnes salgadas é consistente com a habilidade de este organismo crescer na presença de altas concentrações de sal. Contrariamente a outras formas de intoxicação alimentar, nas quais um reservatório animal é importante, a intoxicação alimentar por estafilococos resulta da contaminação do alimento por um portador humano. Embora a contaminação possa ser evitada, evitando-se também que indivíduos com uma infecção óbvia por estafilococos preparem alimentos, aproximadamente metade das infecções se originam de portadores com colonização assintomática na nasofaringe. Após o estafilococo ter sido introduzido no alimento (através de um espirro ou mão contaminada), o alimento deve permanecer na temperatura ambiente ou ainda mais quente, para que o microrganismo cresça e libere a toxina. O alimento contaminado não apresenta aparência nem sabor de alimento estragado. O subsequente aquecimento do alimento irá matar as bactérias, mas não inativa a **toxina termoestável**.

Caso Clínico 21-1 Intoxicação Alimentar por Estafilococos

Um relato publicado no CDC *Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR 46: 1189-1191, 1997) ilustra muitas características importantes da intoxicação alimentar por estafilococos. Um total de 18 indivíduos que estavam participando de uma festa de aposentados sentiram-se doentes 3 a 4 horas após a refeição. Os sintomas mais comuns eram náusea (94%), vômito (89%) e diarreia (72%). Relativamente, poucos indivíduos tiveram febre ou cefaleia (11%). Os sintomas duraram em média 24 horas. A doença foi associada à

ingestão de presunto na festa. Uma amostra de presunto cozido foi positiva para a enterotoxina estafilocócica tipo A. Um dos preparadores dos alimentos havia cozinhado o presunto em casa, transportado para o seu local de trabalho, fatiado enquanto ainda estava quente e então refrigerado em um recipiente grande de plástico coberto com uma folha de papel alumínio. O presunto foi servido frio no dia seguinte. O cozimento do presunto mataria qualquer *S. aureus* contaminante. Sendo assim, é provável que o presunto tenha sido contaminado após ter sido cozido. A demora na refrigeração e o fato de que o presunto foi estocado em um único recipiente permitiu que os microrganismos se proliferassem e produzissem enterotoxina. A toxina tipo A é a mais comum associada à doença humana. O início rápido e a curta duração dos sintomas de náusea, vômito e diarreia são típicos desta doença. Devem ser tomados cuidados para evitar a contaminação de carnes salgadas como o presunto, pois o reaquecimento posterior do alimento não inativará a toxina termo-estável.

Após a ingestão do alimento contaminado, o início da doença é abrupto e rápido, com um período médio de incubação de quatro horas, o que é novamente consistente com uma doença mediada por toxina pré-formada. Além do mais, a toxina não é produzida pelos estafilococos ingeridos, assim a doença apresenta um curso rápido, com os sintomas geralmente durando menos de 24 horas. O vômito grave, diarreia e dor abdominal ou náuseas são características da intoxicação por estafilococos. Suores e cefaleia também podem ocorrer, mas não há febre. A diarreia é aquosa e não sanguinolenta e pode ocorrer desidratação em decorrência da considerável perda de fluido.

Os microrganismos produtores de toxina podem ser cultivados a partir do alimento contaminado, se estes não foram mortos durante o preparo do alimento. A enterotoxina é termoestável e, por isto, o alimento contaminado pode ser testado para a toxina em um serviço de saúde pública; no entanto, estes testes raramente são realizados.

O tratamento é para o alívio da dor abdominal e da diarreia e para a reposição dos fluidos. Não é indicada terapia antibiótica, pois como já foi dito, a doença é mediada pela toxina pré-formada e não pela replicação dos organismos. Anticorpos neutralizadores da toxina podem ser protetores e ocorre uma proteção cruzada limitada entre as diferentes enterotoxinas. Um segundo episódio de intoxicação alimentar por estafilococos pode ocorrer devido à imunização de curta duração, principalmente com enterotoxinas sorologicamente distintas.

Certas cepas de *S. aureus* podem também causar **enterocolite**, que se manifesta clinicamente por diarreia aquosa, dor abdominal e febre. A maioria das cepas que produzem esta doença produz tanto a enterotoxina A como a leucocidina bicomponente LukE/LukD. A enterocolite ocorre principalmente em pacientes que receberam antibióticos de amplo espectro, os quais suprimem a flora normal do cólon permitindo o crescimento de *S. aureus*. O diagnóstico da enterocolite por estafilococos pode ser confirmado somente após as causas mais comuns de infecções terem sido excluídas (p. ex., colite por *Clostridium difficile*). Uma quantidade abundante de estafilococos está tipicamente presente nas fezes de pacientes afetados e as bactérias Gram negativas normais estão ausentes. São observados leucócitos fecais e placas brancas com ulceração são vistas na mucosa do cólon.

Síndrome do Choque Tóxico (TSS; Caso Clínico 21-2)

O primeiro surto desta doença ocorreu em 1928 na Austrália, quando 21 crianças desenvolveram a doença, 12 das quais morreram após receberem uma vacina contaminada com *S. aureus*. Cinquenta anos mais tarde, J.K. Todd observou o que ele chamou de **síndrome do choque tóxico**, em sete crianças com doença sistêmica. Os primeiros relatos de TSS em mulheres menstruadas foram publicados no verão de 1980. Estes relatos foram seguidos por um dramático aumento na incidência de TSS, principalmente em mulheres. Subsequentemente foi descoberto que as amostras de *S. aureus* produtoras de TSST-1 poderiam se multiplicar rapidamente em tampões hiperabsorventes e liberar toxina. Após a retirada do mercado destes tampões, a incidência da doença principalmente em mulheres menstruadas, diminuiu rapidamente. Hoje em dia, menos de 150 casos de TSS são relatados anualmente nos Estados Unidos. Embora tenha sido relatado originalmente que os

estafilococos coagulase-negativos poderiam causar TSS, acredita-se agora que esta doença seja restrita ao *S. aureus*.

Caso Clínico 21-2 Síndrome do Choque Tóxico por Estafilococos

Todd et al. (Lancet 2: 1116-1118, 1978) foram os primeiros investigadores a descreverem uma doença pediátrica que denominaram "síndrome do choque tóxico". Este paciente ilustra o curso clínico desta doença. Uma menina de 15 anos de idade foi admitida no hospital com história de dois dias de faringite e vaginite associadas a vômito e diarreia aquosa. Na admissão ela estava febril e hipotensiva, com erupções eritematosas difusas no corpo inteiro. Os testes laboratoriais foram consistentes com acidose, oligúria e coagulação intravascular disseminada, com trombocitopenia grave. Sua radiografia torácica mostrou infiltrados bilaterais sugestivos de "pulmão de choque". Ela foi admitida na unidade de tratamento intensivo, onde foi estabilizada e melhorou gradativamente até o 17° dia. No terceiro dia iniciou-se uma descamação fina em seu rosto, tronco e extremidades, que progrediu às palmas das mãos e solas dos pés no 14° dia. Todas as culturas foram negativas, exceto as da garganta e da vagina, que foram isolados *S. aureus*. Este caso ilustra a apresentação inicial da TSS, a toxicidade multiórgão e o prolongado período de recuperação.

A doença é iniciada com o crescimento localizado da cepa de *S. aureus* produtora de toxina na vagina ou em uma ferida, seguido pela liberação da toxina na corrente sanguínea. A produção da toxina requer uma atmosfera anaeróbia e um pH neutro. As manifestações clínicas se iniciam abruptamente e incluem febre, hipotensão e um prurido eritematoso macular difuso. Múltiplos sistemas (p. ex., nervoso central, gastrointestinal, hematológico, hepático, muscular, renal) são envolvidos. Além disso, a pele inteira, incluindo as palmas das mãos e as solas dos pés, descama (Fig. 21-5). Uma forma particular da síndrome do choque tóxico é a **púrpura fulminante**. Esta doença é caracterizada por lesões púrpuras amplas na pele, febre, hipotensão e coagulação intravascular disseminada. Previamente, a púrpura fulminante foi associada a infecções devastadoras por *Neisseria meningitidis*.

Figura 21-5 Síndrome do choque tóxico. É mostrado um caso de infecção fatal com envolvimento cutâneo e de tecidos moles.

À medida que a etiologia e a epidemiologia dessa doença se tornaram mais bem compreendidas, a taxa de fatalidade inicialmente alta tem decrescido a aproximadamente 5%. No entanto, a menos que o paciente seja tratado especificamente com um antibiótico eficiente, o risco de doença recorrente é de 65%. Estudos sorológicos demonstraram que mais de 90% dos adultos apresentam anticorpos contra a TSST-1; no entanto, mais de 50% dos pacientes com TSS não desenvolvem anticorpos protetores depois que a doença é curada. Estes pacientes não protegidos estão em risco significativo para a **doença recorrente**.

Infecções Cutâneas

A s **infecções estafilocócicas piogênicas** localizadas incluem impetigo, foliculite, furúnculos e carbúnculos. O **impetigo**, uma infecção superficial que afeta principalmente crianças pequenas, ocorre principalmente na face e nos membros. Inicialmente é observada uma pequena mácula (um ponto vermelho aplainado) e, então, se desenvolve uma vesícula cheia de pus (pústula) sobre uma base eritematosa. Uma crosta se forma após o rompimento da vesícula. São comuns múltiplas vesículas em diferentes estágios de desenvolvimento, levando à disseminação secundária da infecção aos sítios adjacentes da pele (Fig. 21-6). O impetigo é geralmente causado por *S. aureus*, embora estreptococos do grupo A, sozinho ou com *S. aureus*, seja responsável por 20% dos casos.

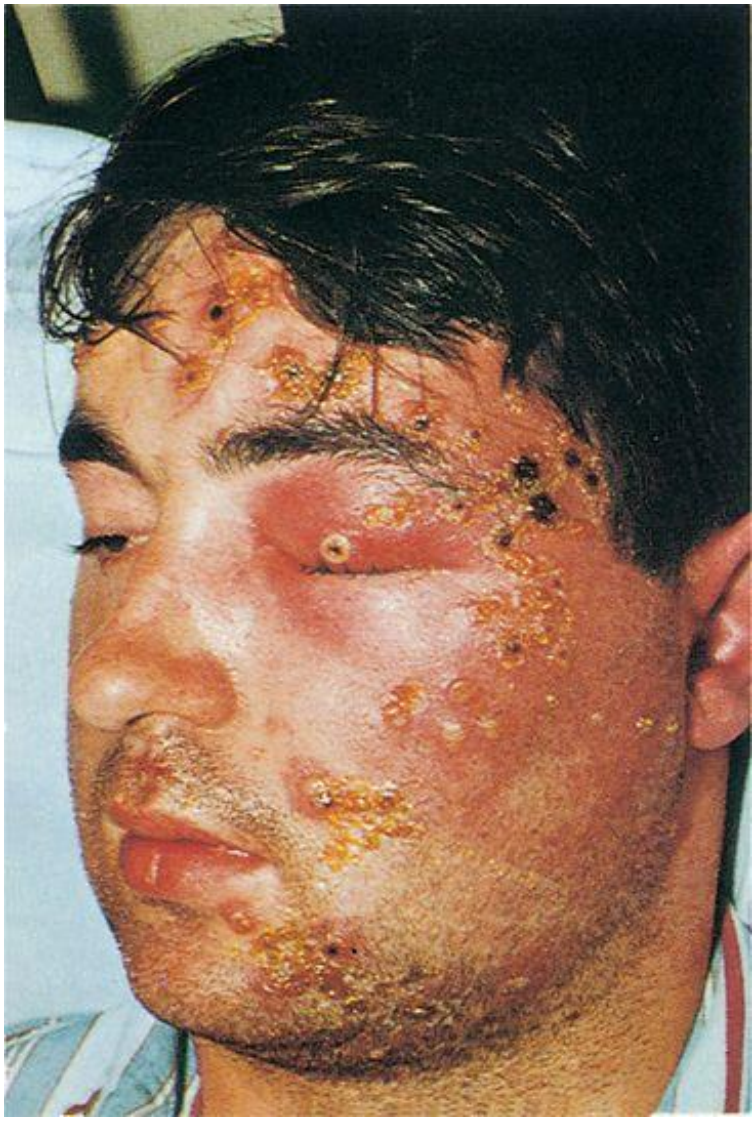


Figura 21-6 Impetigo pustular. Vesículas em diferentes estágios de desenvolvimento, incluindo vesículas cheias de pus sobre uma base eritematosa e lesões secas com crosta.

(De Emond RT, Rowland HAK: A Color Atlas of Infectious Disease. London, Wolfe, 1987.)

A **foliculite** é uma infecção piogênica no folículo piloso. A base do folículo é elevada e avermelhada, e é observada uma pequena quantidade de pus embaixo da superfície da epiderme. Se esta infecção ocorre na base da pálpebra, é chamada de **terçol**. Os **furúnculos** (espinhas), uma extensão da foliculite, são nódulos grandes, doloridos e elevados que apresentam um conjunto de tecido necrótico e morto. Os furúnculos podem drenar espontaneamente ou após uma incisão cirúrgica.

Os **carbúnculos** ocorrem quando os furúnculos coalescem e se expandem para o tecido subcutâneo mais profundo (Fig. 21-7). Múltiplas fístulas estão usualmente presentes. Diferentemente dos pacientes com foliculite ou furúnculos, os pacientes com carbúnculo apresentam calafrios e febre, o que indica a disseminação sistêmica via bacteremia para outros tecidos.

Figura 21-7 Carbúnculo por *Staphylococcus aureus*. Este carbúnculo se desenvolveu na nádega durante um período de 7 a 10 dias e necessitou de drenagem cirúrgica juntamente com terapia antibiótica

(De Cohen J, Powderly WG: Infectious Disease, 2nd ed vol. 2. St Louis, Mosby, 2004.)

As **infecções de ferida** por estafilococos também podem ocorrer em pacientes, após um procedimento cirúrgico ou após trauma com microrganismos, que colonizam a pele e são introduzidos na ferida. Geralmente, os estafilococos não são capazes de estabelecer uma infecção em indivíduos imunocompetentes, a menos que um corpo estranho (p. ex., suturas, farpas, sujeira) esteja presente na ferida. As infecções são caracterizadas por edema, eritema, dor e acúmulo de material purulento. A infecção é facilmente controlada quando a ferida é reaberta, o material estranho removido e a secreção purulenta drenada. Se febre e mal-estar forem observados ou se a ferida não cicatrizar emresposta ao controle localizado, é indicada a terapia antibiótica para *S. aureus*.

Com a disseminação das cepas de MRSA na comunidade, estes organismos se tornaram a causa mais comum de infecções de pele e tecidos moles, em pacientes que procuram os departamentos de emergência dos hospitais nos Estados Unidos. Este problema é complicado pelo fato destes pacientes serem inicialmente tratados com penicilinas, cefalosporinas ou com outros antibióticos igualmente ineficazes.

Bacteremia e Endocardite (Caso Clínico 21-3).

S. aureus é uma causa comum de **bacteremia**. Embora as bacteremias causadas pela maioria dos outros microrganismos se originem de um foco de infecção identificado, tais como infecções dos pulmões, trato urinário ou trato gastrointestinal, os focos iniciais de infecção em aproximadamente um terço dos pacientes com bacteremias por *S. aureus* não são conhecidos. É muito provável que a infecção se espalhe para o sangue a partir de uma infecção de pele aparentemente inócua. Mais de 50% dos casos de bacteremia por *S. aureus* são adquiridos no hospital, após um procedimento cirúrgico ou como resultado da utilização continuada de um cateter intravascular contaminado. As bacteremias por *S. aureus*, principalmente os episódios prolongados, estão associadas à disseminação para outros sítios

anatômicos, incluindo o coração.

Caso Clínico 21-3 Endocardite por *Staphylococcus aureus*

Chen e Li (*N Engl J Med* 355: e27, 2006) descreveram o caso de uma mulher com 21 anos de idade com uma história de abuso de drogas por via intravenosa e uma contagem de CD4 de 400 células/mm^3, que desenvolveu endocardite por *S. aureus*. A paciente tinha história de uma semana de febre, dor torácica e hemoptise. O exame físico revelou murmúrio pansistólico 3/6 e ronco em ambos os pulmões. Foram observadas múltiplas lesões cavitárias bilaterais na radiografia de tórax, e as culturas de sangue e escarro foram positivas para *S. aureus* suscetível à meticilina. A paciente foi tratada com oxacilina por 6 semanas, curando assim a endocardite e os abscessos pulmonares. Este caso ilustra o início agudo da endocardite por *S. aureus* e a frequência das complicações causadas por embolia séptica.

A **endocardite** aguda causada por *S. aureus* é uma doença grave, com uma taxa de mortalidade de aproximadamente 50%. Embora pacientes com endocardite por *S. aureus* possam inicialmente apresentar sintomas não específicos, semelhantes aos sintomas da gripe, sua condição se deteriora rapidamente e inclui distúrbios do débito cardíaco e evidências de embolia séptica. O prognóstico do paciente é ruim, a menos que sejam instituídas imediatamente intervenções médicas e cirúrgicas apropriadas. Uma exceção a isto é a endocardite por *S. aureus* em usuários de fármacos parenterais, nos quais a doença normalmente envolve o lado direito do coração (válvula tricúspede) preferencialmente ao esquerdo. Os sintomas iniciais podem ser brandos, mas geralmente estão presentes febre, calafrios e dor pleural causada pela embolia pulmonar. A cura clínica da endocardite é uma regra, embora seja comum ocorrerem complicações como a disseminação da infecção para outros órgãos.

Pneumonia e Empiema

A doença respiratória por *S. aureus* pode se desenvolver após a aspiração de secreções orais ou pela disseminação hematogênica, a partir de um sítio distante. A **pneumonia por aspiração** é vista principalmente em jovens, idosos e em pacientes com fibrose cística, gripe, doença pulmonar obstrutiva crônica e bronquestasia. A manifestação clínica e radiográfica da pneumonia não são características. O exame radiográfico revela a presença de infiltrados desiguais com consolidação, ou abscessos que são consistentes com a habilidade do organismo secretar toxinas citotóxicas e enzimas, e formar abscessos localizados. A **pneumonia hematogênica** é comum em pacientes com bacteremia ou endocardite. O MRSA adquirido na comunidade é responsável por uma forma grave de **pneumonia necrosante** com hemoptise maciça, choque séptico e uma alta taxa de mortalidade. Embora esta doença seja relatada mais comumente em crianças e adultos jovens, ela não é restrita a estes grupos etários.

O **empiema** ocorre em 10% dos pacientes com pneumonia e *S. aureus* é responsável por um terço de todos os casos. Pelo fato do microrganismo tornar-se consolidado em áreas compartimentalizadas, a drenagem do material purulento é algumas vezes difícil.

Osteomielite e Artrite Séptica

A **osteomielite** por *S. aureus* pode levar uma disseminação hematogênica para o osso, ou pode ser uma infecção secundária, que resulta do trauma ou da extensão de uma doença da área adjacente. A disseminação hematogênica em crianças resulta geralmente de uma infecção cutânea estafilocócica e usualmente envolve a área da metáfise dos ossos longos, uma área altamente vascularizada de crescimento ósseo. A infecção é caracterizada pelo aparecimento abrupto de dor localizada sobre o osso envolvido e por febre alta. As culturas sanguíneas são positivas em 50% dos casos.

A osteomielite hematogênica que é vista em adultos ocorre comumente na forma de osteomielite vertebral e raramente na forma de uma infecção dos ossos longos. Uma dor intensa nas costas e febre é o sinal inicial. A evidência radiográfica de osteomielite em crianças e adultos não é vista até 2 a 3 semanas após o aparecimento dos sintomas iniciais. **Abscesso de Brodie** é um foco de osteomielite que surge na metáfise de um osso longo e ocorre em adultos. A osteomielite que ocorre após trauma ou procedimento cirúrgico é geralmente acompanhada por inflamação e drenagem purulenta, a partir de uma ferida ou uma fístula que cobre o osso infectado. Pelo fato da infecção estafilocócica poder ser restrita à ferida, o isolamento do organismo deste sítio não é uma evidência conclusiva de envolvimento ósseo. A cura da osteomielite estafilocócica é excelente quando são utilizadas a antibioticoterapia apropriada e a cirurgia.

S. aureus é a principal causa de **artrite séptica** em crianças pequenas e adultos, que estejam recebendo injeções intra-articulares ou que possuam juntas com anormalidade mecânica. O envolvimento secundário de múltiplas juntas é indicativo de disseminação hematogênica a partir de um foco localizado. *S. aureus* é substituído por *Neisseria gonorrhoeae* como a causa mais comum de artrite séptica em indivíduos sexualmente ativos. A artrite estafilocócica é caracterizada por uma junta eritematosa, dolorida, com material purulento obtido por aspiração. A infecção é geralmente demonstrada nas juntas grandes (p. ex., ombro, joelho, quadril e cotovelo). O prognóstico em crianças é excelente, mas em adultos depende da natureza da doença de base e da ocorrência de complicações por infecção secundária.

Staphylococcus epidermidis e Outros Estafilococos Coagulase-Negativos

Endocardite (Caso Clínico 21-4)

S. epidermidis, S. lugdunensis e estafilococos coagulase-negativos relacionados podem infectar válvulas cardíacas nativas ou prostéticas. Acredita-se que a infecção na válvula nativa resulte da inoculação do organismo em uma válvula cardíaca danificada (p. ex., má-formação congênita, dano resultante de doença cardíaca reumática). ***S. lugdunensis*** é a espécie de estafilococos frequentemente associada à endocardite de válvulas nativas, embora essa doença seja mais comumente causada por estreptococos.

Caso Clínico 21-4 Endocardite causada por *Staphylococcus lugdunensis*

Seenivasan e Yu (*Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22: 489-491, 2003) descreveram um relato típico de endocardite de válvula nativa causada por *S. lugdunensis*, um *Staphylococcus* coagulase-negativo com predileção por causar endocardite. Uma mulher de 36 anos de idade, usuária ativa de cocaína, apresentou enfraquecimento agudo nas extremidades direitas. Relatou febre com calafrios, mal-estar e respiração curta nas 10 semanas precedentes. Na admissão hospitalar, apresentava taquicardia, hipotensão, temperatura de 39°C, murmúrio pansistólico e hemiparesia direita. A tomografia computadorizada do cérebro revelou um grande infarto nos gânglios basais esquerdos. Quatro culturas de sangue foram positivas para *S. lugdunensis*. A amostra bacteriana era resistente à penicilina e suscetível a todos os outros antibióticos testados. Pelo fato de a paciente apresentar alergia à penicilina, foi iniciado tratamento com vancomicina e gentamicina. A paciente tornou-se afebril em três dias e culturas sanguíneas subsequentes foram negativas. A gentamicina foi descontinuada após uma semana e a paciente recebeu seis semanas de terapia com vancomicina. Durante os sete meses seguintes, a paciente desenvolveu uma regurgitação mitral progressiva e precisou substituir a válvula mitral. *S. lugdunensis* é mais virulento comparado aos outros estafilococos coagulase-negativos e causa doença mais comumente em válvulas cardíacas nativas; complicações secundárias (p. ex., um enfarte do cérebro causado por embolia séptica) são frequentemente relatadas.

Ao contrário, os estafilococos são as principais causas de **endocardite de válvulas artificiais**. O organismo é introduzido no momento da substituição da válvula e a infecção característica tem um curso indolente, com sinais clínicos e sintomas desenvolvendo-se após um ano do procedimento. Embora a válvula cardíaca possa ser infectada, a infecção normalmente ocorre no sítio onde a válvula é implantada, no tecido cardíaco. Deste modo, infecção com formação de abscesso pode levar à separação da válvula na linha de sutura e à falha mecânica do coração. O prognóstico é cauteloso para os pacientes que apresentam esta infecção e o controle médico e cirúrgico são decisivos.

Infecções de Cateter e *Shunts*

Mais de 50% de todas as infecções de cateter e *shunts* são causadas por estafilococos coagulase-negativos. Estas infecções tornaram-se um grande problema médico porque cateteres e *shunts* de longa duração são comumente usados para o controle médico de pacientes gravemente doentes. Os estafilococos coagulase-negativos se adaptam bem como agentes causadores destas infecções. Eles produzem uma camada polissacarídica que os ligam aos cateteres e *shunts* e os protegem dos antibióticos e das células inflamatórias. Uma bacteremia persistente é geralmente observada em pacientes com infecções de *shunts* e cateteres, uma vez que os organismos têm contínuo acesso ao sangue. A glomerulonefrite

mediada por complexos imunes ocorre em pacientes com doença de longa duração.

Infecções das Articulações Prostéticas

As infecções das articulações artificiais, principalmente do quadril, podem ser causadas por estafilococos coagulase-negativos. O paciente usualmente experimenta somente uma dor localizada e falha mecânica da junta. Os sinais sistêmicos como febre e leucocitose não são proeminentes, e as culturas sanguíneas são usualmente negativas. O tratamento consiste na substituição da articulação e na terapia antimicrobiana. O risco de infecção recorrente da nova articulação é consideravelmente aumentado em tais pacientes.

Infecções do Trato Urinário

S. saprophyticus tem predileção por causar infecções do trato urinário em mulheres jovens sexualmente ativas e raramente é responsável por infecções em outros pacientes. Este patógeno não é frequentemente encontrado como colonizador assintomático do trato urinário. A mulher infectada por *S. saprophyticus* usualmente apresenta disúria (dor ao urinar), piúria (pus na urina) e numerosos organismos na urina. Tipicamente, os pacientes respondem rapidamente aos antibióticos e a infecção recorrente não é comum.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Os estafilococos são **cocos Gram positivos** que formam **aglomerados** quando crescem em meios contendo agar, mais comumente aparecem como células únicas ou pequenos grupos de organismos em espécimes clínicos. O sucesso da detecção destes organismos em espécimes clínicos depende do tipo de infecção (p. ex., abscesso, bacteremia e impetigo) e a qualidade do material submetido à análise. Se um clínico raspar a base de um abscesso com um *swab* ou cureta, uma abundância de microrganismos deve ser visualizada no espécime corado pelo método de Gram. O pus aspirado consiste principalmente de material necrótico com relativamente poucos organismos, sendo assim, estas espécimes não são úteis. Normalmente, poucos organismos estão presentes no sangue de pacientes com bacteremia (uma média de menos de um organismo por mililitro de sangue). Assim, espécimes sanguíneos devem ser cultivados, mas não corados. Os estafilococos são vistos na nasofaringe de pacientes com SSSS e na vagina de pacientes com TSS. Porém, estes estafilococos não podem ser distinguidos dos organismos que normalmente colonizam estes sítios. O diagnóstico destas doenças é feito pela apresentação clínica do paciente, com o isolamento de *S. aureus* em cultura confirmatória. Os estafilococos são relacionados à intoxicação alimentar pela apresentação clínica do paciente (p. ex., início rápido de vômito e dor abdominal) e pela história de ingestão de algum alimento específico (p. ex., presunto salgado). A coloração pelo método de Gram do alimento ou das fezes do paciente geralmente não é útil.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes comerciais de amplificação de ácidos nucleicos são disponíveis para a detecção direta e identificação de *S. aureus* em espécimes clínicos. Pelo fato dos estafilococos crescerem rapidamente em cultura, estes testes são utilizados principalmente para detectar estafilococos resistentes à oxacilina em culturas de vigilância (p. ex., triagem de pacientes com colonização nasal por organismos resistentes).

Cultura

Os espécimes clínicos devem ser inoculados em meio contendo agar nutricionalmente enriquecido e suplementado com sangue de carneiro. Os estafilococos crescem rapidamente em meios não seletivos incubados aerobicamente ou anaerobicamente, apresentando colônias grandes e lisas vistas em 24 horas (Fig. 21-8). Como apresentado anteriormente, as colônias de *S. aureus* irão gradualmente tornar-se **amarelas**, principalmente quando as culturas são incubadas à temperatura ambiente. Quase todas as cepas de *S. aureus* e algumas de estafilococos coagulase-negativos produzem hemolisinas na placa de agar, contendo sangue de carneiro. A hemólise é causada por citotoxinas, principalmente a toxina alfa. Se há uma mistura de organismos na espécime clínica (p. ex., espécimes de feridas ou espécime respiratório), *S. aureus* pode ser isolado seletivamente em diferentes meios, incluindo o **agar manitol salgado**, o qual é suplementado com manitol (fermentado pelo *S. aureus*, mas não pela maioria dos outros estafilococos) e 7,5% de cloreto de sódio (inibe o crescimento da maioria dos outros organismos).

Figura 21-8 *Staphylococcus aureus* crescido em placa contendo agar sangue de carneiro. Colônias grandes e β-hemolíticas.

Identificação

Testes bioquímicos relativamente simples (p. ex., reações positivas para a **coagulase**, proteína A, nuclease termoestável e fermentação do manitol) podem ser usados para identificar *S. aureus*. A identificação dos estafilococos coagulase-negativos é mais complexa e requer o uso de sistemas comerciais de identificação, ou a detecção de genes espécie-específicos por técnicas de sequenciamento de ácidos nucleicos. As colônias que se assemelham a *S. aureus* são identificadas na maioria dos laboratórios misturando-se a suspensão do microrganismo com uma gota de plasma e observando a aglomeração dos organismos (teste positivo da coagulase). Alternativamente, o plasma colocado em um tubo de ensaio pode ser inoculado com o organismo e examinado em 4 e 24 horas para a formação de um coágulo (teste positivo em tubo da coagulase). Estes testes da coagulase não podem ser realizados quando os estafilococos são inicialmente detectados em cultura (p. ex., uma cultura em caldo com sangue) ou em um espécime clínico. Este problema de diferenciar *S. aureus* dos estafilococos coagulase-negativos foi resolvido com o desenvolvimento comercial de um novo método de **hibridização fluorescente *in situ* (FISH)**. Sondas artificiais marcadas com substâncias fluorescentes ligam-se especificamente ao *S. aureus* e são detectadas no microscópio de fluorescência.

Perfis de suscetibilidade aos antibióticos (antibiogramas), perfis bioquímicos (biotipagem), suscetibilidade aos bacteriófagos (fagotipagem) e análise dos ácidos nucleicos podem ser usados por questões epidemiológicas para caracterização intraespécie das cepas. A análise genômica do ácido desoxirribonucleico (DNA) por eletroforese em campos alternados ou técnicas similares evoluiu rapidamente para ser a maneira mais sensível de caracterizar cepas ao nível de subespécie e é o método atualmente usado na maioria dos laboratórios clínicos e de pesquisa.

Detecção de Anticorpos

Os anticorpos contra os ácidos teicoicos da parede celular estão presentes em muitos pacientes com infecções duradouras por *S. aureus*. No entanto, este teste foi descontinuado na maioria dos hospitais porque é menos sensível do que a cultura e testes baseados em ácidos nucleicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os estafilococos desenvolveram rapidamente resistência aos fármacos após a penicilina ter sido introduzida e, hoje, menos de 10% das cepas são suscetíveis a este antibiótico. Esta resistência é mediada por **penicilinase** (β-lactamase específica para a penicilina), a qual hidrolisa o anel β-lactâmico da penicilina. A informação genética que codifica a produção desta enzima é carreada em plasmídios transmissíveis, que facilitaram a rápida disseminação da resistência entre os estafilococos. Por causa do problema com os estafilococos resistentes à penicilina, **penicilinas semissintéticas** resistentes à hidrólise pelas β-lactamases (p. ex., meticilina, nafcilina, oxacilina, dicloxacilina) foram desenvolvidas. Porém, os estafilococos desenvolveram resistência a estes antibióticos. Atualmente, a maioria das cepas de *S. aureus* responsáveis por infecções adquiridas no hospital ou na comunidade é resistente a estas penicilinas semissintéticas. Infelizmente, estas cepas de MRSA são resistentes a todos os antibióticos β-lactâmicos (*i.e.*, penicilinas, cefalosporinas, e carbapenemas). Nem todas as bactérias em uma população resistente podem expressar sua resistência em testes de suscetibilidade tradicionais (**resistência heterogênea**). Consequentemente, o método definitivo para identificar uma cepa resistente é a detecção do gene *mec*A que codifica a proteína PBP2′que se liga à penicilina, conferindo a resistência (Fig. 21-9). A **vancomicina** intravenosa é o tratamento de escolha para as infecções por MRSA em pacientes hospitalizados. Antibióticos orais que podem ser utilizados em pacientes não hospitalizados incluem a **clindamicina, sulfametoxazol-trimetoprim** ou **doxiciclina**.

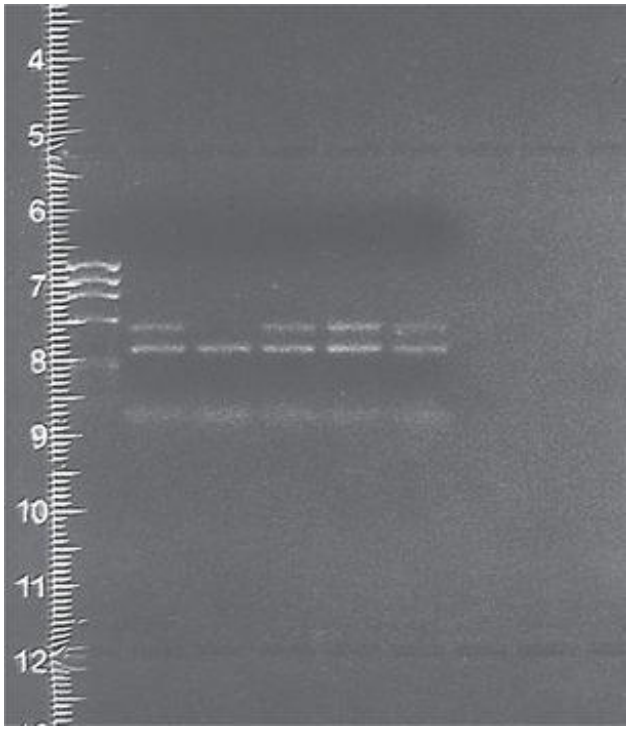


Figura 21-9 Análise do gene *mec*A pela reação em cadeia da polimerase (PCR). A primeira coluna é um marcador de tamanho molecular; a segunda e a terceira colunas são controles positivo e negativo, respectivamente; as últimas três colunas são cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de três pacientes. Todos os três pacientes apresentaram o gene *mec*A sendo estas amostras consequentemente resistentes a oxacilina, penicilinas, cefalosporinas, carbapenens e todos antibióticos β lactâmicos.

Os estafilococos têm demonstrado uma notável habilidade para desenvolver resistência à maioria dos antibióticos. Até recentemente, o único antibiótico que permanecia uniformemente ativo contra estafilococos era a vancomicina, antibiótico atual de escolha para tratar infecções

sérias causadas por estafilococos resistentes à meticilina. Infelizmente, cepas de *S. aureus* que apresentam duas formas de **resistência à vancomicina** foram encontradas. A resistência em baixos níveis é observada em cepas de *S. aureus* com uma parede celular mais densa e mais desorganizada. É postulado que a vancomicina seja apreendida na matriz da parede celular e seja incapaz de alcançar a membrana citoplasmática, onde interromperia a síntese da parede celular. A resistência a altos níveis é mediada pelo operon do gene *van*A, adquirido pelo enterococos resistentes à vancomicina. Estas bactérias apresentam uma camada de peptidoglicano modificada, que não se liga à vancomicina. Atualmente esta resistência é extremamente incomum. No entanto, se estes estafilococos resistentes tornarem-se disseminados, o tratamento com antibióticos destas bactérias altamente virulentas será difícil.

Uma nova estratégia para o tratamento das doenças causadas por estafilococos é o uso de anticorpos monoclonais humanos, direcionados contra o sítio de ligação de proteínas MSCRAMM (proteínas superficiais de adesão), tais como o fator de coagulação de *S. aureus*. Por ser o fator de coagulação um determinante importante para a colonização no sítio de infecção, o impedimento desta ligação é usado com sucesso para tratar infecções por estafilococos em animais. Ainda permanece por ser demonstrado o sucesso desta estratégia em seres humanos.

Os estafilococos são organismos ubíquos, presentes a pele e membranas mucosas e sua introdução através de rachaduras na pele ocorre com frequência. No entanto, o número de organismos requeridos para estabelecer uma infecção (**dose infecciosa**) é geralmente grande, a menos que um corpo estranho (p. ex., sujeira, farpa, suturas) esteja presente na ferida. A limpeza adequada da ferida e a aplicação de um desinfetante apropriado (p. ex., sabonetes germicidas, soluções de iodo e hexaclorofeno) irão prevenir a maioria das infecções em indivíduos saudáveis.

A disseminação dos estafilococos de pessoa a pessoa é mais difícil de evitar. Um exemplo disto são as infecções de feridas cirúrgicas, as quais podem ser causadas por relativamente poucos organismos, uma vez que corpos estranhos e tecidos desvitalizados podem estar presentes. Embora seja viável esterilizar a sala de cirurgia e a equipe que participará da operação, o risco de contaminação durante um processo cirúrgico pode ser minimizado pela lavagem apropriada das mãos e pela cobertura das superfícies expostas da pele. A disseminação dos organismos resistentes à meticilina pode ser difícil de controlar, uma vez que os portadores nasais assintomáticos são a fonte mais comum destes organismos. No entanto, algum sucesso a este respeito tem sido alcançado com o uso de quimioprofilaxia que consiste em vancomicina e rifampicina.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 18 anos de idade caiu sobre seu joelho durante um jogo de basquete. O joelho estava dolorido, mas a pele que recobria o local não estava ferida. O joelho estava inchado e permanecia dolorido no dia seguinte. Por isto, ele foi levado para a emergência local. Um líquido claro foi aspirado do joelho e o clínico prescreveu tratamento sintomático. Dois dias mais tarde, o inchaço voltou, a dor aumentou e um eritema desenvolveu-se sobre o joelho. Pelo fato do paciente se sentir sistemicamente doente e ter uma temperatura de 38,8°C, o mesmo retornou ao departamento de emergência. Foi aspirado um líquido turvo e as culturas do fluido e do sangue foram positivas para *S. aureus*.

1. Cite duas possíveis fontes deste organismo.

1. Este paciente possui artrite séptica causada por *S. aureus*. O organismo pode ter sido introduzido nas juntas por extensão direta da superfície da pele ou por disseminação hematogênica. Embora a bacteremia transitória causada por *S. aureus* possa ocorrer, ela não é comum. Portanto, sem evidência de infecção causada por *S. aureus* em outro sítio (exemplo: endocardite), a fonte mais provável deste organismo é a extensão direta da superfície da pele.

Mesmo que a superfície da pele esteja sem lesões, traumas localizados podem introduzir organismos nos tecidos profundos da pele.

2 . *Staphylococcus* causa uma variedade de doenças, incluindo infecções cutâneas, endocardite, intoxicação alimentar, SSSS e TSS. Como os sintomas destas doenças diferem da infecção neste paciente? Quais destas doenças são intoxicações?

2. Doenças estafilocócicas podem ser subdivididas em duas categorias: infecções piogênicas localizadas e infecções disseminadas mediadas por toxinas. Infecções cutâneas (exemplos: impetigo, foliculite, furúnculos, carbúnculos), infecções de feridas, endocardite, pneumonia, epiema, osteomielite e artrite séptica são exemplos de infecções piogênicas localizadas. Cada uma é caracterizada pela destruição de tecidos localizados e pela formação de abscessos. A síndrome da pele escaldada estafilocócica (SSSS), síndrome do choque tóxico (TSS) e intoxicação alimentar estafilocócica são exemplos de infecções mediadas por toxinas. Cada uma caracterizada pela disseminação de sintomas e ausência de purulência.

3. Que toxinas são implicadas nas doenças estafilocócicas? Que enzimas estafilocócicas foram propostas como fatores de virulência?

3 . *S. aureus* produz uma variedade de toxinas potentes. As doenças disseminadas mediadas por toxinas são caracterizadas pela produção de uma toxina específica ou um grupo de toxinas que se espalham sistematicamente no sangue e são responsáveis pelos sintomas clínicos: SSSS – toxina esfoliativa (ETA, ETB), TSS – toxina-1 da síndrome do choque tóxico; alimento contaminado – enterotoxinas (A-E, G-I). Cinco grupos de toxinas citolíticas são responsáveis pela destruição de tecidos característica de infecções estafilocócicas piogênicas: toxina alfa, toxina beta (esfingomielinase C), toxina delta, toxina gama (cinco toxinas bi-componentes diferentes), e Leucocidina Panton-Valentine (PVL). PVL está associada com infecções pulmonares e de feridas fulminantes. Uma variedade de enzimas estafilocócicas também tem sido implicada em doenças, entre elas a coagulase (ligada e livre), catalase, hialuronidase, fibrinolisina (estafiloquinase), lipases, nuclease e beta-lactamases.

4. Quais as estruturas da célula dos estafilococos e quais as toxinas que protegem a bactéria da fagocitose?

4. Os estafilococos são protegidos da fagocitose pelas suas cápsulas; uma camada limosa frouxamente ligada à célula e que consiste em monossacarídeos, proteína e pequenos peptídeos; e proteína A.

5. Qual o antibiótico de escolha para o tratamento das infecções por estafilococos? (Dê exemplos).

5. O tratamento efetivo de infecções estafilocócicas requer uma drenagem de materiais purulentos e antibióticos efetivos. Pelo fato de a resistência aos antibióticos ser comum, testes de sensibilidade aos antimicrobianos devem ser realizados. Quase 90% dos estafilococos produzem beta-lactamases e, por isto, a penicilina G não é efetiva. Penicilinas resistentes à beta-lactamase (exemplo: oxacilina, nafcilina, dicloxacilina) são efetivas e consideradas o tratamento de escolha, se os antibióticos são ativos contra a bactéria. Se a resistência é determinada (lugar-comum em vários hospitais), a vancomicina deverá ser usada para tratar infecções estafilocócicas sérias.

Bibliografia

Boubaker K, et al. Panton-Valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:121-124.

Dinges MM, et al. Exotoxins of Staphylococcus aureus. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:16-34.

Fournier B, Philpott D. Recognition of Staphylococcus aureus by the innate immune system. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:521-540.

Francis J, et al. Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying the Panton-Valentine leukocidin genes. *Clin Infect Dis*. 2005;40:100-107.

Gravet A, et al. Predominant Staphylococcus aureus isolated from antibiotic-associated diarrhea is clinically relevant and produces enterotoxin A and the biocomponent toxin LukE-LukD. *J Clin Microbiol*. 1999;37:4012-4019.

Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. *N Engl J Med*. 1998;339:520-532.

Moran G, et al. Methicillin-resistant S. aureus infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med*. 2006;355:666-674.

Naimi T, et al. Comparison of community- and health-care-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. *J Am Med Assoc*. 2003;290:2976-2984.

Novick RP. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol*. 2003;48:1429-1449.

Pannaraj P, et al. Infective pyomyositis and myositis in children in the era of community-acquired, methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. *Clin Infect Dis*. 2006;43:953-960.

Seenivasan MH, Yu VL. Staphylococcus lugdunensis endocarditis—the hidden peril of coagulase-negative Staphylococcus in blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2003;22:489-491.

Seybold U, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus USA300 genotype as a major cause of health-care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis*. 2006;42:647-656.

Shirtliff ME, Mader JT. Acute septic arthritis. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:527-544.

Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin resistance in staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:430-438.

Stanley J, Amagai M. Pemphigus, bullous impetigo, and the staphylococcal scalded-skin syndrome. *N Engl J Med*. 2006;355:1800-1810.

22 Streptococcus

O gênero *Streptococcus* é formado por diversos **cocos Gram positivos**, dispostos aos **pares ou em cadeias**. A maioria das espécies é anaeróbia facultativa e algumas crescem somente em atmosfera enriquecida com dióxido de carbono (**crescimento capnofílico**). As exigências nutricionais dos estreptococos são complexas, necessitando do uso de meios enriquecidos com sangue ou soro para o isolamento. Fermentam carboidratos, resultando na produção de ácido lático e, ao contrário das espécies de *Staphylococcus*, os estreptococos são **catalase negativos**.

Numerosos estreptococos são reconhecidos como importantes patógenos humanos e os mais comuns estão discutidos neste capítulo (Quadro 22-1). Infelizmente, a diferenciação das espécies dentro do gênero é complicada. Três diferentes esquemas de classificação que se sobrepõem devem ser utilizados para identificar estes microrganismos: (1) propriedades sorológicas: **grupos de Lancefield** (originalmente de A até W), (2) **padrões hemolíticos**: hemólise completa (beta [β]), hemólise incompleta (alfa [α]) e ausência de hemólise (gama [γ]), e (3) **propriedades bioquímicas (fisiológicas)**.

Quadro 22-1 Estafilococos Importantes

Microrganismo	Origem Histórica
Streptococcus	*streptus*, “flexível”; *coccus*, “grão” ou “semente” (grãos ou cocos flexíveis; refere-se à aparência longa e flexível das cadeias de cocos)
S. agalactiae	*agalactia*, “que quer leite” (a cepa isolada originalmente [denominada de *S. mastitidis*] foi responsável por um quadro de mastite bovina)
S. anginosus	*anginosus*, pertencente a “angina”
S. constellatus	*constellatus*, “guarnecido de estrelas” (a cepa originalmente isolada, quando cultivada em profundidade apresentava colônias menores que circundavam uma maior; esta formação satélite não ocorre ao redor de colônias crescidas na superfície de uma placa de agar)
S. dysgalactiae	*dys*, “doente”, “difícil”; *galactia*, pertencente a “leite” (perda da secreção de leite; cepas associadas à mastite bovina)
S. gallolyticus	*gallatum*, “galato”; *lyticus*, “dissolução” (capaz de digerir ou hidrolisar o metil galato)
S. intermedius	*intermedius*, “intermediário” (confusão inicial decorrente da dificuldade para definir se o microrganismo era um aeróbio ou um anaeróbio)
S. mitis	*mitis*, “branda” (acreditava-se, incorretamente, que causavam infecções brandas)
S. mutans	*mutans*, “mudança” (cocos que podem aparecer semelhantes a bacilos, principalmente em culturas decorrentes do isolamento primário)
S. pneumoniae	*pneumon*, de “pulmões” (causa pneumonia)
S. pyogenes	*pyus*, “pus”; *gennaio*, “gerador” ou “produtor” (produtor de pus; tipicamente associado à formação de pus em feridas)
S. salivarius	*salivarius*, “salivar” (encontrado na boca, na saliva)

Rebecca Lancefield desenvolveu o esquema de classificação sorológica em 1933, para diferenciar as cepas β-hemolíticas. A maioria das cepas β-hemolíticas e algumas α-hemolíticas e não hemolíticas possuem antígenos grupo específico, muitos dos quais são **carboidratos da parede celular**. Estes antígenos podem ser identificados por ensaios imunológicos. Estes testes são úteis para a identificação rápida de alguns estreptococos patogênicos importantes. Por exemplo, *Streptococcus pyogenes* (classificado como *Streptococcus* do grupo A no esquema de tipagem de Lancefield) é responsável pela faringite estreptocócica. O antígeno do grupo de Lancefield deste microrganismo pode ser detectado por imunoensaios rápidos, realizados diretamente a partir de espécimes de orofaringe coletadas com *swabs*. Este teste diagnóstico é comum nos hospitais e consultórios médicos. Atualmente, o esquema de tipagem de Lancefield é utilizado para poucas espécies de estreptococos (p. ex., as que pertencem aos grupos A, B, C, F e G). A maioria dos estreptococos α-hemolíticos e não hemolíticos não possui antígeno de parede celular grupo específico. Estes microrganismos são identificados por testes bioquímicos. Infelizmente, os esquemas de classificação não são mutuamente exclusivos. Os membros do grupo *Streptococcus anginosus*, por exemplo, podem apresentar qualquer padrão hemolítico, reagir com antissoros para os grupos A, C, F ou G, ou ainda, não serem tipáveis. Do mesmo modo, *Streptococcus agalactiae* (grupo B de Lancefield) é usualmente β-hemolítico, porém, pode ser também não hemolítico.

Streptococcus pyogenes (Quadro 22-2)

S. pyogenes causa uma variedade de doenças supurativas e não supurativas (Quadro 22-3). Embora este microrganismo seja a causa mais comum de faringite bacteriana, a notoriedade de *S. pyogenes* documentada tanto na literatura científica como em impressos não científicos é resultado de doenças menos comuns, mas com elevado risco de vida, causadas por estas bactérias "carnívoras".

Quadro 22-2 Resumo: *Streptococcus pyogenes* (Grupo A)

Biologia, Virulência e Doenças

Cocos Gram positivos de crescimento rápido dispostos em cadeias; carboidrato grupo específico (antígeno A) e proteínas tipo específicas (proteína M) na parede celular

Virulência determinada pela capacidade de evitar a fagocitose (mediada principalmente pela cápsula, proteínas M e proteínas semelhantes a M, C5a peptidase), aderir e invadir as células do hospedeiro (proteína M, ácido lipoteicoico e proteína F) e produzir toxinas (exotoxinas pirogênicas estreptocócicas, estreptolisina S, estreptolisina O, estreptoquinase, DNases)

Responsável por doenças supurativas (faringite, infecções em tecidos moles, síndrome do choque tóxico estreptocócico) e doenças não supurativas (febre reumática, glomerulonefrite)

Epidemiologia

Colonização transitória do trato respiratório superior e da superfície da pele; a doença é causada por cepas de aquisição recente (antes que anticorpos protetores sejam produzidos)

Faringite e infecções em tecidos moles são causadas tipicamente por cepas com proteína M de tipos distintos

Disseminação pessoa a pessoa por gotículas transmitidas no ar (faringite) ou por rupturas na pele após contato direto com indivíduo infectado, fômites ou vetor artrópode

Indivíduos que apresentam risco maior em contrair doença incluem crianças de cinco a 15 anos de idade (faringite); crianças entre 2 e 5 anos de idade com higiene pessoal deficiente (pioderma); pacientes com infecções de tecidos moles (síndrome do choque tóxico estreptocócico); pacientes que tenham desenvolvido faringite estreptocócica (febre reumática, glomerulonefrite) ou infecções de tecidos moles (glomerulonefrite)

Diagnóstico

A microscopia é útil nas infecções de tecidos moles, mas não nos casos de faringites e complicações não supurativas

Testes de detecção direta do antígeno do grupo A são úteis para o diagnóstico da faringite estreptocócica, mas resultados negativos devem ser confirmados pela cultura, que é altamente sensível

As cepas são identificadas pelo teste da catalase (negativo), reação positiva para PYR (L-pirrolidonil arilamidase), suscetibilidade à bacitracina e presença de antígeno grupo específico (antígeno do grupo A)

O teste da antiestreptolisina O (ASO) é útil para confirmar a febre reumática ou glomerulonefrite associada à faringite estreptocócica; o teste antiDNase B deve ser realizado para glomerulonefrite associada à faringite ou infecções de tecidos moles

Tratamento, Prevenção e Controle

A penicilina é o fármaco de escolha; uma cefalosporina oral ou vancomicina são usadas para pacientes alérgicos à penicilina

O estado portador na orofaringe que pode ocorrer após o tratamento pode ser eliminado se o paciente for submetido novamente ao tratamento; no entanto, o tratamento não é indicado para o estado de portador assintomático prolongado, uma vez que os antibióticos interferem na microbiota normal protetora

Iniciar a terapia antibiótica nos primeiros 10 dias em pacientes com faringite previne a febre reumática

Para pacientes com história de febre reumática, a profilaxia antibiótica é recomendada antes de procedimentos (p. ex., procedimentos dentários) que possam induzir bacteremias que levem à endocardite.

Para a glomerulonefrite, nenhum tratamento específico ou profilaxia com antibióticos é indicado

Quadro 22-3 Doenças Estreptocócicas – Resumo Clínico

Streptococcus pyogenes (grupo A)

Infecções Supurativas

Faringite: faringe avermelhada com exsudato geralmente presente; a linfadenopatia cervical pode ser proeminente

Escarlatina: erupção eritematosa difusa, iniciando no tórax e disseminando para as extremidades; complicação da faringite estreptocócica

Pioderma: infecção localizada da pele com vesículas que progridem para pústulas; nenhuma evidência de doença sistêmica

Erisipela: infecção localizada da pele com dor, inflamação, aumento dos linfonodos e sintomas sistêmicos

Celulite: infecção da pele que envolve o tecido subcutâneo

Fasciite Necrosante: infecção profunda da pele que envolve destruição dos músculos e das camadas de gordura

Síndrome do Choque Tóxico Estreptocócico: infecção sistêmica em múltiplos órgãos que se assemelha à síndrome do choque tóxico estafilocócico; no entanto, a maioria dos pacientes apresenta bacteremia e evidência de fasciite

Outras doenças supurativas: diversas outras doenças são reconhecidas, incluindo sepse puerperal, linfangite, pneumonia

Infecções Não Supurativas

Febre reumática: caracterizada por alterações inflamatórias do coração (pancardite), articulações (artralgias a artrite), vasos sanguíneos e tecido subcutâneo

Glomerulonefrite aguda: inflamação aguda do glomérulo renal com edema, hipertensão, hematúria e proteinúria

Streptococcus agalactiae (Grupo B)

Doença neonatal de início precoce: no decorrer dos 7 primeiros dias após o nascimento, os neonatos infectados desenvolvem sinais e sintomas de pneumonia, meningite e sepse

Doença neonatal de início tardio: mais de uma semana após o nascimento, os neonatos desenvolvem sinais e sintomas de bacteremia com meningite

Infecções na mulher grávida: presente mais frequentemente como endometrite pós-parto, infecções de feridas, infecção do trato urinário, podendo ocorrer complicações disseminadas

Infecções em outros pacientes adultos: as doenças mais comuns incluem bacteremia, pneumonia, infecções de ossos e articulações, infecções de pele e tecidos moles

Outros Estreptococos β-Hemolíticos

Formação de abscessos em tecidos profundos: associado ao grupo *S. anginosus*

Faringite: associada a *S. dysgalactiae*; a doença se assemelha àquela causada por *S. pyogenes*; pode apresentar como complicação glomerulonefrite aguda

Streptococcus Viridans

Formação de abscesso em tecidos profundos: associada ao grupo *S. anginosus*

Septicemia em pacientes neutropênicos: associada ao grupo *S. mitis*

Endocardite subaguda: associada aos grupos *S. mitis* e *S. salivarius*

Cárie dentária: associada ao grupo *S. mutans*

Neoplasia do trato gastrointestinal: associada ao grupo *S. bovis* (*S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*)

Meningite: associada a *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus, S. suis* e ao grupo *S. mitis*

Streptococcus pneumoniae

Pneumonia: início agudo com calafrios intensos e febre persistente; tosse produtiva com escarro sanguinolento; consolidação lobar

Meningite: infecção grave envolvendo as meninges, com dor de cabeça, febre e sepse; taxa de mortalidade elevada e sequelas neurológicas graves nos sobreviventes

Bacteremia: mais comum em pacientes com meningite do que em pacientes com pneumonia, otite média ou sinusite; sepse preponderante em pacientes asplênicos

Fisiologia e Estrutura

Isolados de estreptococos são cocos esféricos de 1 a 2 µm de diâmetro, dispostos em cadeias curtas quando visualizados diretamente nos espécimes clínicos, ou mais longas quando cultivadas em meio líquido (Fig. 22-1). O crescimento é ótimo em agar sangue, mas é inibido em meios contendo concentrações elevadas de glicose. Após 24 horas de incubação, são observadas colônias brancas de 1 a 2 mm com zonas grandes de β-hemólise (Fig. 22-2).

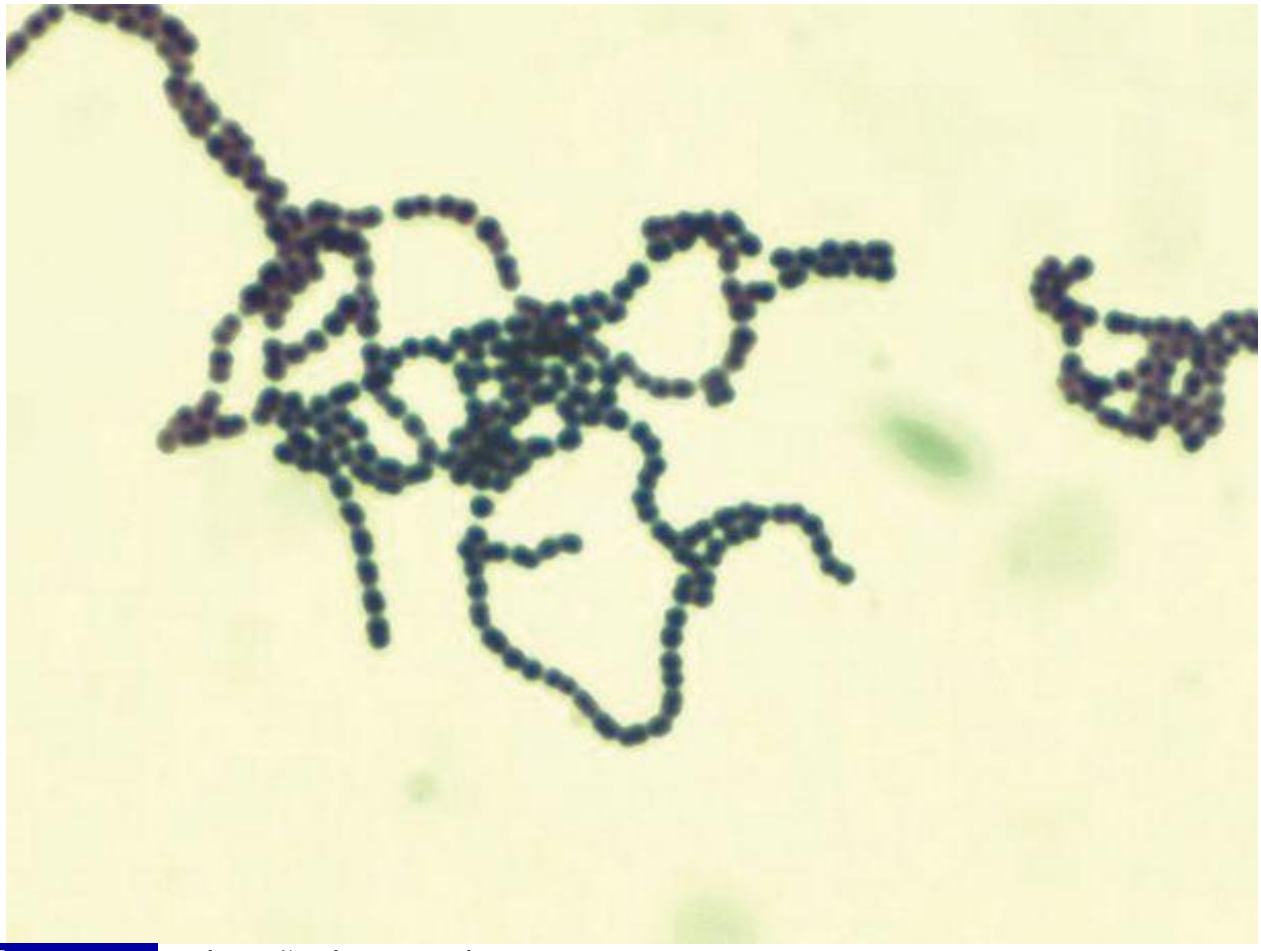


Figura 22-1 Coloração de Gram de *Streptococcus pyogenes*.

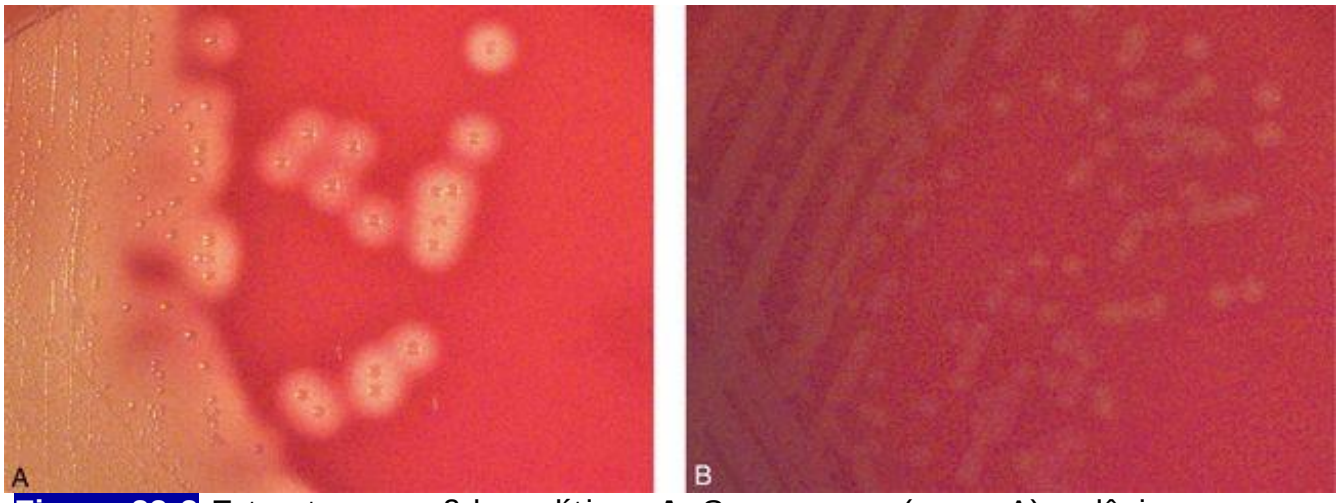


Figura 22-2 Estreptococos β-hemolíticos. **A**, *S. pyogenes* (grupo A), colônias pequenas com uma grande zona de hemólise. **B**, *S. agalactiae* (grupo B), colônias grandes com uma zona

de hemólise pequena.

A estrutura antigênica de *S. pyogenes* tem sido extensivamente estudada. A constituição estrutural básica da parede celular é a camada de peptidoglicano, cuja composição é semelhante ao encontrado nas demais bactérias Gram positivas. Na parede celular estão os antígenos grupos e tipos específicos. O **grupo específico de carboidrato** constitui aproximadamente 10% do peso seco da célula (**antígeno do grupo A de Lancefield**) é um dímero de *N*-acetilglicosamina e ramnose. Este antígeno é usado para classificar os estreptococos do grupo A e distingui-los dos outros grupos de estreptococos. A **proteína M** é a principal proteína tipo específica e está associada à virulência dos estreptococos. Ela consiste de duas cadeias polipeptídicas na estrutura de uma alfa hélice. A proteína é ancorada na membrana citoplasmática, se estende pela parede celular e projeta-se sobre a superfície da célula. O terminal carboxil está ancorado na membrana citoplasmática e a porção da molécula que está inserida na parede celular é altamente conservada entre todos os estreptococos do grupo A. O terminal amino, que se estende acima da superfície celular, é responsável pela variabilidade antigênica observada, determinando os sorotipos específicos da proteína M. As proteínas M são subdivididas em moléculas de classe I e II. As proteínas M de classe I compartilham antígenos expostos, porém esta característica não é observada entre as moléculas de classe II. Embora as cepas de ambas as classes de proteína M possam causar infecções supurativas e glo merulonefrite, somente aquelas com proteínas M de classe I (que compartilham os antígenos expostos) causam febre reumática. A classificação epidemiológica de *S. pyogenes* é baseada na análise da sequência do gene *emm* que codifica as proteínas M.

Outros componentes importantes na parede celular de *S. pyogenes* incluem **proteínas de superfície semelhantes à proteína M, ácido lipoteicoico** e **proteína F**. Um complexo de mais de 20 genes que compreendem a superfamília *emm* codificam as proteínas de superfície semelhantes à proteína M, bem como as proteínas M e as proteínas que se ligam às imunoglobulinas (Ig). O ácido lipoteicoico e a proteína F facilitam a ligação com as células do hospedeiro pela complexidade da fibronectina que está presente na superfície das células do hospedeiro.

Algumas cepas de *S. pyogenes* apresentam uma **cápsula** externa de ácido hialurônico, que é antigenicamente indistinguível do ácido hialurônico presente no tecido conjuntivo dos mamíferos. As cepas de *S. pyogenes* encapsuladas estão mais associadas às infecções sistêmicas graves.

Patogênese e Imunidade

A virulência dos estreptococos do grupo A é determinada pela habilidade da bactéria em evitar a opsonização e a fagocitose, aderir à superfície das células hospedeiras, invadirem células epiteliais e produzirem uma variedade de toxinas e enzimas.

Interações Iniciais Parasita-Hospedeiro

S. pyogenes tem múltiplos mecanismos para **evitar a opsonização e a fagocitose**. A **cápsula de ácido hialurônico** é pouco imunogênica e interfere com a fagocitose. A **região conservada da proteína M** liga o fator H, da fração β-globulina do soro, que é uma proteína reguladora da via alternativa do complemento. O componente C3b do complemento, um importante mediador da fagocitose, é desestabilizado pelo fator H. Assim, quando o C3b se liga à superfície da célula bacteriana na região da proteína M, é degradado pelo fator H e a fagocitose é evitada. O efeito é superado somente quando o paciente produz anticorpos opsonizantes tipo específico para a região antigenicamente variável da proteína M. A ligação do fibrinogênio à superfície da proteína M também bloqueia a ativação do complemento pela via alternativa e reduz a quantidade de C3b ligados. As proteínas semelhantes à proteína M interferem com a fagocitose. Por fim, todas as cepas de *S. pyogenes* podem produzir **C5a peptidase**, uma serina protease que inativa o C5a. O componente C5a é quimiotático para neutrófilos e fagócitos mononucleares; assim a formação de abscessos é inibida, até que o paciente seja capaz de produzir anticorpos específicos que neutralizem a peptidase.

Mais de 10 diferentes antígenos bacterianos têm demonstrado mediar a **aderência às células do hospedeiro**, sendo o **ácido lipoteicoico**, a proteína M e a proteína F os mais importantes. A etapa inicial da aderência é uma interação fraca entre o ácido lipoteicoico e os sítios de ligação de ácidos graxos na fibronectina e nas células epiteliais. A etapa subsequente envolve a participação das **proteínas M** e **F** e de outras adesinas que interagem com receptores específicos da célula hospedeira.

S. pyogenes pode **invadir as células epiteliais**, um processo mediado pelas **proteínas M, F** e outros antígenos bacterianos. Acredita-se que essa internalização seja importante para a manutenção de infecções persistentes (p. ex., faringite estreptocócica recorrente) e invasão dos tecidos profundos.

Toxinas e Enzimas

As **exotoxinas pirogênicas estreptocócicas (Spe)**, originalmente chamadas **toxinas eritrogênicas**, são produzidas por cepas lisogênicas de estreptococos e são semelhantes à toxina produzida por *Corynebacterium diphtheriae*. Quatro toxinas termolábeis, imunologicamente distintas (SpeA, SpeB, SpeC e SpeF) foram descritas em *S. pyogenes* e em cepas raras de estreptococos dos grupos C e G. As toxinas agem como superantígenos, interagindo com macrófagos e células T auxiliares e resultando no aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias. Acredita-se que esta família de exotoxinas seja responsável por muitas manifestações clínicas das doenças graves causadas por estreptococos, incluindo a fasciite necrosante, a síndrome do choque tóxico estreptocócico e a erupção cutânea observada em pacientes com escarlatina. No entanto, ainda não está claro se a erupção cutânea é resultante do efeito direto da toxina sobre o leito capilar ou, possivelmente, é secundário a uma reação de hipersensibilidade.

A **estreptolisina S** é uma hemolisina ligada à célula, não imunogênica, estável na presença de oxigênio e que pode lisar eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Também pode estimular a liberação do conteúdo lisossômico após engolfamento, com subsequente morte da célula fagocítica. A estreptolisina S é produzida na presença de soro (o S indica **solúvel no**

soro) e é responsável pela β-hemólise característica, observada no meio de agar sangue.

A **estreptolisina O** é uma hemolisina lábil na presença de oxigênio, capaz de lisar eritrócitos, leucócitos, plaquetas e células em cultura. Esta hemolisina é antigenicamente relacionada às toxinas, que também são lábeis na presença de oxigênio. São produzidas por *Streptococcus pneumoniae, Clostridium tetani, Clostridium perfringens, Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. Anticorpos são prontamente formados contra a estreptolisina O **(anticorpos antiestreptolisina O [ASO])**, uma característica que diferencia as estreptolisinas O e S e é útil para documentar uma infecção recente por estreptococos do grupo A (teste ASO). No entanto, pelo fato da estreptolisina O ser irreversivelmente **inibida pelo colesterol** nos lipídios da pele, pacientes com infecções de pele causadas por *S. pyogenes* não desenvolvem anticorpos ASO.

Pelo menos duas formas de **estreptoquinase (A e B)** têm sido descritas. Estas enzimas mediam à clivagem do plasminogênio, liberando a protease plasmina que, por sua vez, cliva a fibrina e o fibrinogênio, resultando na dissolução de coágulos e de depósitos de fibrina. Assim, como estas enzimas podem dissolver coágulos sanguíneos e depósitos de fibrina, facilitam a rápida disseminação de *S. pyogenes* nos tecidos infectados. Anticorpos direcionados contra essas enzimas (**anticorpos antiestreptoquinase**) são marcadores de infecção.

Quatro desoxirribonucleases imunologicamente distintas (**DNases A a D**) foram identificadas nestes microrganismos. Estas enzimas não são citolíticas, mas podem despolimerizar o ácido desoxirribonucleico (DNA) livre, presente no pus. Este processo reduz a viscosidade do material do abscesso e facilita a disseminação dos microrganismos. Os anticorpos desenvolvidos contra DNase B são importantes marcadores das infecções por *S. pyogenes* (**teste antiDNase B**), particularmente para pacientes com infecções cutâneas, pois estes não desenvolvem anticorpos antiestreptolisina O (veja citação anterior).

O componente do complemento C5a media inflamação pelo recrutamento e ativação das células fagocíticas. A **C5 peptidase** interfere neste processo, degradando C5a. Outras enzimas, incluindo hialuronidase (“fator de disseminação”) e difosfopiridina nucleotidase (DPNase), já foram descritas em estreptococos do grupo A. Porém, o papel dessas enzimas na patogênese ainda é desconhecido.

Epidemiologia

O Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimou que aproximadamente 4.700 casos de doenças invasivas causadas por *S. pyogenes*, ocorreram em 2005 nos Estados Unidos. Foi observado um total de 129 casos da síndrome do choque tóxico estreptocócico. Além destes, ocorreram pelo menos 10 milhões de casos de doença não invasiva, sendo as infecções mais comuns a faringite e o pioderma. Os estreptococos do grupo A podem colonizar a orofaringe de crianças saudáveis e de adultos jovens sem doença clínica. Entretanto, o isolamento de *S. pyogenes* em um paciente com faringite é considerado significativo. A colonização assintomática por *S. pyogenes* é transitória, regulada pela capacidade do indivíduo em desenvolver imunidade específica para a proteína M da cepa colonizadora e pela presença de microrganismos competidores na orofaringe. Pacientes não tratados produzem anticorpos para proteína M específica, que pode resultar em uma imunidade duradoura; no entanto, esta resposta de anticorpos é menor nos pacientes tratados.

Em geral, a doença por *S. pyogenes* é causada por cepas recém-adquiridas que podem estabelecer uma infecção de faringe ou de pele antes que os anticorpos específicos sejam produzidos ou ainda, antes que os microrganismos competidores sejam capazes de proliferar. A faringite causada por *S. pyogenes* é uma doença que acomete principalmente crianças entre 5 e 15 anos de idade; porém, outras faixas etárias, incluindo adultos, também são suscetíveis. O patógeno é disseminado de pessoa a pessoa através de gotículas transmitidas no ar. Aglomerações em salas de aula e creches aumentam a oportunidade de disseminação, em especial, durante os meses de inverno. As infecções em tecidos moles (*i.e.*, pioderma, erisipela, celulite, fasciite) são tipicamente precedidas pela colonização inicial da pele com estreptococos do grupo A. Posteriormente, os microrganismos são introduzidos nos tecidos superficiais ou profundos, através de um machucado.

Doenças Clínicas

Doenças Estreptocócicas Supurativas

FARINGITE

A **faringite** geralmente se desenvolve 2 a 4 dias após a exposição ao patógeno, com surgimento abrupto dos seguintes sintomas: dor de garganta, febre, mal-estar e cefaleia. A faringe posterior pode aparecer eritematosa, com exsudato e a linfadenopatia cervical pode ser proeminente. Apesar destes sinais e sintomas clínicos, é difícil diferenciar a faringite estreptocócica da faringite viral. O diagnóstico específico somente pode ser feito com testes bacteriológicos ou sorológicos.

A **escarlatina** é uma complicação da faringite estreptocócica e ocorre quando a cepa infectante é lisogenizada por um bacteriófago temperado, que media a produção de uma exotoxina pirogênica. Dentro de 1 a 2 dias após o aparecimento dos sintomas clínicos iniciais para o desenvolvimento da faringite, observa-se uma erupção eritematosa difusa, que inicialmente ocorre na região superior do tórax e se espalha para as extremidades. A área ao redor da boca é geralmente poupada (**palidez ao redor dos lábios**), bem como a palma das mãos e a sola dos pés. Um revestimento branco-amarelado inicialmente recobre a língua e mais tarde se desprende, expondo a superfície logo abaixo que se encontra inflamada e vermelha ("**língua de morango**"). A erupção, que clareia quando pressionada, é melhor visualizada no abdômen e nas dobras da pele (**linhas de Pastia**). Esta erupção desaparece após 5 a 7 dias e é seguida de descamação. As complicações supurativas da faringite estreptocócica (p. ex., abscessos peritonsilares e retrofaríngeos) se tornaram raras desde o advento da terapia antibiótica.

PIODERMA

O **pioderma (impetigo)** é uma infecção limitada, purulenta (*pyo-*) que acomete a pele (*derma*), afetando essencialmente áreas expostas (*i.e.*, face, braços e pernas). A infecção tem início quando a pele é colonizada com *S. pyogenes*, após contato direto com uma pessoa infectada ou fômites. O microrganismo é introduzido nos tecidos subcutâneos através de uma ruptura na pele (p. ex., arranhão, picada de inseto). As vesículas se desenvolvem, progridem para pústulas (vesículas com pus) e então se rompem e formam uma crosta. Os linfonodos regionais podem estar aumentados, porém sinais sistêmicos de infecção (p. ex., febre, sepse e envolvimento de outros órgãos) são raros. A disseminação secundária pela derme é típica, promovida por arranhaduras que ocorrem ao coçar as lesões.

O pioderma é observado principalmente durante os meses quentes e úmidos do verão, em crianças pequenas e com pouca higiene pessoal. Embora *S. pyogenes* seja responsável pela maioria das infecções estreptocócicas de pele, os estreptococos dos grupos C e G podem também ser responsabilizados. *Staphylococcus aureus* podem também estar presentes nas lesões. As cepas de estreptococos que causam infecções na pele diferem daquelas que causam faringite, embora os sorotipos que causam pioderma possam colonizar a orofaringe e estabelecer um estado de portador persistente.

ERISIPELA

Erisipela (*erythros*, "vermelho"; *pella*, "pele") é uma infecção aguda da pele. Os pacientes

sentem dor localizada, inflamação (eritema, calor), aumento dos linfonodos e sinais sistêmicos (calafrios, febre, leucocitose). A região da pele acometida fica tipicamente mais elevada e diferenciada do restante (Fig. 22-3). A erisipela é mais comum em crianças pequenas e em idosos, acometendo historicamente a face e mais recentemente, as pernas. Usualmente é precedida por infecção respiratória ou por infecção na pele causada por *S. pyogenes* (menos comumente causada por estreptococos dos grupos C e G).

Figura 22-3 Estágio agudo de erisipela em uma perna. Observe o eritema na área envolvida e a formação de bolhas.

(Retirado de Emond RTD, Rowland HAK: A Color Atlas of Infectious Diseases, 2nd ed. London, Wolfe, 1989.)

CELULITE

Ao contrário da erisipela, a **celulite** tipicamente envolve a pele e tecidos subcutâneos mais profundos e não é clara a diferença entre as regiões infectadas e não infectadas. Porém, como na erisipela, são observados inflamação local e sinais sistêmicos. É necessária a identificação precisa do agente etiológico, uma vez que diferentes microrganismos podem ser responsáveis por quadros de celulite.

FASCIITE NECROSANTE

A **fasciite necrosante** (também chamada de **gangrena estreptocócica**) é uma infecção que ocorre na camada profunda do tecido subcutâneo, dissemina-se ao longo do invólucro fascial e é caracterizada por uma extensa destruição do músculo e da gordura (Fig. 22-4). O microrganismo (referido pelos meios de comunicação como "bactéria carnívora") é introduzido no tecido através de uma ruptura na pele (p. ex.: pequenos cortes ou trauma, infecção viral vesicular, queimadura ou cirurgia). Inicialmente há uma evidência de celulite, em seguida se formam bolhas e desenvolvem-se então os sintomas sistêmicos e a gangrena (necrose do tecido associada à obstrução do fluxo sanguíneo). As características dessa doença são toxicidade, falência de múltiplos órgãos e morte. Por isso, uma intervenção médica imediata para salvar o paciente é necessária. Diferente da celulite, que pode ser tratada com antibioticoterapia, o tratamento da fasciite deve incluir obrigatoriamente procedimentos cirúrgicos agressivos, como o debridamento do tecido infectado.

Figura 22-4 Fasciite necrosante causada por *Streptococcus pyogenes*. O paciente apresentou história de 3 dias de mal-estar, mialgia difusa e febre baixa. Em 3 horas a dor tornou-se muito intensa e localizada na panturrilha. **A**, observe as duas bolhas pequenas e púrpuras (setas) na panturrilha. **B**, Foi observada extensa fasciite necrosante na exploração cirúrgica. O paciente foi a óbito apesar da abordagem cirúrgica agressiva e demais cuidados médicos.

(Retirado de Cohen J, Powderly W: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

SÍNDROME DO CHOQUE TÓXICO ESTREPTOCÓCICO (Caso Clínico 22-1)

Embora a incidência de doenças graves causadas por *S. pyogenes* tenha diminuído uniformemente após o advento dos antibióticos, esta tendência mudou dramaticamente no final da década de 1980, quando foram relatadas infecções caracterizadas por toxicidade multissistêmica. Os pacientes com esta síndrome inicialmente apresentam uma inflamação dos tecidos moles no sítio da infecção, dor e sintomas inespecíficos, como febre, calafrios, mal-estar, náuseas, vômito e diarreia. A dor se intensifica à medida que a doença progride para o choque e a falência dos órgãos (p. ex.: rins, pulmões, fígado e coração), características semelhantes àquelas da síndrome do choque tóxico estafilocócico. Entretanto, diferente da doença estafilocócica, a maioria dos pacientes com a síndrome estreptocócica apresenta bacteremia e muitos demonstram fasciite necrosante.

Caso Clínico 22-1 Síndrome do Choque Tóxico Estreptocócico

A síndrome do choque tóxico estreptocócico é uma infecção assustadora e fatal. Isto é ilustrado pelo relato de Cone e colaboradores (Cone et al.: N Engl J Med 317:146-149, 1987) que descreveram o caso de um paciente acometido por esta doença. O paciente do sexo masculino, 46 anos de idade, sofreu um arranhão no antebraço causado por seu cachorro pastor alemão. No dia seguinte, durante a execução de seu trabalho, o ferimento reabriu. Na tarde seguinte, ele apresentou febre baixa, calafrios, dor nas costas e mialgia. Quando procurou o Departamento de Emergência, pode ser observado no sítio do ferimento um pequeno eritema com liberação de secreção serosa. Foram coletados sangue e secreção da ferida e foi iniciada antibioticoterapia intravenosa. Durante as 10 horas subsequentes o paciente se apresentou confuso e com hipotensão. Foi transferido para a UTI. O eritema se espalhou e foram observadas várias bolhas na superfície do ferimento. O paciente foi submetido a procedimento cirúrgico e uma secreção amarelada foi drenada do tecido muscular. *Streptococcus pyogenes* foi isolado a partir das culturas do sítio cirúrgico, bem como das coletadas do ferimento original. Apesar do debridamento cirúrgico, a condição clínica do paciente continuou a piorar, com desenvolvimento de função hepática anormal, falência renal, desconforto respiratório agudo e anomalias cardíacas. O paciente apresentou hipotensão persistente e foi a óbito 3 dias após a admissão no hospital. A progressão fulminante da doença e falência em múltiplos órgãos reforça a necessidade de uma intervenção clínica agressiva.

Embora indivíduos de todas as faixas etárias sejam suscetíveis à **síndrome do choque tóxico estreptocócico**, pacientes apresentando determinadas condições possuem um risco maior, como os infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou da varicela-zóster, ou ainda os pacientes com câncer, diabetes melitos, doença cardíaca ou pulmonar, bem como usuários de drogas intravenosas e alcoólatras. As cepas de *S. pyogenes* responsáveis por esta síndrome diferem das cepas que causam faringite, uma vez que a maioria destas cepas pertence aos sorotipos M1 ou M3 e muitas apresentam uma cápsula proeminente de mucopolissacarídeo - ácido hialurônico (cepas mucoides). Outra característica proeminente destes microrganismos é a produção de exotoxinas pirogênicas, particularmente SpeA e SpeC.

OUTRAS DOENÇAS SUPURATIVAS

S. pyogenes tem sido associado a uma variedade de outras infecções supurativas, incluindo sepse puerperal, linfangite e pneumonia. Embora estas infecções ainda possam ser observadas, as mesmas tornaram-se menos comuns após a introdução da terapia antibiótica.

BACTEREMIA

S. pyogenes é uma das espécies mais comuns, entre os estreptococos β-hemolíticos isolados de hemoculturas. Os pacientes que apresentam infecções localizadas, como faringite,

pioderma e erisipela, raramente desenvolvem bacteremia. No entanto, a maioria das hemoculturas de pacientes com fasciite necrosante ou síndrome do choque tóxico é positiva para o microrganismo. A taxa de mortalidade nesta população é de aproximadamente 40%.

Doenças Estreptocócicas Não Supurativas

FEBRE REUMÁTICA

A **febre reumática** é uma complicação não supurativa da faringite por *S. pyogenes*. É caracterizada por alterações inflamatórias envolvendo coração, articulações, vasos sanguíneos e tecidos subcutâneos. O envolvimento do coração se manifesta como uma pancardite (endocardite, pericardite, miocardite) e está frequentemente associado a nódulos subcutâneos. Pode ocorrer um dano crônico e progressivo das válvulas cardíacas. As manifestações nas articulações podem variar desde artralgias até o desenvolvimento de artrite franca, com acometimento de múltiplas articulações em um padrão migratório (*i.e.*, as manifestações mudam de uma articulação para a outra).

A incidência da febre reumática nos Estados Unidos diminuiu bastante, passando de um pico de mais de 10.000 casos por ano em 1961 para apenas 112 ocorrências relatadas em 1994 (o último ano de notificação compulsória). Em contraste, esta doença ainda é comum em países em desenvolvimento, com uma estimativa de 100 casos por 100.000 crianças por ano. Tipos de proteína M, específicos da classe I (p. ex., tipos 1, 3, 5, 6 e 18), que compartilham um sítio antigênico exposto são responsáveis pela febre reumática. Além disso, **a febre reumática está associada à faringite estreptocócica, mas não às infecções cutâneas causadas por este microrganismo**. Como esperado, as características epidemiológicas da doença são semelhantes àquelas da faringite estreptocócica. É mais comum em crianças em idade escolar, independente do sexo e ocorre, principalmente, nos meses de outono e inverno. A doença é mais comum em pacientes com faringite estreptocócica grave, embora um terço dos casos esteja associado às infecções brandas ou assintomáticas. Cepas reumatogênicas induzem, em todos os pacientes com faringite, uma forte resposta de anticorpos. A febre reumática pode ser recorrente com uma infecção estreptocócica subsequente, caso não tenha sido utilizada profilaxia antibiótica adequada. O risco de recorrência diminui com o tempo.

Como nenhum teste específico pode identificar pacientes com febre reumática, o diagnóstico é feito com base nos achados clínicos e em evidências documentadas de uma infecção recente por *S. pyogenes*, como: (1) resultados de cultura; (2) detecção de antígeno do grupo A em *swabs* de orofaringe; ou (3) aumento do título de anticorpos ASO, antiDNase B ou anti-hialuronidase. A ausência de títulos elevados de anticorpos ou em ascensão seria uma forte evidência de que o quadro não está relacionado à febre reumática.

GLOMERULONEFRITE AGUDA

A segunda complicação não supurativa de doença estreptocócica é a **glomerulonefrite**, que é caracterizada por inflamação aguda do glomérulo renal com edema, hipertensão, hematúria e proteinúria. Cepas específicas nefrogênicas de estreptococos do grupo A estão associadas a esta doença. Diferente da febre reumática, a glomerulonefrite aguda é uma sequela decorrente de ambas as infecções estreptocócicas, faringite e pioderma; embora os tipos M das cepas nefrogênicas sejam diferentes para as duas infecções primárias. As características epidemiológicas da doença são semelhantes às da infecção estreptocócica inicial. O diagnóstico é determinado com base na apresentação clínica e na evidência de infecção recente por *S. pyogenes*. Os pacientes jovens normalmente se recuperam prontamente. As razões que determinam um prognóstico de longa duração para adultos não

estão esclarecidas. Perda progressiva e irreversível da função renal tem sido observada em adultos.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

A coloração de Gram de espécimes provenientes do tecido afetado pode ser usada para o diagnóstico rápido preliminar das infecções de tecidos moles ou pioderma causadas por *S. pyogenes*. Como os estreptococos normalmente não colonizam a superfície da pele, a observação de cocos Gram positivos aos pares e cadeias em associação a leucócitos é um achado importante. Por outro lado, os estreptococos são parte da microbiota da orofaringe e, portanto, a presença destas bactérias em amostras respiratórias de um paciente com faringite não é significativa para o diagnóstico.

Detecção de Antígenos

Uma variedade de testes imunológicos usando anticorpos que reagem com o carboidrato de grupo específico, presente na parede da célula bacteriana, pode ser empregada para detectar os estreptococos do grupo A diretamente nas amostras de orofaringe coletadas com *swabs*. Estes testes são rápidos, de baixo custo e específicos, porém, a sensibilidade é baixa (provavelmente, não mais do que 90%). Com isso, todos os resultados negativos obrigatoriamente devem ser confirmados pela cultura de secreção de orofaringe. Testes utilizando a detecção de antígenos não são empregados no diagnóstico das infecções cutâneas ou das sequelas não supurativas.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Sondas genéticas comerciais e testes de amplificação de ácidos nucleicos têm sido utilizados na detecção direta de *S. pyogenes* a partir de espécimes obtidos de orofaringe. A sensibilidade das sondas genéticas é equivalente à dos testes imunológicos e menor do que a da cultura. Nos ensaios de amplificação, a sensibilidade é equivalente à da cultura e, portanto, não são necessários testes confirmatórios para os resultados negativos.

Cultura

Espécimes para a cultura devem ser obtidos a partir da orofaringe posterior (p. ex., amígdalas), mesmo sendo difícil coletar material desta região em crianças. Um número reduzido de bactérias está presente na região anterior da boca. Além disso, a boca (particularmente, a saliva) é colonizada por outros microrganismos que inibem o crescimento de *S. pyogenes*. Portanto, a contaminação de uma amostra clínica, mesmo aquelas coletadas de forma apropriada, pode mascarar ou suprimir o crescimento de *S. pyogenes*. O isolamento de *S. pyogenes* de pacientes com impetigo não é um problema. A crosta superficial da lesão é suspensa e o material purulento e a base da lesão são coletados para a cultura. Os espécimes para cultura não devem ser obtidos de pústulas de pele que estejam abertas ou drenando, uma vez que estas pústulas podem estar infectadas com estafilococos. Os microrganismos são facilmente isolados nas culturas de tecidos e de sangue, obtidas de pacientes com fasciite necrosante. No entanto, poucos microrganismos costumam estar presentes na pele de pacientes com erisipela ou celulite.

Como discutido anteriormente, os estreptococos são fastidiosos e apresentam exigências

nutricionais para o crescimento. Antibióticos (p. ex., sulfametoxazol-trimetoprim) podem ser adicionados ao meio de agar sangue para suprimir o crescimento das bactérias da microbiota oral. Embora este meio seletivo já tenha provado ser útil, o crescimento de *S. pyogenes* é mais demorado, exigindo tempo prolongado de incubação (2 a 3 dias).

Identificação (Tab. 22-1)

Os estreptococos do grupo A são identificados com a demonstração do **carboidrato grupo específico**, uma técnica que não era praticada até a introdução dos testes de detecção direta de antígeno. A diferenciação de *S. pyogenes* das demais espécies de estreptococos que apresentam o antígeno específico do grupo A pode ser realizada pela suscetibilidade à **bacitracina** e presença da enzima **L-pirrolidonil arilamidase (PYR)**. A suscetibilidade à bacitracina é determinada pela utilização de discos saturados com este antimicrobiano, que são colocados na superfície de placas inoculadas com as cepas a serem testadas; após incubação por 18 horas, as cepas inibidas pela bacitracina são identificadas como estreptococos do grupo A. O teste do PYR mede a hidrólise do L-pirrolidonil-β-naftilamida e a liberação de β-naftilamina que na presença de *p*-dimetilaminocinamaldeído forma um composto verde escuro. A vantagem deste teste específico é que leva menos de um minuto para determinar se a reação é positiva (*S. pyogenes*) ou negativa (todos os demais estreptococos).

Tabela 22-1 Identificação Bioquímica de Estreptococos Frequentes

Microrganismo	Testes Importantes para Identificação
S. pyogenes (grupo A)	PYR positivo; suscetibilidade à bacitracina
S. agalactiae (grupo B)	CAMP positivo; hidrólise do hipurato positiva
S. dysgalactiae (grupos C, G)	PYR negativo; Voges-Proskauer (VP) negativo
Grupo *S. anginosus* (grupos A, C, F, G e não grupáveis)	PYR negativo; VP positivo
S. pneumoniae	Sensível à optoquina; bile solúvel
Grupo Viridans	Resistente à optoquina; bile solubilidade negativa

CAMP, Christie, Atkins, Munch-Petersen (teste); PYR, L-pirrolidonil arilamidase

Detecção de Anticorpos

Os pacientes com doença causada por *S. pyogenes* produzem anticorpos para enzimas específicas. Embora haja produção de anticorpos contra proteína M e estes sejam importantes para manutenção da imunidade, aparecem tardiamente durante o curso clínico da doença e, portanto, não são úteis para o diagnóstico. Ao contrário, a determinação do título de anticorpos contra a estreptolisina O (**teste ASO**) é útil para confirmar o diagnóstico de febre reumática ou glomerulonefrite aguda, resultantes de uma infecção estreptocócica recente de orofaringe. Estes anticorpos aparecem de 3 a 4 semanas após a exposição inicial ao microrganismo e persistem. Um título elevado de ASO não é observado em pacientes com pioderma estreptocócica (como discutido anteriormente). A produção de anticorpos para outras enzimas estreptocócicas, particularmente DNase B, tem sido documentada tanto em pacientes com pioderma como em pacientes com faringite. O **teste antiDNase B** deve ser realizado quando há suspeita de glomerulonefrite estreptocócica.

Tratamento, Prevenção e Controle

S. pyogenes são muito sensíveis à **penicilina**. Em pacientes com história de alergia à penicilina deve ser usada uma cefalosporina oral. Entretanto, esta terapia pode ser ineficaz em pacientes com infecções mistas envolvendo *Staphylococcus aureus*. O tratamento nestes casos deve incluir **oxacilina** ou **vancomicina**. A resistência ou a pouca resposta clínica observada para tetraciclinas e sulfanamidas tem limitado o uso destes antimicrobianos. A frequência de cepas resistentes aos novos macrolídeos (p. ex., azitromicina e claritromicina) tem aumentado. A drenagem e o debridamento cirúrgico agressivo devem ser prontamente iniciados nos pacientes com infecções graves de tecidos moles.

O estado portador persistente de *S. pyogenes* na orofaringe pode ocorrer mesmo após o término de um tratamento. Estes casos podem ser decorrentes do não cumprimento do curso terapêutico prescrito, reinfecção com uma nova cepa ou persistência em um foco infeccioso isolado. Um tempo adicional de tratamento pode ser aplicado nos casos de portadores persistentes, já que a resistência à penicilina ainda não foi observada nas cepas isoladas destes pacientes. Se mesmo assim o estado de portador persistir, não é indicado repetir o tratamento, pois o uso prolongado do antimicrobiano irá interferir na microbiota normal do paciente. A antibioticoterapia nos pacientes com faringite acelera o alívio dos sintomas e, se iniciada até 10 dias desde o aparecimento da doença clínica, previne a febre reumática. A antibioticoterapia não parece influenciar na progressão da glomerulonefrite aguda.

Os pacientes com história de febre reumática necessitam de **profilaxia antibiótica** prolongada para prevenir a recorrência da doença. Como os danos nas válvulas cardíacas predispõem esses pacientes à endocardite, eles necessitam de profilaxia antimicrobiana sempre que forem submetidos a procedimentos que possam induzir bacteremias transitórias (p. ex., procedimentos dentários). A antibioticoterapia específica não altera o curso da glomerulonefrite aguda e a profilaxia não é indicada, uma vez que casos de recorrência da doença ainda não foram observados nesses pacientes.

Streptococcus agalactiae (Quadro 22-4)

S. agalactiae é a única espécie que possui o antígeno do grupo B. Este microrganismo foi inicialmente identificado como uma causa de sepse puerperal. Entretanto, esta doença é relativamente rara nos dias atuais. Por outro lado, *S. agalactiae* passou a ser mais conhecido como um importante agente causador de septicemia, pneumonia e meningite em crianças recém-nascidas, bem como um agente causador de doenças graves em adultos (Quadro 22-3).

Quadro 22-4 *Streptococcus agalactiae* (Grupo B)

Biologia, Virulência e Doenças

Cocos Gram positivos de crescimento rápido, dispostos em cadeias; carboidrato grupo específico (antígeno B) e carboidrato capsular tipo específico (Ia, Ib, II – VIII)

Virulência determinada principalmente pela capacidade de evitar a fagocitose (mediada pela cápsula)

Responsável por doenças em neonatos (doença de início precoce e de início tardio com meningite, pneumonia, bacteremia), infecções em mulheres grávidas (endometrite, infecções em feridas e infecções do trato urinário) e em outros adultos (bacteremia, pneumonia, infecções em ossos e articulações, infecções de pele e de tecidos moles)

Epidemiologia

Colonização assintomática do trato respiratório superior e do trato geniturinário

Doença de início precoce em recém-nascidos é adquirida da mãe durante a gravidez ou no momento do parto

Os neonatos apresentam maior risco em adquirir infecções se (1) houver ruptura precoce de membranas, trabalho de parto prolongado, nascimento prematuro ou doença estreptocócica do grupo B materna disseminada; e (2) se a mãe não apresentar anticorpos tipo específicos e tiver níveis baixos dos componentes do sistema complemento

Mulheres apresentando colonização genital apresentam risco de desenvolverem doença pós-parto

Homens e mulheres não grávidas com diabetes melito, câncer ou alcoolismo apresentam risco aumentado de adquirir doença

Não apresenta incidência sazonal

Diagnóstico

Microscopia é útil para o diagnóstico da meningite (LCR), pneumonia (secreções do trato respiratório inferior) e infecções de feridas (exsudatos)

Testes para detecção de antígenos são menos sensíveis do que a microscopia e não devem ser utilizados

Cultura é o teste diagnóstico mais sensível; um caldo seletivo (i.e., LIM) é necessário para detecção do estado de portador vaginal

Testes de PCR para detecção da colonização vaginal em mulheres grávidas estão disponíveis comercialmente e são tão sensíveis quanto à cultura

A identificação bacteriana é realizada pelo teste da catalase (negativa), teste de CAMP e hidrólise do hipurato positivos e presença do carboidrato grupo específico (antígeno de grupo B)

Tratamento, Prevenção e Controle

A penicilina G é o fármaco de escolha; uma combinação de penicilina e aminoglicosídeo é recomendada para pacientes com infecções graves; é usada vancomicina em pacientes alérgicos à penicilina

Para bebês de alto risco, o uso de penicilina é recomendado pelo menos 4 horas antes do parto

Vacinas conjugadas polivalentes, para estimular anticorpos maternais, estão em desenvolvimento

Fisiologia e Estrutura

Os estreptococos do grupo B são cocos Gram positivos (0,6 a 1,2µm) que formam cadeias curtas quando visualizados diretamente nos espécimes clínicos e cadeias mais longas quando visualizados em cultura. Estas características os tornam indistinguíveis de *S. pyogenes* na coloração de Gram. Crescem bem em meios nutricionalmente ricos e, ao contrário de *S. pyogenes*, as colônias de *S. agalactiae* são grandes, com uma zona estreita de β-hemólise (Fig. 22-2). Algumas cepas (1% a 2%) não são hemolíticas. Porém, esta prevalência pode estar subestimada, já que colônias não hemolíticas não são rotineiramente investigadas quanto à presença do antígeno do grupo B.

As cepas de *S. agalactiae* podem ser caracterizadas com base em três marcadores sorológicos: (1) **antígeno polissacarídico de parede celular grupo específico** ou **antígeno do grupo B** (antígeno de grupo de Lancefield; composto por ramnose, N-acetilglicosamina e galactose); (2) nove **polissacarídeos capsulares tipo específicos** (Ia, Ib, II a VIII); e (3) **proteínas de superfície** (a mais comum é o **antígeno c**). Os polissacarídeos tipo específicos são importantes marcadores epidemiológicos, sendo os sorotipos Ia, III e V os mais comumente associados à colonização e doença. O conhecimento dos sorotipos específicos relacionados às doenças e de seus padrões variados de prevalência é importante para o desenvolvimento de vacinas.

Patogênese e Imunidade

O fator de maior importância relacionado ao *S. agalactiae* é o **polissacarídeo capsular**, que interfere com a fagocitose até que o paciente desenvolva anticorpos tipo específico. Anticorpos desenvolvidos contra os antígenos capsulares tipo específicos são protetores, o que explica parcialmente a predileção e maior incidência das infecções por estes microrganismos em neonatos. Na ausência de anticorpos maternos, o neonato apresenta risco de contrair a doença. Além disso, a colonização genital com estreptococos do grupo B tem sido associada ao risco aumentado de parto prematuro, e as crianças prematuras apresentam maior risco de contrair a doença. As vias clássica e alternativa do sistema complemento são necessárias para eliminar os estreptococos do grupo B, particularmente os tipos Ia, III e V. Como resultado, existe maior probabilidade de disseminação sistêmica do microrganismo em crianças prematuras colonizadas com **níveis baixos do sistema complemento**, ou ainda em crianças nas quais os receptores para os componentes do complemento ou para o fragmento Fc de anticorpos IgG não estejam expostos nos neutrófilos. Também tem sido observado que os polissacarídeos capsulares estreptocócicos tipo específicos Ia, Ib e II apresentam um resíduo terminal de ácido siálico. O **ácido siálico** pode inibir a ativação da via alternativa do sistema complemento, interferindo assim com a fagocitose destas cepas de estreptococos do grupo B.

Epidemiologia

Os estreptococos do grupo B colonizam o trato gastrointestinal inferior e o trato geniturinário. O estado de portador transitório vaginal tem sido observado em 10% a 30% de mulheres grávidas, embora a incidência dependa do período de gestação em que a amostra clínica foi coletada e quais as técnicas utilizadas para o cultivo do microrganismo. Uma incidência semelhante tem sido observada em mulheres que não estão grávidas.

Aproximadamente 60% das crianças nascidas de mães colonizadas adquirem as cepas maternas e tornam-se colonizadas. A probabilidade de colonização durante o nascimento é maior se a mãe estiver densamente colonizada. Outros fatores de risco para a colonização neonatal são parto prematuro, ruptura prolongada de membranas e febre intraparto. A doença

em recém-nascidos com até sete dias de idade é chamada de **doença de início precoce**; já aquela que surge entre a primeira semana e os 3 meses de idade é considerada **doença de início tardio**. Os sorotipos mais comumente associados à doença neonatal de início precoce são Ia (35% a 40%), III (30%) e V (15%). O sorotipo III é responsável pela maioria das doenças de início tardio. Os sorotipos Ia e V são os mais comuns nas **doenças que acometem os adultos**.

A colonização com subsequente desenvolvimento de doença no neonato pode ocorrer ainda no útero, no momento do parto ou durante os primeiros meses de vida. *S. agalactiae* é a causa mais comum de septicemia e meningite em recém-nascidos. O uso de profilaxia antibiótica intraparto tem sido responsável pela significativa diminuição de doença neonatal, de aproximadamente 8.000 infecções em 1993 para 1.800 casos registrados em 2002.

Existem mais infecções por estreptococos do grupo B em adultos (17.000 casos estimados de infecções invasivas em 2002) do que em neonatos. Porém, a incidência total é maior em neonatos. O risco de aquisição de doença é maior em gestantes do que em homens e em mulheres não grávidas. As manifestações mais comuns na mulher grávida são: infecções do trato urinário, amnionites, endometrites e infecções de feridas. As doenças que acometem homens e mulheres não grávidas são, principalmente, infecções de pele e tecidos moles, bacteremias, sepse urinária (infecção do trato urinário com bacteremia) e pneumonia. As condições que predispõe a aquisição de infecção nestes indivíduos incluem diabetes melito, doença crônica renal ou hepática, câncer e infecção com HIV.

Doenças Clínicas

Doença Neonatal de Início Precoce

Os sintomas clínicos da doença por estreptococos do grupo B, adquiridos no útero ou no momento do nascimento, se desenvolvem durante a primeira semana de vida. A doença de início precoce, caracterizada por **bacteremia, pneumonia** ou **meningite**, é indistinguível da sepse causada por outros microrganismos. Como o envolvimento pulmonar é observado na maioria das crianças e o comprometimento meníngeo pode ser inicialmente inaparente, o exame do líquido cefalorraquidiano é necessário para todos os neonatos infectados. A taxa de mortalidade está atualmente reduzida a menos de 5%. Esta redução na taxa de mortalidade deve-se aos testes rápidos para o diagnóstico e às melhores terapias de suporte. No entanto, 15% a 30% das crianças que sobrevivem à meningite apresentam sequelas neurológicas, incluindo cegueira, surdez e retardo mental grave.

Doença Neonatal de Início Tardio (Caso Clínico 22-2)

A doença de início tardio é adquirida de uma fonte exógena (p. ex.: mãe ou outra criança) e se desenvolve entre a primeira semana e o 3º mês de idade. A manifestação clínica predominante é a **bacteremia acompanhada de meningite**, semelhante a doenças causadas por outros microrganismos. Embora a taxa de mortalidade seja baixa (*i.e.*, 3%), as complicações neurológicas são comuns em crianças com meningite (*i.e.*, 25% a 50%).

Caso Clínico 22-2 Doença por Streptococcus do Grupo B em um Neonato

Este caso é uma descrição (Hammersen et al.: Eur J Ped 126:189197, 1977) da doença de início tardio causada por estreptococos do grupo B, em um neonato do sexo masculino, pesando 3kg e 400 gramas e nascido de parto normal. O exame físico foi normal durante a primeira semana de vida; entretanto, começou a se alimentar irregularmente durante a segunda semana. No 13º dia, o bebê foi admitido no hospital aparentando desconforto generalizado. Foi realizada uma punção lombar e coletada uma pequena quantidade de

líquido cefalorraquidiano que se apresentava turvo, de onde foi isolado *Streptococcus agalactiae* do sorotipo III. Apesar de terapia antimicrobiana imediata, a criança desenvolveu hidrocefalia e foi implantado um desvio atrioventricular. A criança teve alta hospitalar após 3 meses e meio, apresentando retardo do desenvolvimento psicomotor. Este caso ilustra um quadro de meningite neonatal causada pelo mais frequente sorotipo de estreptococos do grupo B, envolvido na doença de início tardio e as complicações associadas a esta infecção.

Infecções em Mulheres Grávidas

Endometrites pós-parto, infecções de feridas e do trato urinário ocorrem em mulheres durante ou imediatamente após a gravidez. Como as mulheres grávidas normalmente apresentam um bom estado de saúde, o prognóstico é excelente para aquelas que recebem terapia apropriada. As complicações secundárias à bacteremia, como endocardite, meningite e osteomielite, são raras.

Infecções em Homens e Mulheres Não Grávidas

Comparando-se com as gestantes, homens e mulheres não grávidas, que adquirem infecções por estreptococos do grupo B, são geralmente mais velhos e apresentam condições debilitantes. As manifestações mais comuns são **bacteremia, pneumonia, infecções em articulações, ossos, pele e tecidos moles**. Como esses pacientes frequentemente se apresentam imunocomprometidos, a taxa de mortalidade é mais elevada nesta população.

Diagnóstico Laboratorial

Detecção de Antígeno

Testes para detecção direta dos estreptococos do grupo B nos espécimes urogenitais são comercialmente disponíveis, porém apresentam sensibilidade muito baixa para serem utilizados no rastreamento de gestantes colonizadas e para predizer o risco de aquisição de infecção para o recém-nascido. Da mesma forma, os testes de detecção direta de antígenos no líquido cefalorraquidiano também apresentam sensibilidade baixa (< 30%). A coloração de Gram do LCR é um teste mais sensível e, portanto, recomendado nestes casos.

Teste Baseados em Ácidos Nucleicos

Ensaios baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) foram aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) diretamente de *swabs* retais ou vaginais coletados de mulheres grávidas. Como a sensibilidade e especificidade são comparáveis à cultura, este teste é uma alternativa rápida para a detecção de *Streptococcus* do grupo B.

Cultura

Os estreptococos do grupo B crescem prontamente em meios nutricionalmente ricos, produzindo colônias grandes após 24 horas de incubação (Fig. 22-2). A β-hemólise pode ser de

difícil visualização ou mesmo estar ausente, tornando-se um problema para detecção dos estreptococos do grupo B, quando outros microrganismos estão presentes na cultura (p. ex., cultura de *swab* vaginal). Assim, um meio líquido seletivo com antibióticos para suprimir o crescimento de outros microrganismos (p. ex.: caldo LIM com colistina e ácido nalidíxico) é recomendado pelo CDC para detecção de estreptococos do grupo B em mulheres que estejam entre a 35ª e a 37ª semana de gestação.

Identificação

Uma identificação preliminar de uma cepa isolada pode ser realizada pela demonstração de um **teste para a catalase** negativo, positivo para o teste de Christie, Atkins, Munch-Petersen (**CAMP** - Fig. 22-5) e pela **hidrólise do hipurato**. Os estreptococos do grupo B são identificados definitivamente pela demonstração da presença do carboidrato grupo-específico ou pelo uso de sondas moleculares preparadas comercialmente.

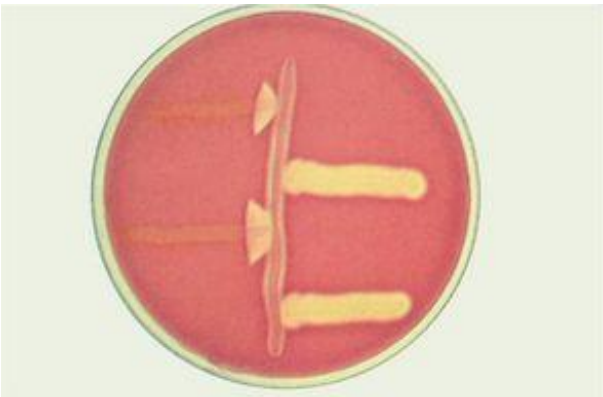


Figura 22-5 Teste CAMP com estreptococos do grupo B. Os estreptococos do grupo B produzem uma proteína difusível e estável ao calor (fator CAMP) que aumenta a β-hemólise de *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* (semeado sob a forma de estria da parte superior até a inferior na placa de agar) produz esfingomielinase C, que se liga à membrana dos eritrócitos. Quando expostas ao fator CAMP do grupo B, as células sofrem hemólise (compare os dois resultados positivos de hemólise aumentada no lado esquerdo da estria de *S. aureus* com os dois resultados negativos do lado direito).

(Retirado de Howard BJ: Clinical and Pathogenic Microbiology. St Louis, Mosby, 1987.)

Tratamento, Prevenção e Controle

Os estreptococos do grupo B são sensíveis à **penicilina**, que é o fármaco de escolha para o tratamento de infecções causadas por esse agente bacteriano. No entanto, a concentração inibitória mínima (CIM) necessária para inibir o microrganismo é aproximadamente 10 vezes maior do que para *S. pyogenes*. Além disso, tem sido relatada tolerância à penicilina (capacidade do antibiótico em inibir, mas não matar, o microrganismo). Por estas razões, a combinação de penicilina a um aminoglicosídeo é frequentemente usada para o tratamento das infecções graves. O uso de **vancomicina** é uma terapia alternativa para pacientes alérgicos à penicilina. A resistência à eritromicina e à tetraciclina tem sido observada.

Num esforço para prevenir as infecções neonatais, é recomendado o **rastreamento da colonização** por estreptococos do grupo B em mulheres que estejam na 35ª a 37ª semana gestacional (informações adicionais no documento do CDC estão disponíveis em http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5111a1.htm). A **quimioprofilaxia** deve ser utilizada em todas as mulheres que estejam colonizadas ou que sejam de alto risco. Uma mulher grávida que tenha história de parto anterior onde a criança apresentou infecção por estreptococos do grupo B ou, no momento do parto, apresentou fatores de risco específicos é considerada alto risco para o desenvolvimento de doença invasiva por este microrganismo. Esses fatores de risco são (1) temperatura intraparto de pelo menos 38°C; (2) ruptura de membrana pelo menos 18 horas antes do parto; e (3) cultura vaginal ou retal positiva para o microrganismo na 35ª à 37ª semana de gestação. Nestes casos, é recomendada a administração de penicilina G intravenosa pelo menos quatro horas antes do parto; cefazolina ou vancomicina são usadas para mulheres alérgicas à penicilina. Esta estratégia assegura níveis elevados e protetores de antibiótico no sistema circulatório da criança no momento do nascimento.

Devido à doença no recém-nascido estar associada à diminuição de anticorpos circulantes na mãe, tem-se direcionado esforços para o desenvolvimento de uma vacina polivalente contra os sorotipos Ia, Ib, II, III e V. Os polissacarídeos capsulares são pouco imunogênicos; no entanto, quando conjugados ao toxoide tetânico, tem melhorado a imunogenicidade da vacina. Ensaios clínicos com esta vacina polivalente demonstraram que níveis protetores de anticorpos foram induzidos em modelos animais. No entanto, o desenvolvimento comercial desta vacina para uso em humanos ainda não foi iniciado.

Outros Estreptococos β-Hemolíticos

Entre os outros estreptococos β-hemolíticos, os grupos C, F e G são os mais comumente associados a doenças em seres humanos. Os microrganismos particularmente mais importantes são os pertencentes ao grupo *Streptococcus anginosus* (inclui *S. anginosus, S. constellatus* e *S. intermedius*) e *Streptococcus dysgalactiae*. Os membros β-hemolíticos do grupo *S. anginosus* podem possuir o antígeno polissacarídico dos grupos A, C, F ou G (ou não apresentar antígeno grupo específico). *S. dysgalactiae* pode ter os antígenos de grupo C ou G. Deve ser observado que cada cepa individual possui apenas um único antígeno de grupo. Cepas de *S. anginosus* crescem como colônias pequenas (necessitando de 2 dias de incubação) com uma zona estreita de β-hemólise (Fig. 22-6A). Estas espécies estão associadas principalmente à formação de abscessos, mas não com faringite, contrastando com a outra espécie de *Streptococcus* do grupo A, *S. pyogenes*. A espécie *S. dysgalactiae* produz colônias grandes com amplas zonas de β-hemólise em meio de agar sangue (Fig. 22-6B), um comportamento semelhante a *S. pyogenes*. Assim como *S. pyogenes*, os membros de *S. dysgalactiae* causam faringite, que algumas vezes leva ao desenvolvimento de glomerulonefrite aguda, mas nunca de febre reumática.

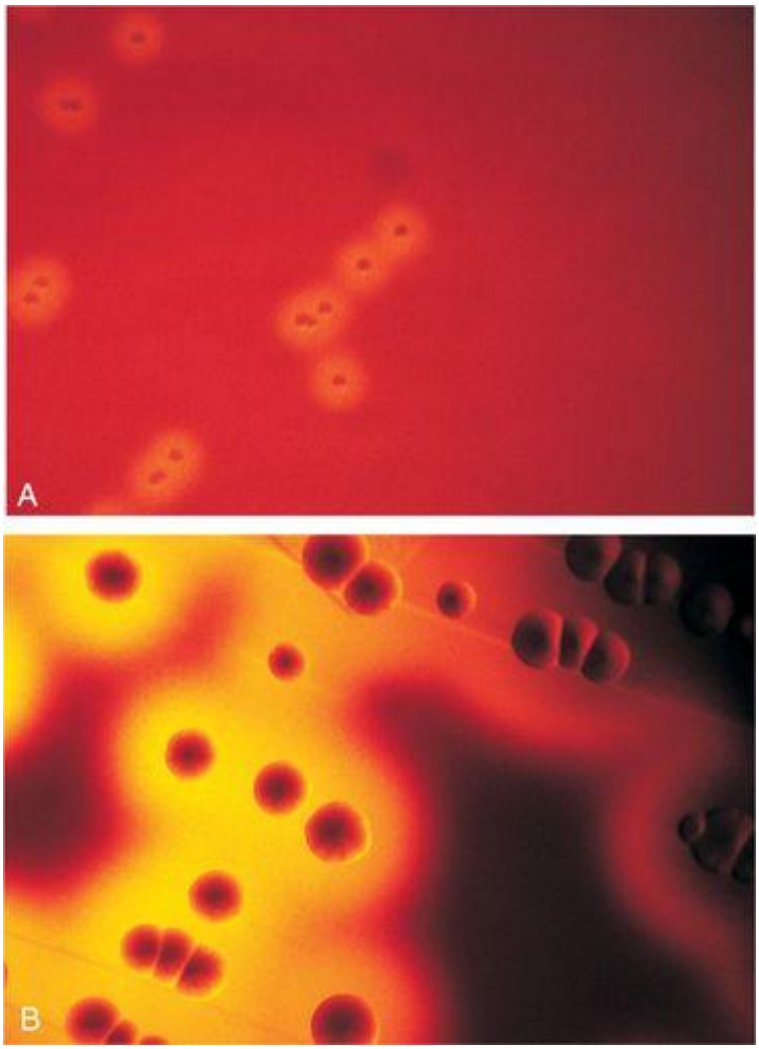


Figura 22-6 *Streptococcus* do grupo C. **A**, *S. anginosus*, espécie que apresenta colônias pequenas. **B**, *S. dysgalactiae*, espécie formadora de colônias grandes.

Estreptococos Viridans

O grupo viridans é um conjunto heterogêneo de estreptococos α-hemolíticos e não hemolíticos. O nome do grupo é derivado de *viridis* (“verde” em latim) pelo fato de muitas destas bactérias produzirem coloração verde no meio de agar sangue (Fig. 22-7). Mais de 30 espécies e subespécies foram identificadas e a maioria alocada em 5 subgrupos. Esse esquema de classificação é clinicamente importante, pois muitas das espécies que compõem os 5 subgrupos são responsáveis por doenças específicas (Tab. 22-2). Alguns membros do grupo dos estreptococos viridans (p. ex., o grupo *S. anginosus*) podem ser β-hemolíticos e apresentar o polissacarídeo de parede celular grupo específico (contribuindo para a confusa classificação do gênero). Além disso, *S. pneumoniae* é um membro do subgrupo de *Streptococcus mitis*. Como *S. pneumoniae* é a espécie mais virulenta do grupo viridans, será discutida separadamente.

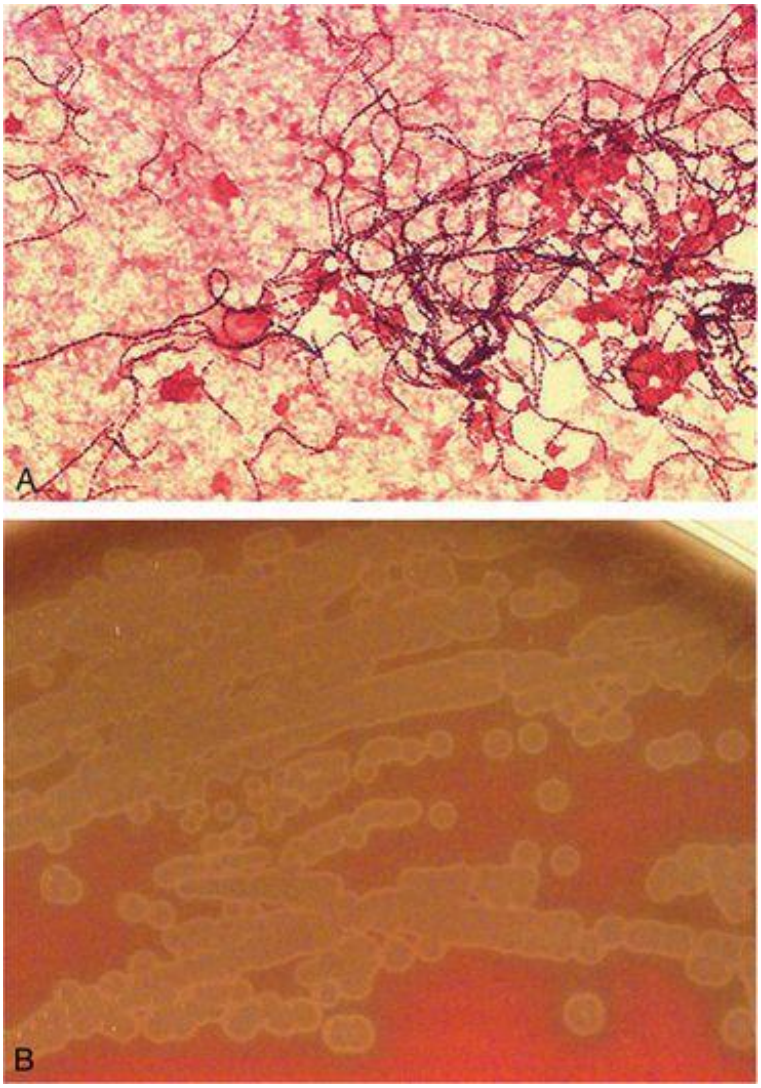


Figura 22-7 *Streptococcus mitis*. **A**, Coloração de Gram de uma hemocultura. **B**, Colônias α-hemolíticas.

Tabela 22-2 Classificação dos *Streptococcus* do Grupo Viridans

Grupo	Espécies Representativas	Doenças
Anginosus	*S. anginosus, S. constellatus, S. intermedius*	Abscessos no cérebro, orofaringe ou cavidade peritonial
Mitis	*S. mitis, S. pneumoniae, S. oralis*	Endocardite subaguda, sepse em pacientes neutropênicos, pneumonia, meningite
Mutans	*S. mutans, S. sobrinus*	Cárie dentária, bacteremia
Salivarius	*S. salivarius*	Bacteremia, endocardite
Bovis	*S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, subsp. *pasteurianus*	Bacteremia associada ao câncer gastrointestinal (subsp. *gallolyticus*); meningite (subsp. *pasteurianus*)
Não grupáveis	*S. suis*	Meningite, bacteremia, síndrome do choque tóxico estreptocócico

Os estreptococos viridans colonizam a orofaringe, o trato gastrointestinal e o trato geniturinário. São raramente encontrados na pele, uma vez que os ácidos graxos da superfície são tóxicos para eles. Como a maioria dos outros estreptococos, as espécies de viridans são nutricionalmente fastidiosas, necessitando de meios complexos suplementados com produtos sanguíneos. Frequentemente requerem incubação em atmosfera que apresente um adicional de 5% a 10% de dióxido de carbono.

No passado, a maioria das cepas de estreptococos viridans era altamente sensível à penicilina, com uma CIM menor que 0,1µg/ml. Entretanto, cepas de estreptococos moderadamente resistentes (CIM para a penicilina de 0,2 a 2µg/ml) e resistentes a concentrações elevadas (CIM > 2µg/ml) tornaram-se comuns no grupo *S. mitis*, que inclui *S. pneumoniae*. Este assunto também será discutido na próxima seção. Infecções com cepas moderadamente resistentes podem ser tratadas, geralmente, com uma combinação de penicilina e um aminoglicosídeo. No entanto, antibióticos alternativos, como cefalosporinas de amplo espectro ou vancomicina, devem ser usados no tratamento das infecções graves causadas por cepas resistentes à penicilina.

Streptococcus pneumoniae (Quadro 22-5)

S. pneumoniae foi isolado simultânea e independentemente por Pasteur e Steinberg há mais de 100 anos. Desde então, as pesquisas com este microrganismo têm resultado em um melhor entendimento da genética molecular, resistência aos antimicrobianos e imunoprofilaxia relacionada a vacinas. Infelizmente, a doença pneumocócica ainda é uma causa significativa de morbidade e mortalidade.

Quadro 22-5 Resumo: Streptococcus pneumoniae

Biologia, Virulência e Doenças

oCocos Gram positivos alongados ou em “forma de lança”, dispostos aos pares (diplococos) e em cadeias curtas; ácido teicoico rico em fosfocolina (polissacarídeo C) e enzima autolítica (amidase) presente na parede celular

Virulência determinada pela capacidade de colonizar a orofaringe (proteínas de superfície responsáveis pela aderência), disseminação para tecidos normalmente estéreis (pneumolisina, IgA protease), estímulo a resposta inflamatória local (ácido teicoico, fragmentos de peptidoglicano, pneumolisina), evasão da morte por fagócitos (cápsula polissacarídica)

Responsável por pneumonia, sinusite, otite média, meningite e bacteremia

Epidemiologia

Maioria das infecções é causada pela disseminação endógena a partir da nasofaringe ou orofaringe, colonizada para o local distante (p. ex., pulmões, seios paranasais, ouvido, sangue, meninges); a disseminação pessoa a pessoa por gotículas transmitidas no ar é rara

Colonização é maior em crianças pequenas e seus contactantes

Indivíduos com doença viral precedente do trato respiratório ou outras condições que interfiram na eliminação do microrganismo do trato respiratório apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de doença pulmonar

Crianças e idosos apresentam risco maior para desenvolvimento de meningite

Indivíduos com distúrbios hematológicos (p. ex., neoplasia, anemia falciforme) ou asplenia funcional apresentam risco para sepse fulminante

Apesar deste microrganismo ser ubíquo, a doença é mais comum nos meses frios

Diagnóstico

A microscopia é altamente sensível, como é a cultura, a menos que o paciente tenha sido tratado com antibióticos

O teste para detecção do antígeno polissacarídico C de pneumococos é sensível em amostras de LCR (meningite), mas isto não ocorre em amostras de urina (meningite, pneumonia e outras infecções)

Testes baseados em ácidos nucleicos não são comumente utilizados para o diagnóstico

A cultura requer o uso de meio nutricionalmente rico (p. ex., agar sangue de carneiro); microrganismos são altamente sensíveis a muitos antibióticos, dessa forma a cultura pode ser negativa em pacientes parcialmente tratados

As cepas são identificadas pelo teste da catalase (negativo), suscetibilidade à optoquina e bile solubilidade

Tratamento, Prevenção e Controle

A penicilina é o fármaco de escolha para as cepas sensíveis, embora a resistência esteja cada vez mais comum

A combinação de fluoroquinolona ou vancomicina com ceftriaxona é usada em pacientes alérgicos à penicilina ou para o tratamento das cepas resistentes à penicilina

A imunização com a vacina conjugada 7 valente é recomendada para todas as crianças menores de 2 anos de idade; a vacina polissacarídica 23 valente é recomendada para adultos sob o risco da doença

Fisiologia e Estrutura

Pneumococos são cocos Gram positivos **encapsulados**. As células têm 0,5 a 1,2µm de diâmetro, formato oval ou lanceolado, dispostas aos pares (**diplococos**) ou em cadeias curtas (Fig. 22-8). Células bacterianas provenientes de culturas antigas descolorem rapidamente e aparecem Gram negativas. A morfologia colonial é variável. As colônias das cepas encapsuladas são geralmente grandes (1 a 3mm de diâmetro em agar sangue; menores em agar chocolate ou agar sangue aquecido), redondas e mucoides. As colônias de cepas não encapsuladas são menores e achatadas. Todas as colônias sofrem autólise com o tempo. Isto é, a porção central da colônia se dissolve, levando a uma aparência côncava. As colônias são α-hemolíticas no meio de agar sangue quando incubadas em aerobiose, porém podem ser β-hemolíticas se crescidas em anaerobiose. A aparência α-hemolítica é resultado da expressão de pneumolisina, uma enzima que degrada a hemoglobina, resultando em um produto esverdeado.

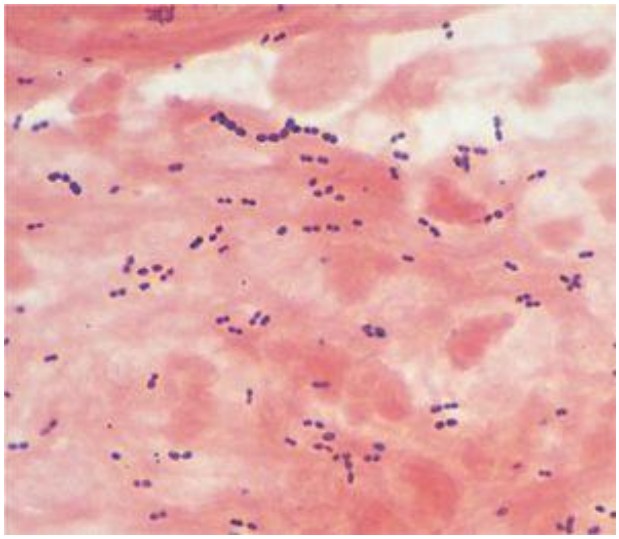


Figura 22-8 Coloração de Gram de *Streptococcus pneumoniae*.

O microrganismo é fastidioso e apresenta necessidades nutricionais complexas e cresce somente em meios ricos suplementados com produtos sanguíneos. *S. pneumoniae* pode fermentar diversos carboidratos, sendo o ácido lático o subproduto metabólico primário. *S. pneumoniae* cresce pouco em meios com concentrações elevadas de glicose, já que nestas condições a concentração de ácido lático atinge níveis tóxicos rapidamente. Como todos os estreptococos, os pneumococos não produzem catalase. A menos que uma fonte exógena de catalase seja fornecida (p. ex., do sangue), o acúmulo de peróxido de hidrogênio inibe o crescimento de *S. pneumoniae*, como observado em agar chocolate.

As cepas virulentas de *S. pneumoniae* apresentam uma **cápsula polissacarídica** complexa. A cápsula polissacarídica tem sido usada para a classificação sorológica das cepas; atualmente, 90 sorotipos são reconhecidos. Os polissacarídeos capsulares purificados dos sorotipos prevalentes são usados em uma vacina polivalente.

A camada de **peptidoglicano** da parede celular dos pneumococos é típica dos cocos Gram positivos. Subunidades alternadas de *N*-acetilglicosamina e de ácido *N*-acetilmurâmico estão ligadas a cadeias de oligopeptídios, que determinam ligações cruzadas por intermédio de pontes de pentaglicina. Outro componente principal da parede celular é o ácido teicoico. Existem duas formas de **ácido teicoico** na parede celular de pneumococos, um exposto na superfície celular e uma forma semelhante covalentemente ligada aos lipídios da membrana plasmática. O ácido teicoico exposto é ligado à camada de peptidoglicana e estende-se através da cápsula sobrejacente. Esta estrutura, espécie específica, é denominada **polissacarídeo C** e não é relacionada ao carboidrato de grupo específico que foi observado

por Lancefield nos estreptococos β-hemolíticos. O polissacarídeo C precipita uma fração soroglobulina **(proteína C reativa [PCR])**, na presença de cálcio. A PCR está presente em baixas concentrações em indivíduos saudáveis e se encontra elevada em pacientes com doenças inflamatórias agudas (consequentemente, o monitoramento dos níveis de PCR é usado para predizer inflamação). O ácido teicoico ligado ao lipídio na membrana plasmática bacteriana é chamado de **antígeno F**, porque pode reagir cruzadamente com o antígeno de Forssman nas células de mamíferos. Ambas as formas do ácido teicoico estão associadas a resíduos de fosfocolina. A **fosfocolina** é característica de *S. pneumoniae* e desempenha um importante papel na regulação da hidrólise da parede celular destes microrganismos. A fosfocolina deve estar presente para a atividade da autolisina pneumocócica, **amidase**, durante a divisão celular.

Patogênese e Imunidade

Embora *S. pneumoniae* tenha sido extensivamente estudado, muito permanece por ser entendido sobre a patogênese da doença pneumocócica. As manifestações da doença estão mais associadas à resposta do hospedeiro à infecção do que à produção de fatores tóxicos específicos do microrganismo. No entanto, é crucial a compreensão de como *S. pneumoniae* coloniza a orofaringe, se dissemina nos tecidos normalmente estéreis, estimula uma resposta inflamatória localizada e escapa da morte causada por células fagocíticas.

Colonização e Migração

S. pneumoniae é um patógeno humano que coloniza a orofaringe e, em situações específicas, é capaz de se disseminar para os pulmões, seios paranasais e ouvido médio. Também pode ser transportado pela circulação sanguínea para locais distantes como o cérebro. A colonização inicial da orofaringe é mediada pela interação do microrganismo com as células epiteliais, por meio de **adesinas proteicas de superfície**. A migração subsequente do microrganismo para o trato respiratório inferior pode ser evitada se a bactéria for envolvida pelo muco e removida das vias aéreas por ação das células epiteliais ciliadas. As bactérias neutralizam este envolvimento produzindo a **protease secretora IgA (sIgA)** e a **pneumolisina**. A IgA secretora prende os microrganismos à mucina, se ligando na bactéria no sítio de ligação do antígeno e na região Fc da mucina. A protease bacteriana evita essa interação. A **pneumolisina**, uma citotoxina semelhante à estreptolisina O de *S. pyogenes*, liga-se ao colesterol na membrana das células hospedeiras, produzindo poros. Esta atividade pode destruir as células epiteliais ciliadas e as fagocíticas.

Destruição de Tecidos

Uma característica das infecções pneumocócicas é a mobilização das células inflamatórias para o foco da infecção. O processo é mediado pelo **ácido teicoico** pneumocócico, por **fragmentos de peptidoglicano** e pela pneumolisina. O ácido teicoico e fragmentos do peptidoglicano ativam a via alternativa do sistema complemento, produzindo C5a que medeia o processo inflamatório. Esta atividade é amplificada pela enzima bacteriana **amidase**, que aumenta a liberação dos componentes da parede celular. A **pneumolisina** ativa a via clássica do sistema complemento, resultando na produção de C3a e C5a. Por sua vez, citocinas como IL-1 e TNF-α são produzidas pelos leucócitos ativados, levando à migração posterior de células inflamatórias para o local da infecção, febre, dano tissular e outros sinais característicos da infecção pneumocócica. A produção de **peróxido de hidrogênio** por *S. pneumoniae* também pode levar ao dano tissular causado pelos reativos intermediários do oxigênio.

Finalmente, a **fosfocolina** presente na parede celular bacteriana pode se ligar aos receptores para a ativação do fator plaquetário, que são expressos na superfície de células endoteliais, leucócitos, plaquetas e células constituintes de tecidos, como nos pulmões e meninges. Devido à ligação a estes receptores, as bactérias podem penetrar nas células, onde estarão protegidas da opsonização e fagocitose, e passar para áreas isoladas como o sangue e sistema nervoso central. Esta atividade facilita a disseminação da doença.

Sobrevivência à Fagocitose

S. pneumoniae sobrevivem à fagocitose devido à proteção antifagocitária fornecida pela

cápsula e pela supressão das células fagocitárias oxidativas, necessárias para morte intracelular, mediadas pela pneumolisina. A virulência de *S. pneumoniae* é um resultado direto da cápsula. Cepas encapsuladas (lisas) podem causar doença em seres humanos e em modelos animais, enquanto cepas que não apresentam cápsula (rugosas) não são virulentas. Os anticorpos dirigidos para os polissacarídeos capsulares tipo específicos protegem contra a doença causada por cepas imunologicamente relacionadas. Os polissacarídeos capsulares são solúveis e por isso são denominados de **substância solúvel específica**. Polissacarídeos liberados no meio protegem os microrganismos viáveis da fagocitose ligando-se a anticorpos opsonizantes.

Epidemiologia

S. pneumoniae é comum na orofaringe e na nasofaringe de indivíduos saudáveis, sendo que a colonização é mais comum nas crianças do que nos adultos, e em adultos que convivem com crianças. A colonização por *S. pneumoniae* ocorre inicialmente próximo dos 6 meses de idade. Posteriormente, a criança é colonizada de forma transitória com outros sorotipos do microrganismo. A duração do estado de portador diminui a cada sorotipo subsequente, em parte por causa do desenvolvimento de imunidade sorotipo específica. Embora novos sorotipos possam ser adquiridos durante todo o ano, as incidências do estado de portador e de doença são mais altas durante os meses frios. As cepas de pneumococos que causam doença são as mesmas que estão associadas ao estado de portador.

A doença pneumocócica ocorre quando o microrganismo colonizador da nasofaringe e da orofaringe se dissemina para os pulmões (pneumonia), seios paranasais (sinusite), ouvido (otite média) ou meninges (meningite). A disseminação de *S. pneumoniae* pelo sangue para outros sítios corpóreos pode ocorrer em todas as infecções.

Apesar da introdução do uso de vacinas na população infantil e idosa ter reduzido a incidência da doença causada por *S. pneumoniae*, o microrganismo ainda é causa comum de pneumonia bacteriana comunitária (adquirida fora do ambiente hospitalar), meningite, otite média, sinusite e bacteremia. A doença é mais comum em crianças e nos idosos; ambas as populações têm níveis baixos de anticorpos protetores para os polissacarídeos capsulares dos pneumococos.

A pneumonia ocorre quando os microrganismos endógenos orais são aspirados para as vias aéreas inferiores. Embora as cepas possam se disseminar por gotículas transmitidas pelo ar de um indivíduo para outro, em uma determinada população, as situações epidêmicas são raras. A doença ocorre quando os mecanismos naturais de defesa (p. ex., reflexo da epiglote, apreensão das bactérias pelas células produtoras de muco do revestimento brônquico, remoção dos microrganismos pelo epitélio respiratório ciliado e reflexo de tosse) são logrados, permitindo que os microrganismos que colonizam a orofaringe ganhem acesso aos pulmões. A doença pneumocócica está frequentemente associada a uma doença respiratória viral precedente, como influenza, ou com outras condições que interfiram na eliminação bacteriana, como doença pulmonar crônica, alcoolismo, insuficiência cardíaca congestiva, diabetes melito, doença renal crônica e disfunção esplênica ou esplenectomia.

Pneumonia (Caso Clínico 22-3)

A **pneumonia** pneumocócica se desenvolve quando as bactérias se multiplicam nos espaços alveolares. Após aspiração, as bactérias crescem rapidamente no fluido nutricionalmente rico do edema. Os eritrócitos, que vazam dos capilares congestionados, acumulam-se nos alvéolos, seguidos pelos neutrófilos e pelos macrófagos alveolares. Este estado regride quando se desenvolvem anticorpos específicos anticapsulares, que facilitam a fagocitose e morte do microrganismo.

Caso Clínico 22-3 Pneumonia Causada por Streptococcus pneumoniae

Costa et al. (Am J Hematol 77:277281, 2004) descreveram um caso que envolvia uma paciente do sexo feminino, de 68 anos de idade, que se apresentava saudável até 3 dias anteriores à hospitalização. A paciente desenvolveu febre, calafrios, fraqueza, tosse produtiva e dor torácica pleurítica. Na admissão hospitalar, a paciente estava febril com o pulso e a taxa respiratória aumentados, apresentando moderado desconforto respiratório. Exames laboratoriais iniciais indicaram leucopenia, anemia e falha renal aguda. A radiografia do pulmão demonstrou a presença de infiltrado nos lobos inferiores direito e esquerdo, com efusão pleural. Foi isolado *S. pneumoniae* a partir da hemocultura e da secreção respiratória e foi iniciada terapia com fluoroquinolona. Testes adicionais (eletroforese de proteínas séricas e de urina) revelaram que a paciente apresentava mieloma múltiplo. A infecção foi eliminada após o 14º dia do curso da antibioticoterapia. Este caso ilustra um quadro típico de pneumonia lobar pneumocócica e a sensibilidade aumentada para este tipo de infecção, em pacientes que estão com capacidade de eliminação de microrganismos encapsulados diminuída.

As manifestações clínicas da pneumonia pneumocócica aparecem de forma abrupta com calafrios intensos, com tremores e febre persistente de 39°C a 41°C. Frequentemente, de 1 a 3 dias antes do aparecimento dos primeiros sintomas, o paciente apresenta infecção viral do trato respiratório. A maioria dos pacientes apresenta tosse produtiva com escarro sanguinolento e, comumente, dor torácica (pleurisia). Como a doença está associada à aspiração, é geralmente localizada nos lóbulos inferiores dos pulmões (por isso o nome **pneumonia lobar**; Fig. 22-9). No entanto, crianças e idosos podem apresentar uma broncopneumonia mais generalizada. Os pacientes normalmente se recuperam rapidamente após o início de terapia antimicrobiana apropriada, com completa resolução da imagem radiológica de duas a três semanas.

Figura 22-9 Consolidação densa localizada no lobo inferior esquerdo em paciente com pneumonia causada por *S. pneumoniae*.

(Retirado de Mandell G, Bennet J, Donlin R: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia, Elsevier, 2005.)

Em geral a taxa de mortalidade é de 5%, embora a maior probabilidade de morte esteja relacionada ao sorotipo do microrganismo, idade do paciente e presença de doença de base. A taxa de mortalidade é consideravelmente mais alta dentre as doenças causadas pelo *S. pneumoniae* do tipo 3, como em pacientes idosos e naqueles com bacteremia documentada. Pacientes apresentando **disfunção esplênica** ou submetidos à esplenectomia podem também desenvolver doença pneumocócica grave, como resultado da capacidade reduzida de eliminação dos microrganismos da corrente sanguínea e de uma produção deficiente dos primeiros anticorpos. Nestes pacientes, a doença está associada a um curso fulminante e a uma elevada taxa de mortalidade.

Normalmente, pacientes com pneumonia pneumocócica não apresentam abscessos, exceto quando sorotipos específicos estão envolvidos (p. ex., sorotipo 3). Efusões pleurais são observadas em aproximadamente 25% dos pacientes com pneumonia pneumocócica; entretanto, empiema (efusão purulenta) é uma complicação rara.

Sinusite e Otite Média

S. pneumoniae é causa comum de infecções agudas dos seios paranasais e dos ouvidos. A doença é normalmente precedida por uma infecção viral do trato respiratório superior ocorrendo logo após o infiltrado de leucócitos polimorfonucleares (PMN), que obstrui os seios paranasais e o canal auditivo. A infecção do ouvido médio (**otite média**) é observada, principalmente, em crianças. Porém, a **sinusite** bacteriana pode ocorrer em pacientes de todas as idades.

Meningite

S. pneumoniae pode se disseminar para o sistema nervoso central após bacteremia, otite, sinusite ou trauma craniano que venha proporcionar uma comunicação entre o espaço subaracnoide e a nasofaringe. Embora a **meningite pneumocócica** seja relativamente incomum em neonatos, *S. pneumoniae* é atualmente um importante agente causador de doença em crianças e adultos. As taxas de mortalidade e de deficiência neurológica grave são de quatro a 20 vezes mais comuns em pacientes com meningite causada por *S. pneumoniae* do que por outros patógenos.

Bacteremia

A **bacteremia** ocorre em 25% a 30% dos pacientes com pneumonia pneumocócica e em mais de 80% dos que apresentam meningite. Por outro lado, os microrganismos normalmente não estão presentes no sangue dos pacientes com otite média ou sinusite. A endocardite pode ocorrer em pacientes com válvulas normais ou previamente danificadas. É comum a destruição do tecido da válvula cardíaca.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

A **coloração de Gram** de espécimes clínicos, como escarro, é uma maneira rápida de diagnosticar a pneumonia pneumocócica e a meningite. Os microrganismos aparecem, caracteristicamente, como cocos Gram positivos aos pares e alongados (comumente referidos como diplococos em forma lanceolada), circundados por uma cápsula não corada; entretanto, podem parecer Gram negativos, porque tendem a não se corar adequadamente (particularmente culturas mais velhas). Além disso, sua morfologia pode aparecer distorcida quando os isolados bacterianos são provenientes de culturas de pacientes em uso de antibioticoterapia. Uma coloração de Gram consistente com *S. pneumoniae* pode ser confirmada pela reação de **quellung** (inchaço em alemão). Neste teste, anticorpos polivalentes anticapsulares são misturados com as células bacterianas e a mistura é examinada por microscopia. Uma grande área de refringência ao redor da célula bacteriana é considerada uma reação positiva para *S. pneumoniae*.

Detecção de Antígeno

O **polissacarídeo C de pneumococos** é excretado na urina e pode ser detectado usando-se imunoensaio disponível comercialmente. A sensibilidade máxima requer que a urina seja concentrada por ultrafiltração, antes de ser testada. A sensibilidade relatada é de 70% em pacientes com pneumonia pneumocócica acompanhada de bacteremia. No entanto, a especificidade pode ser baixa, particularmente em pacientes pediátricos, não sendo recomendado para estes pacientes. O teste utilizando líquido cefalorraquidiano apresenta 100% de sensibilidade para pacientes com meningite pneumocócica; entretanto, a sensibilidade e a especificidade são baixas quando se utiliza a urina destes pacientes.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Sondas de ácidos nucleicos e protocolos de PCR têm sido utilizados na identificação de *S. pneumoniae* a partir da cultura, mas não são empregados rotineiramente na detecção direta dos microrganismos nos espécimes clínicos, como em secreções respiratórias ou no líquido cefalorraquidiano.

Cultura

Espécimes de escarros devem ser inoculados em um meio nutricionalmente rico, suplementado com sangue. *S. pneumoniae* é isolado em culturas de escarro somente da metade dos pacientes com pneumonia porque, sendo um microrganismo fastidioso que apresenta necessidades nutricionais, costuma ser rapidamente suplantado pelo crescimento da microbiota oral. Um meio seletivo tem sido usado com sucesso para isolar o microrganismo a partir de escarro, mas é preciso ter habilidade técnica para distinguir *S. pneumoniae* de outros estreptococos α-hemolíticos que estão frequentemente presentes no espécime clínico.

Para que os microrganismos responsáveis pela sinusite ou pela otite sejam diagnosticados definitivamente, deve ser obtido um aspirado dos seios paranasais ou do

ouvido médio. Não devem ser realizadas culturas para espécimes retirados da nasofaringe ou do ouvido externo. Não é difícil isolar *S. pneumoniae* a partir do líquido cefalorraquidiano, a menos que a terapia antibiótica tenha sido iniciada antes da coleta do material clínico. As culturas são negativas em até metade dos pacientes infectados que receberam até mesmo uma única dose de antimicrobiano, antes de colher o material clínico.

Identificação

As cepas de *S. pneumoniae* lisam rapidamente, quando as autolisinas são ativadas após exposição à bile (**teste da bile solubilidade**). Assim, o microrganismo pode ser identificado colocando-se uma gota de bile sobre uma colônia isolada. A maioria das colônias de *S. pneumoniae* é dissolvida em poucos minutos, enquanto outros estreptococos α-hemolíticos permanecem inalterados. *S. pneumoniae* podem ser identificados também por testes de suscetibilidade à **optoquina** (diidrocloreto de etil-hidrocupreína). A cepa é semeada em uma placa contendo meio de agar sangue e um disco saturado com optoquina é colocado no centro do inóculo. Após a incubação por 18 horas, observa-se uma zona de inibição do crescimento bacteriano ao redor do disco. Testes adicionais, bioquímicos, sorológicos ou moleculares podem ser realizados para uma identificação definitiva.

Tratamento, Prevenção e Controle

Antes do advento dos antibióticos, o tratamento específico da infecção por *S. pneumoniae* era guiado pela infusão passiva de anticorpos capsulares tipo específicos. Estes anticorpos opsonizantes aumentavam a fagocitose e a morte das bactérias. No entanto, esta imunoterapia foi descontinuada assim que a antibioticoterapia passou a ser disponível.

A **penicilina** rapidamente tornou-se o tratamento de escolha para a doença pneumocócica. Em 1977, pesquisadores da África do Sul registraram cepas de *S. pneumoniae* resistentes a múltiplos antibióticos, incluindo a penicilina. Até 1990, a resistência a níveis elevados de penicilina (CIM de pelo menos 2µg/ml) era relativamente rara, e somente 5% de todas as cepas de *S. pneumoniae* isoladas nos Estados Unidos eram consideradas moderadamente resistentes (CIM de 0,1 a 1,0µg/ml). No entanto, esta situação tem mudado dramaticamente. A resistência à penicilina é atualmente observada em cerca de metade das cepas isoladas nos Estados Unidos e em números mais elevados em outros países. O principal mecanismo de resistência à penicilina está associado à diminuição de afinidade dos antibióticos pelas proteínas ligadoras de penicilina, presentes na parede celular bacteriana. Os pacientes infectados com cepas resistentes apresentam um risco maior de piorar o prognóstico. Recentemente, a resistência aos macrolídeos (p. ex., eritromicina), tetraciclinas e cefalosporinas (p. ex., ceftriaxona) tem se tornado comum. Assim, para o tratamento das infecções graves é recomendado o uso de uma **fluoroquinolona** (p. ex., levofloxacina) ou **vancomicina combinada com ceftriaxona**.

Os esforços para prevenir e controlar a doença pneumocócica têm se concentrado no desenvolvimento de vacinas efetivas anticapsulares. Uma vacina polissacarídica pneumocócica 23-valente (com 23 diferentes polissacarídeos capsulares) é recomendada para crianças maiores de 2 anos de idade e para adultos. Os polissacarídeos são antígenos T-independentes, que estimulam os linfócitos B maduros, mas não os linfócitos T. Crianças muito novas não apresentam uma resposta eficiente para antígenos T-independentes, assim essas vacinas polissacarídicas são ineficazes nesta população. Ao contrário, o uso de polissacarídeos conjugados com proteínas estimula a participação de células T auxiliares, resultando em uma resposta primária forte entre as crianças e uma resposta de reforço efetiva quando reimunizadas. Esta estratégia de usar vacinas conjugadas para a imunização de pacientes pediátricos também tem sido empregada para outros patógenos neonatais, como *Haemophilus influenzae*. A imunização com a vacina pneumocócica conjugada 7-valente é recomendada, atualmente, para crianças menores de 2 anos de idade. A eficácia dessas vacinas é determinada pela prevalência na população dos sorotipos de *S. pneumoniae* responsáveis por doenças invasivas. Sendo assim, estas vacinas são mais eficazes nos Estados Unidos e em países europeus e menos eficientes nos países em desenvolvimento, considerando-se que os sorotipos prevalentes nestes últimos não estejam representados na formulação vacinal. Além disso, apesar da vacina 23-valente ser imunogênica em adultos normais e a imunidade resultante ser duradoura, ela é menos eficaz em pacientes que apresentam risco elevado para o desenvolvimento de doenças pneumocócicas, incluindo (1) pacientes com asplenia, anemia falciforme, neoplasia hematológica e infecção por HIV; (2) pacientes que sofreram transplante renal; e (3) idosos.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 62 anos, com uma história de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), dirigiu-se ao departamento de emergência por causa de uma febre de 40°C, calafrios, náuseas, vômito e hipotensão. O paciente apresentava escarro amarelado e viscoso, cuja quantidade havia aumentado no decorrer dos 3 dias precedentes. Sua frequência respiratória era de 18 movimentos respiratórios/min, e sua pressão sanguínea era 94/52mm Hg. O exame radiológico do tórax mostrou um infiltrado extenso na porção inferior do pulmão esquerdo, envolvendo o lobo inferior e a língula. *S. pneumoniae* foi isolado em múltiplas hemoculturas e em cultura de escarro. A cepa isolada era sensível à cefazolina, vancomicina e eritromicina, mas era

resistente à penicilina.

1. Que condição predisponente tornou esse paciente mais suscetível à pneumonia e à bacteremia causada por *S. pneumoniae*? Que outras populações de pacientes são suscetíveis a estas infecções? Que outras infecções este microrganismo causa e quais são as populações mais suscetíveis?

1. Doenças causadas por *S. pneumoniae* são mais comuns em crianças e idosos, populações que não são capazes de produzir anticorpos contra pneumococos encapsulados. Além disto, pacientes com doenças pulmonares como a DPOC deste paciente, ou com um antecedente viral de infecção respiratória que comprometa a proteção do epitélio respiratorio ciliado, são susceptíveis à pneumonia causada por este organismo. Outras infecções causadas por *S. pneumoniae* incluem otite média (primariamente em crianças jovens), sinusites (em todos os grupos etários), meningites (em todos os grupos etários, mas primariamente em crianças e idosos) e bacteremia (usualmente secundária à pneumonia ou meningite). Pacientes com condições que interferem na eliminação bacteriana, como o alcoolismo, insuficiência cardíaca congestiva, diabetes melito, doença renal crônica e disfunção esplênica, apresentam um risco maior para contrair doença disseminada.

2. Qual é o mecanismo mais provável responsável pela resistência à penicilina nessa cepa?

2. *S. pneumoniae* é capaz de adquirir por transformação (troca de DNA entre bactérias) um DNA que codifica proteínas ligadoras de penicilina alteradas (exemplos: PBP2x, PBP2b, PBP1a). Estas novas PBPs tornam a bactéria menos sensível às penicilinas e a algumas cefalosporinas.

3. Que infecções são causadas por *S. pyogenes, S. agalactiae, S. anginosus, S. dysgalactiae* e estreptococos viridans?

3. *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* grupo A) causam doenças supurativas e não supurativas e são a causa mais comum de faringite bacteriana e de complicações sistêmicas causadas pela escarlatina. Outras doenças supurativas incluem pioderma, erisipela, celulite, fasciite necrosante, linfagite e pneumonia. Doenças não supurativas incluem febre reumática e glomerulonefrite aguda. *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* do grupo B) é um patógeno importante em neonatos e causam doença neonatal de início precoce (bacteremia, pneumonia, meningites) e doença neonatal de início tardio (bacteremia, meningites). *S. agalactiae* também causa doenças em mulheres grávidas, mais comumente infecções do trato urinário, mas também endocardites, meningites e osteomielites. Homens e mulheres idosos são também susceptíveis a apresentarem pneumonia, infecções em articulações, ossos, pele e tecidos moles. *Streptococcus dysgalactiae* é mais comumente associado à faringite e ocasionalmente à glomerulonefrite aguda (mas não febre reumática como nos casos de *S. pyogenes*) . *Streptococcus anginosus* causam abscessos em tecidos profundos e estreptococos viridans causam uma variedade de doenças, entre elas, as mais comumente diagnosticadas são a endocardite bacteriana subaguda, cáries dentárias e formações de abscessos.

4. Quais são os principais fatores de virulência de *S. pneumoniae, S. pyogenes* e *S. agalactiae*?

4. O maior fator de virulência de *S. pneumoniae* é a cápsula responsável pela proteção

antifagocitária. As proteínas adesinas da superfície da bactéria facilitam a colonização da orofaringe pela ligação às células do epitélio. A fosfocolina presente na célula bacteriana liga-se à superfície de uma variedade de células (endotelial, leucócitos, plaquetas) e permite a entrada nestas células onde as bactérias são protegidas por opsonização e fagocitose. Ácido teicoico, fragmentos de peptidoglicano e pneumolisinas estimulam a resposta inflamatória levando a formação de abscessos. *S. pyogenes* possui muitos fatores de virulência. Antígenos bacterianos (exemplos: ácido lipoteicoico, proteínas M, proteínas F) mediam a aderência às células do hospedeiro. Proteínas M também funcionam para impedir a opsonização e fagocitose da bactéria. A bactéria também produz uma variedade de toxinas e enzimas citolíticas, incluindo exotoxinas pirogênicas, estreptolisinas (S e O), estreptoquinases (A e B), desoxirribonucleases (A to D), C5a peptidase e hialuronidase. *S. agalactiae* primariamente produz doença em hospedeiros que não são capazes de produzir uma resposta de anticorpos anticapsulares (neonatos, idosos). O papel das enzimas hidrolíticas (exemplo: desoxirribonucleases, hialuronidase, neuraminidase, proteases, hemolisinas) é desconhecido.

5. *S. pyogenes* pode causar a síndrome do choque tóxico estreptocócico. Como essa doença se diferencia da que é causada pelos estafilococos?

5. O choque tóxico estreptocócico é definido como qualquer infecção causada por *S. pyogenes* associada ao choque e à falência dos órgãos (incluindo diminuição da função, coagulopatias, envolvimento do fígado, doenças pulmonares, necrose de tecidos moles, rompimento eritematoso generalizado). Em contraste com o choque tóxico estafilocócico, que é mediado pelo TSST-1, a doença estreptocócica é caracterizada pela presença de bactérias no sangue e nos tecidos envolvidos.

6. Quais são as duas doenças não supurativas que podem se desenvolver após doença localizada por *S. pyogenes*?

6. Febre reumática e glomerulonefrite aguda são complicações da doença causada por *S. pyogenes*. A febre reumática é associada com faringite estreptocócica, mas não com infecções cutâneas. A glomerulonefrite aguda é associada com infecções da faringe e pioderma, mas as cepas específicas responsáveis pela complicação são diferentes.

Bibliografia

Barry AL. Antimicrobial resistance among clinical isolates of Streptococcus pneumoniae in North America. *Am J Med*. 1999;107:28S-33S.

Bisno AL, Stevens DL. Streptococcal infections of skin and soft tissues. *N Engl J Med*. 1996;334:240-245.

Cunningham M. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:470-511.

Hava D, LeMieux J, Camilli A. From nose to lung: The regulation behind Streptococcus pneumoniae virulence factors (review). *Mol Microbiol*. 2003;50:1103-1110.

Greene CM, et al. Preventability of invasive pneumococcal disease and assessment of current polysaccharide vaccine recommendations for adults: United States, 2001–2003. *Clin Infect Dis*. 2006;43:141-150.

Johnson D, et al. A comparison of group A streptococci from invasive and uncomplicated infections: Are virulent clones responsible for serious streptococcal infections? *J Infect Dis*. 2002;185:1586-1595.

Kaul R, et al. Population-based surveillance for group A streptococcal necrotizing fasciitis: Clinical features, prognostic indicators, and microbiologic analysis of seventy-seven

cases. *Am J Med*. 1997;103:18-24.
Metlay J, et al. Impact of penicillin susceptibility on medical outcomes for adult patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2000;30:520-528.
Schrag S, Schuchat A. Easing the burden: Characterizing the disease burden of neonatal group B streptococcal disease to motivate prevention. *Clin Infect Dis*. 2004;38:1209-1211.
Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: Shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:497-513.
Stevens DL. Streptococcal toxic shock syndrome: Spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment. *Emerging Infect Dis*. 1995;1:69-78.

23 Enterococcus e Outros Cocos Gram Positivos

O número de gêneros de cocos Gram positivos catalase negativos, reconhecidos como patógenos humanos, continua a aumentar. Entretanto, *Streptococcus* (Cap. 22) e *Enterococcus* (Quadro 23-1) são os gêneros mais frequentemente isolados e comumente responsáveis por doenças humanas (Tabs. 23-1 e 23-2). Os demais gêneros são relativamente incomuns e estão apresentados de forma resumida neste capítulo.

Quadro 23-1 Enterococos Importantes

Microrganismo	Origem Histórica
Enterococcus	*enteron*, “intestino”; *coccus*, “grão”, “semente” (grão/semente intestinal)
E. faecalis	*faecalis*, relativo a “fezes”
E. faecium	*faecium*, “das fezes”
E. gallinarum	*gallinarum*, “de galinhas” (a fonte original de isolamento foi o intestino de aves domésticas)
E. casseliflavus	*casseli*, “de Kassel”; *flavus*, “amarelo” (amarelo de Kassel)

Tabela 23-1 Frequência da Colonização em Humanos e das Doenças Causadas por Cocos Gram Positivos Catalase Negativos

Gênero	Colonização em Humanos	Doença em Humanos
Enterococcus	Comum	Comum
Streptococcus	Comum	Comum
Abiotrophia	Incomum	Incomum
Granulicatella	Incomum	Incomum
Leuconostoc	Incomum	Incomum
Aerococcus	Incomum	Raro
Pediococcus	Incomum	Raro
Lactococcus	Incomum	Raro

Tabela 23-2 Cocos Gram Positivos Catalase Negativos e Respectivas Doenças

Microrganismo	Doenças
Abiotrophia	Bacteremia, endocardite (válvulas cardíacas e protéticas), abscessos cerebrais de origem nosocomial e meningite, infecções oculares
Aerococcus	Bacteremia, endocardite, infecções do trato urinário
Enterococcus	Bacteremia, endocardite, infecções do trato urinário e infecções de feridas
Granulicatella	Bacteremia, endocardite (válvulas cardíacas nativas e protéticas), infecções oculares
Lactococcus	Bacteremia em pacientes imunodeprimidos, endocardite (válvulas cardíacas nativas e protéticas), infecções do trato urinário, osteomielite
Leuconostoc	Infecções oportunistas incluindo bacteremia, infecções de feridas e do sistema nervoso central e peritonite
Pediococcus	Infecções oportunistas incluindo bacteremia em pacientes com imunodepressão grave
Streptococcus	Consulte o Capítulo 22

Enterococcus (Quadro 23-2)

Os enterococos (“cocos entéricos”) foram classificados inicialmente como **estreptococos do grupo D**, porque possuem o **antígeno de parede celular do grupo D**, um ácido teicoico glicerol associado à membrana citoplasmática. Em 1984, os enterococos foram reclassificados em um novo gênero, *Enterococcus*, que atualmente contém 38 espécies; entretanto, apenas poucas espécies são reconhecidas como importantes patógenos humanos. ***Enterococcus faecalis*** e ***Enterococcus faecium*** são as espécies mais frequentemente isoladas e que apresentam maior importância clínica. As espécies ***Enterococcus gallinarum*** e ***Enterococcus casseliflavus*** também colonizam o trato intestinal humano e são importantes porque apresentam resistência intrínseca à vancomicina.

Quadro 23-2 *Enterococcus*: Resumo

Biologia, Virulência e Doença

Cocos Gram positivos dispostos ao pares e em cadeias curtas (morfologicamente semelhantes aos *Streptococcus pneumoniae*)

Parede celular com antígeno grupo específico (ácido teicoico glicerol do grupo D)

Virulência mediada pela capacidade de aderir aos tecidos do hospedeiro, secretar citolisinas e proteases que causam dano tissular localizado, e resistir à antibioticoterapia

As principais doenças incluem infecções do trato urinário, de feridas, intra-abdominais (geralmente polimicrobianas), bacteremia e endocardite

Epidemiologia

Colonizam o trato gastrointestinal de humanos e de animais; disseminam-se para outras superfícies mucosas, caso um tratamento prévio com antimicrobianos de amplo espectro tenha eliminado a população bacteriana da microbiota normal

A estrutura da parede celular é típica de bactérias Gram positivas, que permitem a sobrevivência em superfícies do ambiente por longos períodos de tempo

A maioria das infecções é decorrente da microbiota do paciente; algumas são causadas por disseminação da cepa de um paciente para o outro

Pacientes com risco elevado de contrair infecções enterocócicas são os pacientes hospitalizados por períodos prolongados de tempo e pacientes em tratamento com antimicrobianos de amplo espectro (particularmente cefalosporinas, que os enterococos apresentam resistência intrínseca)

Diagnóstico

Cresce prontamente em meios comuns e não seletivos. São diferenciados dos microrganismos relacionados por testes simples (catalase negativa, PYR positivo, resistência a bile e à optoquina)

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia para as infecções graves requer a associação de um aminoglicosídeo com um agente ativo para parede celular (penicilina, ampicilina ou vancomicina); novos agentes incluem linezolida, quinupristina/dalfopristina e certas quinolonas

As taxas de resistência para estes antimicrobianos têm aumentado e infecções causadas por algumas cepas em particular (principalmente da espécie *E. faecium*) não podem ser tratadas com nenhum antimicrobiano disponível

Fisiologia e Estrutura

Os enterococos são cocos Gram positivos tipicamente dispostos aos **pares e em cadeias curtas** (Fig. 23-1). A morfologia celular, vista ao microscópio, frequentemente não permite diferenciá-los de *Streptococcus pneumoniae*. Os enterococos crescem tanto em aerobiose quanto em anaerobiose e em uma ampla faixa de temperatura (10°C a 45°C). Apesar de os enterococos apresentarem necessidades nutricionais complexas (vitaminas B, bases nitrogenadas de ácidos nucleicos e uma fonte de carbono, como a glicose), o meio de agar sangue de carneiro possibilita o crescimento desses microrganismos. Após 24 horas de incubação, são observadas colônias grandes que podem se apresentar como colônias não hemolíticas, α-hemolíticas ou raramente β-hemolíticas. Estes microrganismos podem crescer na presença de con centrações elevadas de **NaCl** e **sais biliares**. Estas propriedades básicas podem ser utilizadas para distinguir os enterococos dos outros cocos Gram positivos catalase negativos.

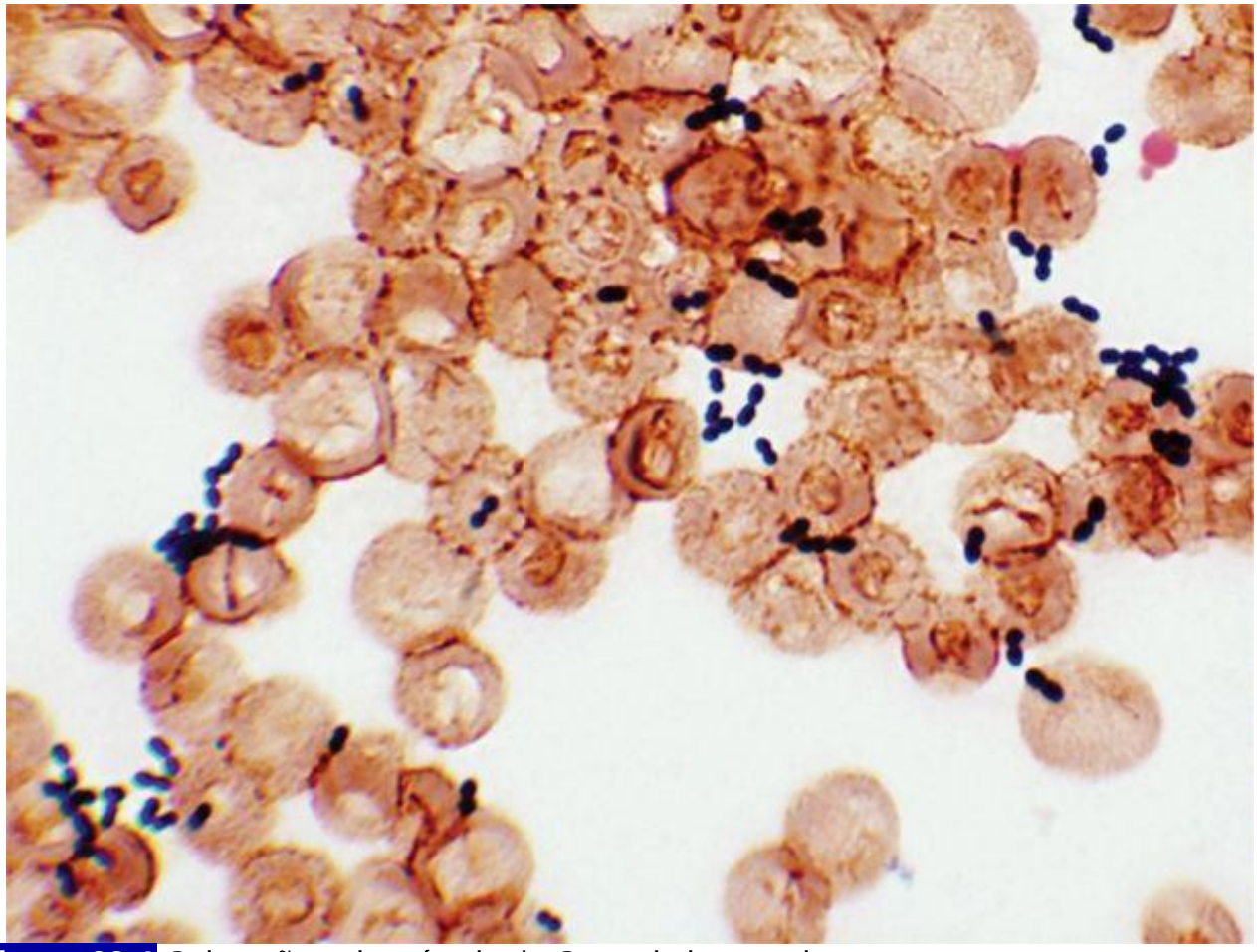


Figura 23-1 Coloração pelo método de Gram de hemocultura com enterococos.

Patogênese e Imunidade

Os enterococos não expressam toxinas potentes ou outros fatores de virulência bem definidos (Tab. 23-3). Por esta razão, considera-se que estes microrganismos, tipicamente, apresentam um potencial limitado para causar doenças. Entretanto, cepas resistentes aos antimicrobianos e associadas a infecções graves têm representado um sério problema, particularmente entre pacientes hospitalizados.

Tabela 23-3 Fatores de Virulência de Enterococos

Fator de Virulência	Efeito Biológico
Adesinas de Superfície	
Substância agregativa	Proteína tipo pili imersa na membrana citoplasmática, que facilita a troca de plasmídios e a interação com as células epiteliais do hospedeiro
Proteína de superfície de enterococos	Adesina de ligação ao colágeno; presente em *E. faecalis*
Adesinas polissacarídicas	Pode ser de vários tipos em uma única célula bacteriana; atua na interação com as células do hospedeiro
Fatores Secretados	
Citolisina	Bacteriocina proteica que inibe o crescimento de outras bactérias Gram positivas (facilita a colonização); induz dano tissular local
Feromônio	Quimiotático para neutrófilos; pode regular a reação inflamatória
Gelatinase	Hidrolisa gelatina, colágeno, hemoglobina e pequenos peptídeos
Resistência aos Antimicrobianos	
Diversos plasmídios e genes cromossômicos	Resistência aos aminoglicosídeos, β-lactâmicos e vancomicina

Esses microrganismos possuem **adesinas proteicas de superfície**, que lhes possibilitam a interação com células das mucosas intestinal e vaginal humanas, e secretam proteínas com **atividade hemolítica** (citolisina) e **proteolítica** (p. ex., gelatinase e serina protease). Geralmente, não conseguem resistir aos eventos da fagocitose, sendo destruídos por células fagocíticas. Possivelmente, os atributos de maior significância em enterococos sejam a expressão de **resistência intrínseca a vários antimicrobianos comumente utilizados** (p. ex., oxacilina e cefalosporinas) e a aquisição de genes de resistência (p. ex., para

aminoglicosídeos e vancomicina).

Epidemiologia

Como o próprio nome sugere, enterococos são bactérias entéricas, que são comumente isoladas das fezes de humanos e de diversos animais. A espécie *E. faecalis* é encontrada em concentrações elevadas no intestino grosso (p. ex., 10^7 bactérias por grama de fezes) e no trato geniturinário. A espécie *E. faecium* tem uma distribuição similar à espécie *E. faecalis*, mas é encontrada em menor frequência. Os enterococos normalmente não são isolados do trato respiratório ou da superfície da pele, exceto em pacientes hospitalizados, que tenham sido submetidos à antibioticoterapia de amplo espectro. Nestes pacientes, o uso de antimicrobianos favorece a disseminação dos enterococos a partir do trato intestinal para outras mucosas e para a superfície da pele. Sendo assim, pacientes tratados com antimicrobianos de amplo espectro e com quadros clínicos graves apresentam maior predisposição para adquirirem infecções causadas por cepas oriundas da microbiota normal.

A prevalência das outras espécies de enterococos não é conhecida, porém, acredita-se que elas colonizam o intestino em número reduzido. Duas espécies que são frequentemente isoladas do intestino humano são *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*. Estas espécies, apesar de consideradas relativamente não virulentas e raramente estarem associadas a doenças humanas, podem ser destacadas por apresentarem resistência intrínseca à vancomicina e, eventualmente, poderem ser confundidas com as espécies mais importantes: *E. faecalis* e *E. faecium*.

Doenças Clínicas (Quadro 23-3; Caso Clínico 23-1)

Apesar da escassez de fatores de virulência, os enterococos são patógenos importantes, particularmente para pacientes hospitalizados. De fato, os enterococos são uma das principais causas de infecções adquiridas no hospital (**infecções nosocomiais**). O trato urinário, o peritônio e o tecido cardíaco são os sítios frequentemente envolvidos. As infecções por enterococos são, particularmente, comuns nos pacientes em uso de cateteres urinários ou intravasculares e naqueles que estejam hospitalizados por períodos longos, submetidos à **antibioticoterapia de amplo espectro**.

Quadro 23-3 Infecções Enterocócicas: Resumo Clínico

Infecção do trato urinário: disúria e piúria; ocorre mais comumente em pacientes hospitalizados em uso de cateteres urinários e em uso de cefalosporinas de amplo espectro

Peritonite: distensão e dor abdominal após trauma ou cirurgia; os pacientes tipicamente apresentam quadro agudo, febril e hemoculturas positivas para o microrganismo

Endocardite: infecção do endotélio ou válvulas cardíacas; associada com bacteremia persistente; pode se apresentar na forma aguda ou crônica

Caso Clínico 23-1 Endocardite por Enterococos

Zimmer et al. (Clin Infect Dis 37:e29e30, 2003) descreveram as dificuldades no tratamento de um paciente com endocardite enterocócica. O paciente de 40 anos de idade, sexo masculino, apresentava hepatite C, hipertensão, estágio final de doença renal e desenvolveu febre e calafrios durante a hemodiálise. Nos dois meses anteriores a este episódio, o paciente fez uso de ampicilina, levofloxacina e gentamicina para o tratamento de endocardite causada por estreptococos do grupo B. Nas culturas realizadas durante a hemodiálise foi observado o crescimento de *Enterococcus faecalis* resistentes a levofloxacina e a gentamicina. Como o paciente era alérgico à ampicilina, foi tratado com linezolida. O exame ecocardiográfico demonstrou vegetações nas válvulas mitral e tricúspide. Durante o período de três semanas, o rendimento cardíaco deteriorou, até que o paciente foi dessensibilizado para ampicilina e o regime terapêutico pode ser trocado para ampicilina e estreptomicina. Após 25 dias de hospitalização, as válvulas cardíacas danificadas foram substituídas e a antibioticoterapia foi estendida por seis semanas adicionais. O uso de antimicrobianos de amplo espectro predispôs este paciente, que já apresentava válvulas cardíacas danificadas, à endocardite causada por *Enterococcus*. O tratamento foi complicado por se tratar de uma cepa que apresentava resistência a muitos antimicrobianos comumente utilizados.

A **endocardite**, uma doença que apresenta taxa elevada de mortalidade, é uma complicação particularmente grave, decorrente dos quadros de bacteremia por enterococos. Ao contrário das bacteremias e infecções do trato urinário, onde os enterococos são tipicamente o único microrganismo presente, na maioria dos casos de infecções abdominais e de feridas, os enterococos são encontrados associados com outros microrganismos (**infecções polimicrobianas**). Desta forma, a importância dos enterococos na patogênese destas infecções ainda não está bem definida.

Diagnóstico Laboratorial

Os enterococos crescem rapidamente em meios não seletivos, como agar sangue e agar chocolate. Apesar de apresentarem semelhança com *S. pneumoniae* em espécimes corados pelo método de Gram, podem ser prontamente diferenciados pelo emprego de testes bioquímicos simples. Por exemplo, os enterococos são resistentes à optoquina (*S. pneumoniae* é sensível), não sofrem lise quando expostos à bile (*S. pneumoniae* são positivos para o teste de bile-solubilidade) e produzem L-pirrolidonil arilamidase (a única espécie de *Streptococcus* que é PYR positivo é *Streptococcus pyogenes*). O **teste do PYR** é de execução rápida e existem diversas apresentações comerciais, incluindo os que são realizados em apenas cinco minutos (*5-minute spot test*). Portanto, cocos Gram positivos catalase negativos, dispostos ao pares e em cadeias curtas e PYR positivos, podem ser presuntivamente identificados como enterococos. Características fenotípicas (p. ex., produção de pigmento, motilidade), testes bioquímicos e sequenciamento de ácidos nucleicos são necessários para diferenciar *E. faecalis, E. faecium* e as demais espécies do gênero *Enterococcus*. Porém, este assunto está além do escopo deste texto.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento das infecções enterocócicas é complicado, porque a maioria dos antimicrobianos não apresenta ação bactericida nas concentrações clinicamente relevantes. Tradicionalmente, o tratamento das infecções por enterococos tem tido por base a **combinação sinérgica de um aminoglicosídeo com um agente ativo contra a parede celular** (p. ex., ampicilina, vancomicina). Entretanto, o surgimento de cepas resistentes aos aminoglicosídeos, ampicilina, penicilina e vancomicina tem se tornado um problema significativo. Atualmente, mais de 25% das cepas de enterococos são resistentes aos aminoglicosídeos; na prática, todas as cepas de *E. faecium* são resistentes à ampicilina e a maioria é resistente também à vancomicina. A resistência aos aminoglicosídeos e à vancomicina é particularmente problemática, porque é uma característica mediada por plasmídios e pode ser transferida para outras bactérias.

Novos antimicrobianos têm sido desenvolvidos especificamente para o tratamento das infecções causadas por enterococos resistentes à ampicilina e vancomicina. Estes incluem linezolida, quinupristina/dalfopristina e certas fluoroquinolonas. Infelizmente, a frequência de cepas resistentes à linezolida vem aumentando, a associação quinupristina/dalfopristina não é ativa contra *E. faecalis* (que é a espécie de enterococos mais comumente isolada) e as fluoroquinolonas têm atividade reduzida para as cepas de enterococos resistentes à vancomicina.

A prevenção e controle das infecções causadas por enterococos são difíceis. A restrição cuidadosa no uso de antimicrobianos e a implementação de práticas apropriadas para o controle de infecções (p. ex., isolamento dos pacientes infectados, uso de jaleco e de luvas por todas as pessoas que entrem em contato com os pacientes) podem reduzir o risco de colonização com esse microrganismo. Mesmo assim, a eliminação completa das infecções ainda é improvável.

Outros Cocos Gram Positivos, Catalase Negativos

Outros cocos Gram positivos, catalase negativos associados a doenças humanas são *Abiotrophia, Granulicatella, Leuconostoc, Lactococcus, Pediococcus, Aerococcus* e outros gêneros isolados em menor frequência. Todos são **patógenos oportunistas**.

Abiotrophia e ***Granulicatella***, conhecidos anteriormente como *estreptococos nutricionalmente deficientes*, trazem problemas para o isolamento a partir do espécime clínico. Estes cocos apresentam crescimento inicial nos frascos de hemocultura ou em culturas mistas, mas não crescem quando subcultivados em meio de agar sangue de carneiro, a não ser que esteja suplementado com piridoxal (vitamina B_6) . ***Leuconostoc*** e ***Pediococcus*** podem ser semelhantes aos estreptococos, mas são **resistentes à vancomicina**, uma característica que ainda não foi observada nos estreptococos. ***Lactococcus*** podem ser erroneamente identificados como *Enterococcus*. ***Aerococcus*** (cocos do ar) são microrganismos tipicamente transmitidos pelo ar e podem vir a ser contaminantes da pele dos pacientes ou dos espécimes clínico durante a coleta, ou durante o processamento no laboratório. A identificação precisa da maioria desses microrganismos, sem a utilização de ferramentas moleculares como o sequenciamento de genes, é difícil. Porém, o conhecimento de sua frequência e características clínicas é bastante útil.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 72 anos de idade foi internado no hospital devido a uma febre de até 40°C, mialgias e queixas respiratórias. O diagnóstico clínico de gripe foi confirmado pelo isolamento laboratorial do vírus influenza, a partir de amostras de secreção respiratória. A hospitalização do paciente complicou-se com o desenvolvimento de pneumonia causada por *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina, que foi tratada por duas semanas com vancomicina. O declínio da função pulmonar exigiu o uso de respirador artificial, que levou ao desenvolvimento de infecção secundária por *Klebsiella pneumoniae*. Ceftazidima (uma cefalosporina) e gentamicina foram adicionadas ao esquema terapêutico do paciente. Após quatro semanas de hospitalização, o paciente desenvolveu uma septicemia. *E. faecium* resistente à vancomicina, gentamicina e ampicilina foi isolado a partir de três amostras de sangue.

1. Quais condições predisponentes tornaram este paciente mais suscetível à infecção por *E. faecium*?

1. O fator que influenciou a susceptibilidade deste paciente à infecção por *Enterococcus* foi o tratamento prévio com vancomicina (não foi efetiva contra este organismo em particular) e cefalosporina (não é efetiva contra enterococos). A hospitalização prolongada também aumentou o risco de infecção deste paciente, assim como a idade do mesmo. Porém, estes fatores aumentam o risco de infecções por vários organismos e não especificamente por enterococos.

2. Qual é a origem mais provável deste microrganismo?

2. A origem mais provável deste organismo é o trato gastrointestinal. Não é comum encontrá-lo no trato respiratório.

3. Quais fatores contribuem para a virulência dos enterococos?

3. O mais importante fator de virulência de enterococos é a resistência destes organismos aos antibióticos. Enterococos não produzem toxinas potentes e as enzimas hidrolíticas deles não são associadas com nenhuma patologia específica.

Bibliografia

Bhavnani SM, et al. A nationwide, multicenter, case-control study comparing risk factors, treatment, and outcome for vancomycin-resistant and-susceptible enterococcal bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;36:145-158.

Coburn PS, et al. Enterococcus faecalis senses target cells and in response expresses cytolysin. *Science*. 2004;306:2270-2272.

Elsner HA, et al. Virulence factors of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium blood culture isolates. *Eur J Clin Infect Dis*. 2000;19:39-42.

Facklam R, Elliott JA. Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8:479-495.

Garbutt JM, et al. Association between resistance to vancomycin and death in cases of Enterococcus faecium bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2000;30:466-472.

Gilmore MS, et al. Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance. Washington, DC: ASM Press, 2002.

Handwerger S, et al. Infection due to Leuconostoc species: Six cases and review. *Rev Infect Dis*. 1990;12:602-610.

Leclercq R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in enterococci. *Clin Infect Dis*. 1997;24:545-556.

Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. *Am J Med*. 1997;101:284-293.

Shay DK, et al. Epidemiology and mortality risk of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infections. *J Infect Dis*. 1995;172:993-1000.

Shepard BD, Gilmore MS. Differential expression of virulence-related genes in Enterococcus faecalis in response to biological cues in serum and urine. *Infect Immun*. 2002;70:4344-4352.

24 Bacillus

A família *Bacillaceae* consiste em uma variada coleção de bactérias, incluindo microrganismos que crescem aeróbica ou anaerobicamente, em forma de cocos ou bacilos, Gram positivo ou Gram negativo. Todas as espécies desse grupo diversificado de bactérias têm a capacidade de formar endosporo (Fig. 24-1). Apesar das dezenas de gêneros que compõem essa família, os estudantes precisam conhecer apenas dois gêneros clinicamente importantes: o gênero ***Bacillus*** (aeróbios e anaeróbios facultativos, formadores de esporos – Quadro 24-1) e o gênero ***Clostridium*** (anaeróbio estrito, formador de esporos – Cap. 39).

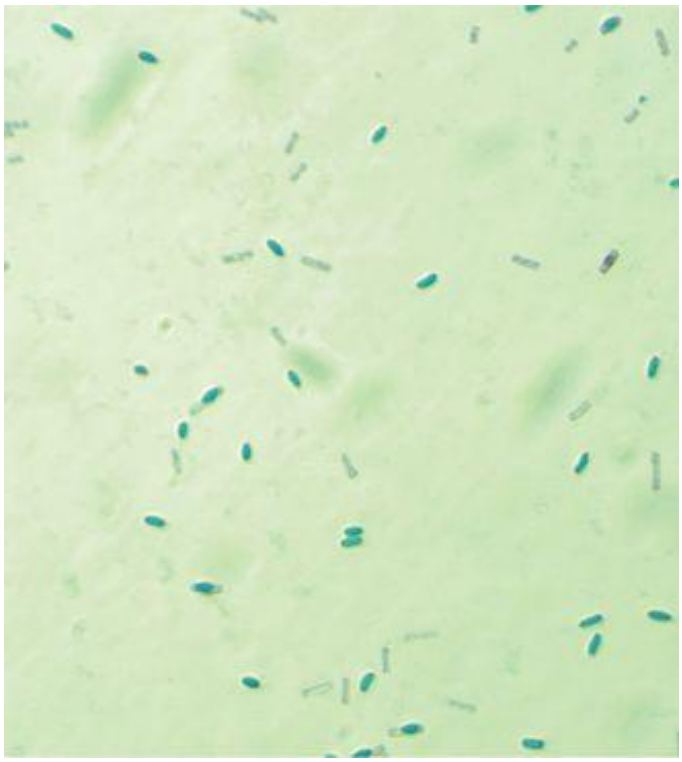


Figura 24-1 *Bacillus cereus.* Os esporos retêm o corante verde malaquita nessa coloração especial para esporos.

Quadro 24-1 Principais espécies de *Bacillus*

Microrganismo	Origem histórica
Bacillus	*Bacillus*, um bacilo pequeno
B. anthracis	Antraz, “carvão”, um carbúnculo (referente à cor escura de uma ferida necrosada associada ao antraz cutâneo)
B. cereus	*Cereus*, “semelhante à cor de cera” (referente a colônias com superfície amorfa típica ou vidro fosco)

O gênero *Bacillus* compreende cerca de 200 espécies e aquelas de interesse clínico são relativamente poucas. *Bacillus anthracis*, microrganismo responsável pelo antraz, é o membro mais importante desse gênero. Esta espécie é considerada um dos agentes mais temidos por atuarem como armas biológicas em ações de bioterrorismo. Desde o envio de esporos de *B. anthracis* pelo sistema postal dos Estados Unidos em 2001, tem sido reenfatizado o dano em potencial associado a esse microrganismo. A outra espécie clinicamente importante desse gênero é *Bacillus cereus*, responsável por gastrinterites, infecções oculares traumáticas, sepsis associada ao uso de cateteres e, mais raramente, pneumonia grave.

Bacillus anthracis (Quadro 24-2)

Fisiologia e Estrutura

B. anthracis é um microrganismo grande (1 × 3 a 8µm) que pode estar arranjado como bacilo único ou em pares, ou ainda como longas cadeias serpentiformes (Fig. 24-2). Embora os esporos sejam facilmente observados em culturas de 2 a 3 dias, eles não são detectados em amostras clínicas.

Quadro 24-2 Resumo sobre *Bacillus anthracis*

Biologia, Fatores de Virulência e Doença

Presença de esporo, imóvel, bacilo Gram positivo não hemolítico

Cápsula polipeptídica, observável a partir de espécimes clínicos, constituída de ácido glutâmico-poli-D

Cepas virulentas produzem três exotoxinas combinadas, o fator de edema (combinação do antígeno protetor e o fator de edema) e o fator letal (combinação do antígeno protetor e o fator letal)

Infecta primariamente herbívoros, sendo o homem um hospedeiro acidental

Raramente isolado de países desenvolvidos; é prevalente em áreas empobrecidas onde não é praticada a vacinação animal

O risco maior de antraz em países industrializados se deve ao uso do *B. anthracis* como agente de bioterrorismo

Três formas de antraz são reconhecidas: cutânea (forma mais comum nos humanos), gastrintestinais e inalação (bioterrorismo)

Diagnóstico

Microrganismo presente em altas concentrações nos espécimes clínicos (microscopia tipicamente positiva) e cultura com crescimento rápido

Identificação presuntiva é feita com base na bacterioscopia (bacilos Gram positivos imóveis) e na morfologia colonial (colônias aderentes, não hemolíticas). A identificação definitiva é realizada pela observação de cápsula, lise produzida pelo fago gama, teste de IFD positivo para o polissacarídeo específico da parede celular e por testes moleculares que amplificam o ácido nucleico

Tratamento, Prevenção e Controle

Ciprofloxacina é o fármaco de escolha para o tratamento de antraz cutâneo;

ciprofloxacina ou doxiciclina combinado com um antimicrobiano adicional para o antraz inalado

Vacinação de rebanhos e pessoas em áreas endêmicas pode controlar a doença, mas os esporos dificilmente são eliminados do solo contaminado

Vacinação animal é eficiente, mas a vacina humana tem uso limitado

Está sendo investigado um tratamento alternativo visando interferir com as atividades das toxinas

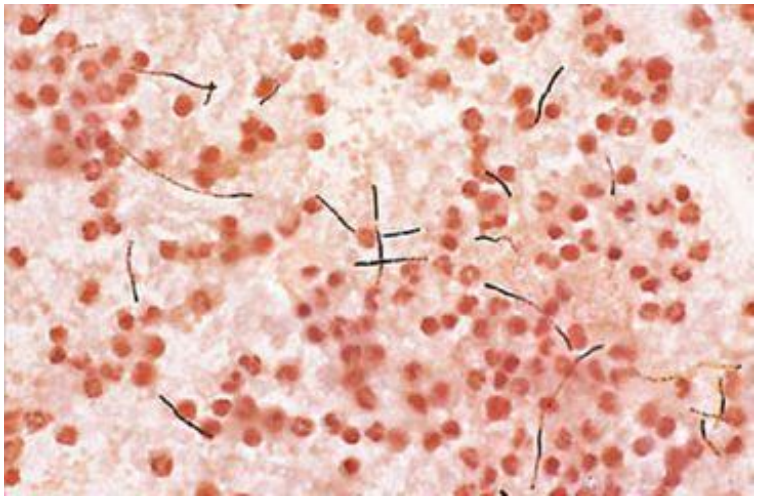


Figura 24-2 *Bacillus anthracis* no sangue de um paciente com antraz por inalação.

Por causa da singular importância médica do *B. anthracis*, é necessário conhecer os detalhes funcionais das toxinas produzidas por esse microrganismo. Amostra virulenta de *B. anthracis* carreia genes para três componentes proteicos toxigênicos em um plasmídio grande, o pXO1. As proteínas **antígeno protetor** (PA), **fator de edema** (EF) e **fator letal** (LF) são individualmente atóxicas, mas formam uma importante toxina quando combinadas. O antígeno protetor combinado com o fator edema forma a **toxina edema**, e o antígeno protetor combinado com o fator letal forma a **toxina letal**. A **PA** é uma **proteína de 83-kDa** que se une a um ou dois receptores da superfície das células hospedeiras, que estão presentes na maioria das células e tecidos (p. ex., cérebro, coração, intestino, pulmão, músculos esqueléticos, pâncreas, macrófagos). Após a PA unir-se aos receptores, proteases da célula hospedeira a clivam liberando um pequeno fragmento e retendo outro fragmento de 63-kDa (PA_{63}) sobre a superfície celular. Os fragmentos PA_{63} associados à superfície celular formam um complexo de sete fragmentos em forma de anel (poro precursor ou preporo). Esse complexo heptâmero, em seguida, pode ligar-se a até três moléculas de LF e ou EF. Ambos os fatores reconhecem o mesmo sítio de ligação do PA_{63} e, por isto, esta união é considerada competitiva. A formação do complexo estimula a endocitose e o movimento em direção a um compartimento acídico. Neste ambiente, o complexo forma um poro transmembrana que libera LF e EF dentro do citosol da célula. *LF* é uma **protease zinco-dependente** que é capaz de clivar uma proteína quinase mitógeno-ativada, levando à morte celular por um mecanismo ainda não conhecido completamente. *EF* é uma **adenilato ciclase calmodulina-**

dependente que aumenta os níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (APM_c), resultando em edema. A proteína EF está relacionada com as adenilato ciclases produzidas por *Bordetella pertussis* e *Pseudomonas aeruginosas*.

Um segundo fator importante de virulência de *B. anthracis* é uma **cápsula** de polipeptídio proeminente (que consiste de poli-D-ácido glutâmico). A cápsula é observada em amostras de origem clínica, não sendo produzida *in vitro*, a não ser que sejam utilizadas condições especiais de crescimento. Três genes (*cap*A , *cap*B e *cap*C) são responsáveis pela síntese dessa cápsula e são carreados por um segundo plasmídio (pXO2). Apenas um tipo de cápsula foi identificado, presumivelmente, pelo fato de ela ser composta apenas de ácido glutâmico.

Patogênese e Imunidade

Os principais fatores responsáveis pela virulência de *B. anthracis* são a presença da cápsula, a toxina causadora de edema e o efeito letal da toxina. A cápsula inibe a fagocitose das células vegetativas. A atividade adenilato ciclase da toxina formadora de edema, observado no antraz, é responsável pelo acúmulo de fluidos. A atividade zinco metaloprotease da toxina letal estimula macrófagos que liberam fator-α de necrose tumoral (TNF-α), interleucina-1β (IL-1β) e outras citocinas pró-inflamatórias. Esta toxina também é responsável pela lise de macrófagos em linhagens celulares cultivadas. A principal proteína do *B. anthracis*, a PA é a mais imunogênica (daí seu nome). Ambos LF e EF inibem o sistema imune inato do hospedeiro.

Epidemiologia

Antraz é basicamente uma doença de herbívoros; os seres humanos são infectados pela exposição a animais ou a produtos contaminados. A doença é um problema sério em países onde a vacinação dos animais não é praticada ou não é possível (p. ex., doença estabelecida na vida selvagem africana). Por outro lado, infecções naturais pelo *B. anthracis* são raramente observadas nos Estados Unidos e, apenas, cinco casos foram notificados entre 1891 e 1999. Atualmente, essa estatística ficou sem sentido, devido à ocorrência de contaminação deliberada pelo serviço postal americano com esporos de *B. anthracis*, ocorrida em 2001. O risco de exposição a grandes populações de patógenos perigosos tem aumentado drasticamente em tempos de bioterrorismo. Várias nações e grupos terroristas independentes têm programas de guerra biológica. O Iraque, a antiga União Soviética e o grupo terrorista denominado Aum Shinrikyo no Japão têm experimentado o uso de *B. anthracis* como arma. Na verdade, muito do que sabemos sobre a transmissão do antraz por via inalatória foi devido à exposição acidental em 1979, de esporos desse microrganismo na cidade de Sverdlovsk, antiga União Soviética (pelo menos 79 casos de antraz com 68 mortes) e também pelo ato terrorista que provocou a contaminação de empregados do correio americano com cartas contendo *B. anthracis* (11 pacientes com antraz adquirido por inalação e 11 com antraz cutâneo).

A doença humana (Quadro 24-3) causada por *B. anthracis* é adquirida por uma das três vias: **inoculação, ingestão** e **inalação**. Aproximadamente 95% das infecções humanas por antraz resultam da inoculação de esporos de *Bacillus* pela pele exposta, solo contaminado ou produtos de animais infectados, como peles, pelos de cabra ou lã.

Quadro 24-3 Resumo das Principais Doenças Causadas por *Bacillus*

Bacillus anthracis

Antraz cutâneo: pápula indolor que progride para ulceração com vesículas ao redor, seguido por formação de escaras; linfoadenopatia dolorosa, edema, pode desenvolver sinais sistêmicos

Antraz Gastrointestinal: formação de úlcera no local da invasão (p. ex.: boca, esôfago e intestino) levando a uma linfoadenopatia regional, edema e sepse

Antraz Inalado: os sinais iniciais são inespecíficos seguidos por uma sepse súbita acompanhada de febre, edema e linfoadenopatia (nódulos linfáticos mediastínicos); sintomas meníngeos acometem metade dos pacientes e a maioria daqueles com antraz inalado morrerá, a menos que o tratamento seja iniciado imediatamente

Bacillus cereus

Gastroenterite: forma emética é caracterizada pela rapidez do surgimento dos episódios de vômitos e dor abdominal, sendo, no entanto, de curta duração forma diarreica é caracterizada por uma duração mais demorada, acompanhada de cólicas abdominais

Infecções oculares: destruição rápida e progressiva dos olhos, após traumatismo com objeto contaminado com o microrganismo

Doença pulmonar grave: doença pulmonar grave, semelhante à do antraz, em pacientes imunocompetentes

O antraz por ingestão é muito raro nos seres humanos, mas constitui uma via comum de infecção nos herbívoros. Em função de esse microrganismo formar esporos de resistência, o solo contaminado ou produtos de origem animal podem permanecer infectados por muitos anos.

O antraz por inalação foi historicamente denominado **doença dos separadores de lã** por causa da inalação dos esporos de *B. anthracis* durante o processamento do pelo de cabra. Esta é, atualmente, uma fonte incomum de infecção para os seres humanos. No entanto, a inalação é a via mais provável de infecção durante uma guerra biológica. A dose infectante do microrganismo é baixa, embora isso dependa da fase de germinação do esporo. Esporos usados como armamentos são tratados de modo a diminuir a formação de aglomerados. Desse modo, os esporos podem atingir vias aéreas inferiores, onde macrófagos alveolares podem fagocitar o esporo e iniciar a replicação celular. A transmissão pessoa a pessoa não ocorre porque o crescimento bacteriano se dá nos linfonodos do mediastino, mais do que na árvore broncopulmomar.

Geralmente, o **antraz cutâneo** inicia com o desenvolvimento de uma pápula indolor no local da inoculação, que rapidamente progride para uma úlcera circundada por vesículas e, a seguir, para uma escara necrótica (Fig. 24-3). Podem ocorrer sinais sistêmicos, linfadenopatia dolorosa e edema maciço. A taxa de mortalidade em pacientes com antraz cutâneo não tratado é de 20%.

Caso Clínico 24-1 Antraz por Inalação

Bush et al. (N Engl J Med 345:1607-1610, 2001) reportaram o primeiro caso de antraz por inalação em 2001, ocorrido nos Estados Unidos, devido a um ato de bioterrorismo. Um senhor de 63 anos residente na Flórida, teve um histórico de febre por 4 dias, apresentando dores musculares e mal-estar geral, sem sintomas localizados. Sua esposa o levou a um hospital local porque ele acordou desorientado, com febre e vômito. O exame físico confirmou febre de 39°C, pressão sanguínea de 150/80mm Hg, pulso com 110 batimentos/minuto e uma frequência respiratória de 18. Disfunção respiratória não foi observada. Foi iniciado tratamento para uma meningite bacteriana. Infiltração basilar e um aumento do mediastino foi observado nos raios X do tórax. A coloração de Gram do líquor revelou muitos neutrófilos e grandes bacilos Gram positivos. Antraz ficou sob suspeita e penicilina foi administrada. Com 24 horas de admissão, culturas de líquor e sangue foram positivos para *B. anthracis*. Durante o primeiro dia de hospitalização, o paciente teve um grande mal-estar e foi intubado. No segundo dia de hospitalização, o paciente desenvolveu hipotensão e azotemia, com subsequente disfunção renal. No terceiro dia, apresentou hipotensão refratária, tendo um ataque cardíaco fatal. Esse caso ilustra uma rápida evolução degenerativa de um paciente com antraz por inalação, a despeito de um pronto diagnóstico e de uma terapia antimicrobiana adequada. Embora o trato respiratório seja a via de infecção, os pacientes não desenvolvem pneumonia. As anormalidades observadas na radiografia de tórax são devidas a mediastinites hemorrágicas.

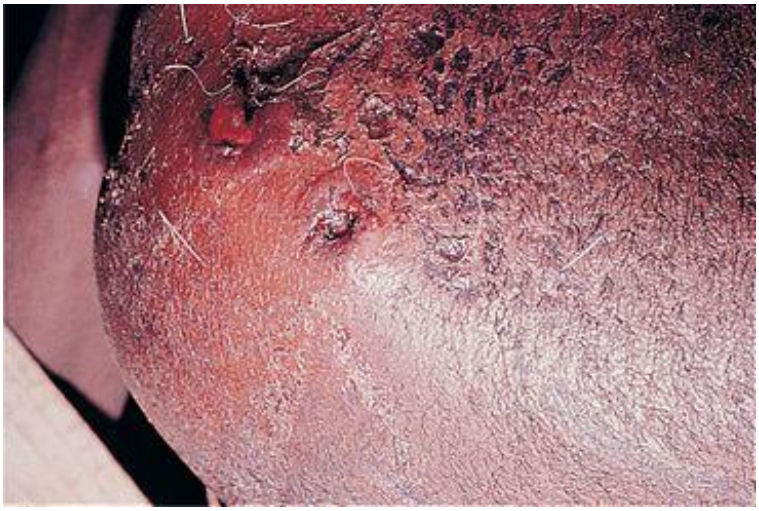


Figura 24-3 Antraz cutâneo demonstrando intenso eritema, edema e ruptura de vesículas.

(De Cohen J, Powderly WG: Infections Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

Os sintomas clínicos do **antraz gastrointestinal** são determinados pelo local de infecção. Por exemplo, se o microrganismo invade o trato intestinal superior, formam-se úlceras na boca ou esôfago, levando a uma linfadenopatia regional, edema e septicemia. Se o microrganismo invade o ceco ou o íleo terminal, o paciente apresenta náusea, vômito e sensação de mal-estar geral, que rapidamente progride para doença sistêmica. O índice de mortalidade associado com o antraz gastrointestinal é de cerca de 100%.

Semelhante às duas formas descritas, o **antraz por inalação** pode estar associado a um período longo de latência (2 meses ou mais), durante o qual o paciente infectado permanece assintomático. Os esporos podem permanecer latentes nas fossas nasais ou atingir as vias aéreas inferiores, onde macrófagos alveolares fagocitam os esporos inalados e os transportam para os nódulos linfáticos no mediastino. Os sintomas clínicos iniciais da doença são inespecíficos, como febre, dores musculares, tosse seca e mal-estar geral. O segundo estágio da doença é mais drástico, com rápido agravamento da febre, edema, aumento expressivo dos linfonodos do mediastino responsável pelo aumento no mediastino observado na radiografia de tórax (Fig. 24-4), insu ficiência respiratória e sepse. Apesar de a via de infecção ser a respiratória (inalação), é raro o paciente desenvolver pneumonia. Sintomas meníngeos são observados na metade dos pacientes com antraz por inalação. Quase todos os casos evoluem para choque séptico seguido de morte após três dias do aparecimento dos sintomas, a menos que a doença seja diagnosticada e tratada imediatamente. Evidências sorológicas têm indicado a ausência de uma forma subclínica ou assintomática de antraz por inalação. Geralmente, todos os pacientes que desenvolvem a doença evoluem para a morte, a não ser que exista uma intervenção médica imediata.

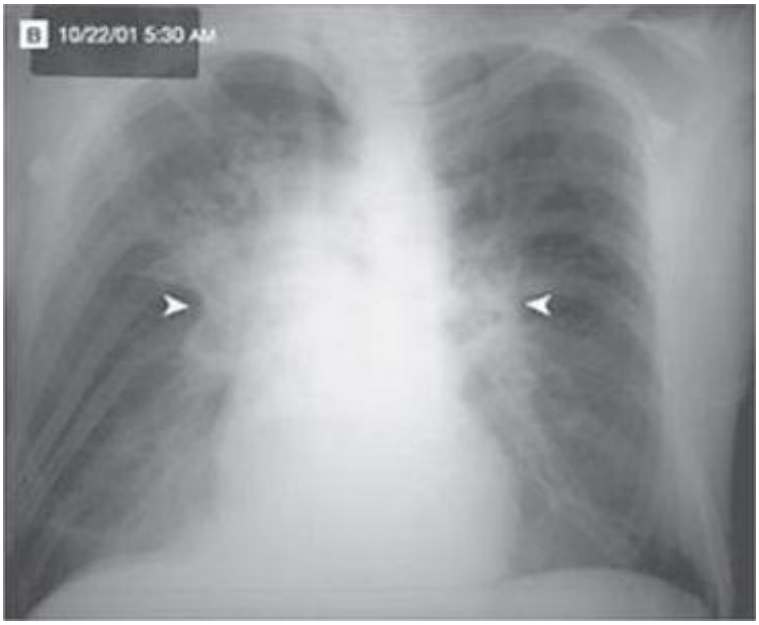


Figura 24-4 Observação de linfonodomegalia mediastinal por antraz inalatório.

Diagnóstico Laboratorial

As infecções causadas por *B. anthracis* são caracterizadas por um grande número de microrganismos presentes nas feridas, nódulos linfáticos envolvidos e sangue. O antraz é uma das poucas doenças bacterianas cujo microrganismo pode ser visto no sangue periférico quando corado pelo método de Gram (Fig. 24-2). Desse modo, não é um problema detectar o microrganismo por microscopia e por cultivo. O diagnóstico laboratorial difícilmente distingue *B. anthracis* de outros membros taxonomicamente relacionados ao grupo *Bacillus cereus*. A identificação preliminar de *B. anthracis* está baseada na microscopia e na morfologia colonial. Esses microrganismos apresentam-se como bacilos Gram positivos, longos e finos, arranjados em longas cadeias ou isoladamente. Os esporos não são observados nos materiais clínicos, mas sim nos cultivos incubados em baixa atmosfera de CO_2; eles podem ser observados utilizando uma coloração especial para esporos (p. ex., coloração verde malaquita; Fig. 24-1). A **cápsula** de *B. anthracis* é produzida *in vivo*, mas não é comumente observada em cultivo. Esta cápsula pode ser observada utilizando uma coloração de contraste como a tinta da China (as partículas de nanquim são excluídas pela cápsula de modo que o fundo, mas não a área ao redor da bactéria, aparece escuro), reação de M'Fadyean (coloração por azul de metileno policrômico) ou ainda, o teste de imunofluorescência direta (IFD) desenvolvido contra o polipeptídeo capsular. As colônias cultivadas em agar sangue de carneiro são grandes, não pigmentadas e têm um aspecto mucoide com projeções irregulares do centro para a periferia, no local da semeadura do agar (morfologia conhecida como "cabeça de medusa"). As colônias são muito viscosas e aderentes ao agar, e se são removidas com auxílio de uma alça bacteriológica, permanecem firmes como uma clara batida em neve. As colônias **não são hemolíticas**, em contraste ao *B. cereus*. *B. anthracis* aparecerá **imóvel** em testes de mobilidade, como a observação de bacilos individualizados em uma suspensão de gota pendente de meio de cultura. A identificação definitiva de *B. anthracis* imóveis e não hemolíticos deve ser feita em um laboratório de referência de saúde pública. Nele será evidenciada a produção de cápsula (por microscopia ou IFD) ou lise bacteriana por fagos gama, ou ainda, por IFD diante de um polissacarídeo específico da parede celular de *B. anthracis*. Adicionalmente, testes de amplificação do ácido nucleico (p. ex., reação em cadeia da polimerase [PCR]) tem sido desenvolvida e é realizada em laboratórios de referência. Os testes de PCR são também disponíveis comercialmente.

Tratamento, Prevenção e Controle

B. anthracis é suscetível à **penicilina**, doxicilina e ciprofloxacina, mas resistente às sulfonamidas e cefalosporinas de espectro extendido. Por causa dos genes que codificam resistência à penicilina e à doxicilina terem sido transferidos para *B. anthracis*, a recomendação atual para tratar um paciente com suspeita de antraz por inalação é o uso combinado de ciprofloxacina ou doxiciclina com um ou dois antimicrobianos adicionais (p. ex., rifampicina, vancomicina, penicilina, imipenem, clindamicina e claritromicina).

O controle da doença humana, naturalmente adquirida, requer o controle do antraz animal, envolvendo a **vacinação do rebanho** em regiões endêmicas e a cremação ou sepultamento de animais que morrem de antraz. A completa erradicação do antraz é improvável porque os esporos podem sobreviver por muitos anos no solo e também pela ameaça da infecção relacionada ao bioterrorismo, comum nos dias atuais.

A vacinação dos animais constitui uma medida de controle eficaz. Ela tem sido utilizada para proteger: (1) pessoas que vivem em regiões onde a doença é endêmica; (2) pessoas que trabalham com produtos animais importados de países com antraz endêmico; e (3) militares. Embora a vacina pareça ser eficiente, pesquisa em curso tem sido desenvolvida para torná-la menos tóxica. Abordagens alternativas visando inativar a toxina do antraz tem sido dirigida para os antígenos protetores e seus receptores alvo. Imunidade passiva por anticorpos monoclonais humanos contra *B. anthracis* previniu a morte em um modelo animal por antraz inalado e foi bem tolerado em voluntários humanos. Complexos peptídicos sintéticos, que têm por alvo os receptores da superfície celular para antígeno protetor, também têm sido utilizados para neutralizar a toxina do antraz em modelos animais. Porém, ainda precisa ser demonstrado como essas abordagens alternativas podem ser usadas no tratamento da doença humana.

Bacillus cereus

As espécies de *Bacillus* diferentemente de *B. anthracis* são principalmente patógenos oportunistas, com capacidade relativamente baixa de virulência. Embora a maioria dessas espécies seja responsável por doenças, *B cereus* é claramente o patógeno mais importante. As doenças comumente observadas são: gastroenterite, infecções oculares, sepse relacionada ao uso de cateteres intravenosos e, mais raramente, pneumonia grave (Quadro 24-4).

Quadro 24-4 Resumo de *Bacillus cereus*

Biologia, Fatores de Virulência e Doença

Formador de esporos, móveis, bacilos Gram positivos

Produzem enterotoxinas termoestável e termolábil

Destruição tecidual mediada por enzimas citotóxicas, incluindo cereolisinas e fosfolipase C

Ubiquitários no solo, no mundo inteiro

Grupos de risco incluem pessoas que consumiram alimentos contaminados com o bacilo (p. ex., arroz, carne, vegetais e molhos), que sofreram traumatismos (p. ex., nos olhos), que receberam injeções intravenosas e pacientes imunocomprometidos expostos ao *B. cereus*

Capazes de causar uma doença semelhante ao antraz em pacientes imunocompetentes

Diagnóstico

Isolamento do microrganismo nos alimentos implicados ou em espécimes não fecais (p. ex., olhos, ferida)

Tratamento, Prevenção e Controle

Infecções gastrointestinais são tratadas sintomaticamente

Infecções oculares ou outra doença invasiva necessitam de remoção dos corpos estranhos e tratamento com vancomicina, clindamicina, ciprofloxacina ou gentamicina

Doença gastrointestinal é prevenida pelo preparo adequado dos alimentos (p. ex., alimentos devem ser consumidos imediatamente após o preparo ou, então, serem refrigerados)

Patogênese

A gastroenterite causada por *B. cereus* é mediada por uma das **duas enterotoxinas** produzidas pelo microrganismo (Tab. 24-1). A enterotoxina **termoestável**, resistente à proteólise, é responsável pela **forma emética** da doença; a enterotoxina **termolábil** é responsável pela **forma diarreica**. A enterotoxina termolábil assemelha-se à enterotoxina produzida por *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae*, cada uma estimula o sistema adenilato ciclase monofosfato de adesinosina cíclico nas células epiteliais intestinais, levando a uma profusa diarreia aquosa. Ainda é desconhecido o mecanismo de ação da enterotoxina termoestável.

Tabela 24-1 Intoxicação Alimentar por *Bacillus cereus*

	Forma Emética	**Forma Diarreica**
Alimento implicado	Arroz	Carne, Vegetais
Período de incubação (horas)	< 6 (média, 2)	> 6 (média, 9)
Sintomas	Vômitos, náuseas, cólicas abdominais	Diarreia, náuseas, cólicas abdominais
Duração (horas)	8-10 (média, 9)	20-36 (média, 24)
Enterotoxina	Termoestável	Termolábil

A patogenia das infecções oculares causadas por *B. cereus* não está totalmente definida. Pelo menos três toxinas têm sido impli cadas: a **toxina necrótica** (uma enterotoxina termolábil), a **cereolisina** (uma potente hemolisina cujo nome se deve à espécie *cereus*) e a **fosfolipase C** (uma potente lecitinase). Acredita-se que a rápida destruição do olho, característica das infecções por *B. cereus*, resulte da interação dessas toxinas e de outros fatores não identificados.

As espécies de *Bacillus* podem colonizar a pele transitoriamente e serem isoladas de hemocultura, como um microrganismo contaminante insignificante. Na presença de um corpo estranho intravascular, estes microrganismos podem ser responsáveis por bacteremias persistentes e sinais de sepse (isto é, febre, calafrios, hipotensão e choque).

Epidemiologia

B. cereus e outras espécies de *Bacillus* são microrganismos ubiquitários, presentes em praticamente todos os ambientes. Geralmente, todas as infecções originam-se de uma fonte ambiental (p. ex., solo contaminado). O isolamento de bactérias de amostras clínicas na ausência de doença característica, usualmente representa uma contaminação insignificante.

Síndromes Clínicas

Como mencionado anteriormente, *B. cereus* é responsável por duas formas de intoxicação alimentar: a **doença com vômito (forma emética)** e a **doença diarreica (forma diarreica)**. Em muitos pacientes, a forma emética da doença resulta do consumo de **arroz** contaminado. Durante o cozimento inicial do arroz, a maioria dos bacilos é destruída, entretanto os esporos resistentes ao calor sobrevivem. Se o arroz cozido não for refrigerado, os esporos germinam e as bactérias podem multiplicar-se rapidamente. A enterotoxina termoestável liberada não é destruída quando o arroz é reaquecido. A forma emética da doença é uma intoxicação causada pela ingestão da enterotoxina e não pela bactéria. Desse modo, o período de incubação após a ingestão do arroz contaminado é curto (1 a 6 horas), assim como a duração da doença (menos de 24 horas). Os sintomas consistem em vômitos, náuseas e cólicas abdominais. Febre e diarreia normalmente estão ausentes. Disfunção hepática fulminante tem sido associada ao consumo de alimentos contaminados com grandes quantidades de toxina emética, que é responsável por danos no metabolismo do ácido graxo mitocondrial. Felizmente, essa complicação é rara.

A forma diarreica de intoxicação alimentar por *B. cereus* é uma infecção que resulta do consumo de carne, vegetais ou molhos contaminados. O período de incubação é mais prolongado, durante o qual o bacilo multiplica-se no trato intestinal do paciente e libera a enterotoxina termolábil. Essa enterotoxina é responsável pelo aparecimento de diarreia, náuseas e cólicas abdomonais. Em geral, esta forma da doença dura um dia ou mais.

A s **infecções oculares** causadas por *B. cereus* normalmente ocorrem após lesões traumáticas, por intermédio de um objeto contaminado com solo que penetra nos olhos (Caso Clínico 24-2). A panoftalmite por *Bacillus* é uma doença de progressão rápida que quase sempre resulta na perda completa da percepção luminosa, em 48 horas após a lesão. Infecções disseminadas com manifestações oculares podem também se desenvolver em usuários de drogas por via intravenosa.

Caso Clínico 24-2 Endoftalmite traumática por *Bacillus cereus*

Infelizmente não é rara a endoftalmite por trauma com objeto contaminado por *Bacillus cereus*. Enquanto trabalhava em uma horta, um homem de 44 anos de idade sofreu um trauma na vista, quando um pedaço de metal foi lançado dentro do seu olho esquerdo, danificando a córnea e as câmaras anterior e posterior do olho. Durante as 12 horas seguintes, o paciente apresentou dor intensa e secreção purulenta no olho. Passou por cirurgia para diminuir a pressão intraocular, drenar a secreção e administrar antimicrobianos por via intravitreal (vancomicina, ceftazidima) e dexametazona. O cultivo do fluido aspirado foi positivo para *B. cereus*. Após a cirurgia, o antimicrobiano ciprofloxacina foi acrescentado ao esquema terapêutico. A despeito dos procedimentos médicos e do tratamento realizado, a inflamação ocular persistiu, evoluiu e foi necessária a enucleação do globo ocular. Esse paciente ilustra os riscos envolvidos em casos de injúria ocular penetrante e a necessidade de intervir, imediatamente, para que o olho seja preservado.

Outras infecções por *B. cereus* e por outras espécies de *Bacillus* incluem infecções pelo uso de cateter intravenoso, infecções do sistema nervoso central e endocardite (mais comumente em usuários de drogas), bem como pneumonite, bacteremia e meningite em pacientes gravemente imunossuprimidos. Também tem sido relatado que a ingestão de **chá** por pacientes imunocomprometidos está associada a um risco aumentado para adquirir a doença causada por *B. cereus* em sua forma invasiva.

Uma doença rara causada pelo *B. cereus* merece atenção especial: é uma **pneumonia grave semelhante à do antraz em pacientes imunocompetentes**. Foram descritos na literatura quatro pacientes, todos metalúrgicos, residentes no Texas ou em Louisiana, nos Estados Unidos. Interessante que as amostras continham os **genes pXO1 da toxina de *B. anthracis*** e eram **encapsuladas**, porém as cápsulas não eram formadas pelo ácido glutâmico poli-γ-D, característico do bacilo antraz. Essas amostras demonstraram risco potencial e presumível da tranferência de genes de virulência de *B. anthracis* para amostras de *B. cereus*

ubiquitário.

Diagnóstico Laboratorial

Como *B. anthracis, B. cereus* e outras espécies de *Bacillus* podem ser rapidamente cultivados no laboratório a partir dos espécimes clínicos, exceto de fezes coletadas de pacientes com a forma emética de intoxicação alimentar. Para confirmar a existência de doença transmitida por alimento, é preciso cultivar o alimento implicado (p. ex., arroz, carne e vegetais). Testes para detectar as enterotoxinas termoestável e termolábil não são comumente realizados. Desse modo, casos de gastroenterites por *B. cereus* são diagnosticados por critérios epidemiológicos. As espécies de *Bacillus* crescem rapidamente e são facilmente detectadas pela coloração de Gram e cultura de amostras obtidas de olhos infectados, sítios de cultura intravenosos e outros locais.

Tratamento, Prevenção e Controle

Devido à evolução curta e não complicada das gastroenterites causadas por *B. cereus*, o tratamento sintomático é adequado. O tratamento de outras infecções causadas por *Bacillus* pode ser complicado devido à evolução rápida e progressiva, bem como pela elevada incidência de resistência múltipla a antimicrobianos (p. ex., *B. cereus* carreia genes de resistência para penicilinas e cefalosporinas). No tratamento das infecções pode-se usar: **vancomicina, clindamicina, ciprofloxacina** e **gentamicina**. Penicilina e cefalosporinas são ineficientes. Infecções oculares devem ser tratadas rapidamente. A intoxicação alimentar pode ser evitada através do consumo rápido do alimento após o cozimento e pela refrigeração adequada dos alimentos não consumidos.

Estudo de Caso e Questões

Uma mulher de 56 anos, funcionária dos correios, procurou atendimento médico apresentando febre, diarreia e vômitos. Ela foi tratada sintomaticamente e teve alta. Cinco dias depois, retornou ao hospital queixando-se de calafrios, tosse seca e dor no peito. O raios X do tórax mostrou um pequeno infiltrado no lado direito do pulmão e efusão bilateral, porém sem evidências de aumento do mediastino. Foi internada e no dia seguinte, seu quadro respiratório piorou. Uma tomografia computadorizada de tórax revelou aumento do mediastino e dos nódulos linfáticos cervicais. Foram coletadas amostras de líquido pleural e sangue para cultivo com resultado positivo, em 10 horas, para cocos Gram positivos em longas cadeias.

1. A primeira impressão clínica é que essa senhora inalou esporos do bacilo antraz. Que testes devem ser realizados para confirmar a identificação do microrganismo isolado?

1. Culturas de sangue é o método mais sensível para detectar antraz, uma vez que pacientes que se contaminam por este organismo por inalação desenvolvem sepse. Doenças causadas por *Bacillus anthracis* é uma das poucas doenças que uma lâmina de sangue corada pelo método de Gram revela o organismo. Pacientes com antraz adquirido por inalação podem também desenvolver sintomas meníngeos. Por este motivo, o fluído cerebrospinal também deve ser coletado para cultura e microscopia corada pelo método de Gram. Embora secreções respiratórias sejam frequentemente coletadas, o rendimento destas amostras para o diagnóstico de antraz é relativamente baixo.

2. Quais são os três principais fatores de virulência de *B. anthracis*?

2. *B. anthracis* possui genes que codificam três proteínas: antígeno protetor (PA), fator de edema (EF) e fator letal (LF). O antígeno protetor combinado com o fator edema forma a toxina edema, que causa um aumento nos niveis de AMPc e subsequente edema. O antígeno protetor combinado com o fator letal forma a toxina letal, que causa a morte celular por mecanismos completamente desconhecidos. O outro fator de virulência produzido pelo *B. anthracis* é a cápsula polipeptídica, que consiste de poli-D-ácido glutâmico, que interfere com a fagocitose.

3. Descreva os mecanismos de ação das toxinas produzidas por *B. anthracis*

3. PA liga-se a receptores especificos do hospedeiro, que estão presentes em várias células e tecidos (exemplo: cérebro, coração, intestino, pulmão, músculo do esqueleto, pâncreas, macrófagos). Depois de ligados aos receptores, a protease do hospedeiro cliva a PA, retendo um fragmento de 63 kDa na superfície da célula. Estes fragmentos associados à

superfície celular formam um complexo de sete fragmentos em forma de anel (poro precursor ou preporo). Esse complexo heptâmero, em seguida, pode ligar-se a até três moléculas de LF e ou EF. LF ou EF são transportadas para dentro da célula onde liberam seus efeitos. LF é uma protease zinco-dependente que é capaz de clivar uma proteína quinase mitógeno-ativada, levando a morte celular por um mecanismo ainda não conhecido completamente. EF é uma adenilato ciclase calmodulina-dependente que aumenta os níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMP_c), resultando em edema.

4. Descreva as duas formas de intoxicação alimentar causadas por *B. cereus*. Qual toxina é responsável por cada forma? Por que é diferente a apresentação clínica dessas duas doenças?

4 . *B. cereus* produz duas enterotoxinas. A enterotoxina termo-estável, resistente à proteólise, é responsável pela forma emética da doença e a enterotoxina termo-lábil é responsável pela forma diarreica. A enterotoxina termo-lábil assemelha-se à enterotoxina produzida pela *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae*, estimulando o sistema adenilato ciclase monofosfato de adesinosina cíclico (AMPc) nas células epiteliais intestinais, levando assim a uma profusa diarreia aquosa. Ainda é desconhecido o mecanismo de ação da enterotoxina termo-estável.

5. *B. cereus* pode causar infecções oculares. Quais são os dois fatores de risco associados a essa infecção?

5. As condições associadas a infecções oculares causadas por *B. cereus* são: (1) Traumática, normalmente ocorrem após lesões traumáticas, por intermédio de um objeto contaminado com o solo, que penetra e machuca os olhos, e (2) Infecções disseminadas com manifestações oculares, que podem se desenvolver em usuários de drogas intravenosas contaminadas por *B. cereus*.

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site ***www.StudentConsult.com*** e assista à animação com as funções da toxina edema e da toxina letal do *B. anthracis*.

Bibliografia

Avashia S, et al. Fatal pneumonia among metalworkers due to inhalation exposure to Bacillus cereus containing Bacillus anthracis toxin genes. *Clin Infect Dis*. 2006;44:414-416.

Baggett HC, et al. No evidence of a mild form of inhalational Bacillus anthracis infection during a bioterrorism-related inhalational anthrax outbreak in Washington, D.C., in 2001. *Clin Infect Dis*. 2005;41:991-997.

Basha S, et al. Polyvalent inhibitors of anthrax toxin that target host receptors. *Proc Natl Acad Sci*. 2006;103:13509-13513.

Bell CA, et al. Detection of Bacillus anthracis DNA by LightCycler PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40:2897-2902.

Collier RJ, Young JAT. Anthrax toxin. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2003;19:45-70.

Drobniewski FA. Bacillus cereus and related species. *Clin Microbiol Rev*. 1993;6:324-338.

Gaur AH, et al. Bacillus cereus bacteremia and meningitis in immuno compromised children. *Clin Infect Dis*. 2001;32:1456-1462.

Hoffmaster A, et al. Characterization of Bacillus cereus isolates associated with fatal

pneumonias: Strains are closely related to Bacillus anthracis and harbor B. anthracis virulence genes. *J Clin Microbiol*. 2006;44:3352-3360.
Krantz BA, et al. A phenylalanine clamp catalyzes protein translocation through the anthrax toxin pore. *Science*. 2005;309:777-781.
Mahtab M, Leppla SH. The roles of anthrax toxin in pathogenesis. *Curr Opin Microbiol*. 2004;7:19-24.
Melnyk RA, et al. Structural determinants for the binding of anthrax lethal factor to oligomeric protective antigen. *J Biol Chem*. 2006;281:1630-1635.
Pickering AK, Merkel TJ. Macrophages release tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 in response to intracellular Bacillus anthracis spores. *Infect Immun*. 2004;72:3069-3072.
Saleeby CM, et al. Association between tea ingestion and invasive Bacillus cereus infection among children with cancer. *Clin Infect Dis*. 2004;39:1536-1539.
Subramanian GM, et al. A Phase 1 study of PAmAb, a fully human monoclonal antibody against Bacillus anthracis protective antigen, in healthy volunteers. *Clin Infect Dis*. 2005;41:12-20.
Turnbull PC. Introduction: Anthrax history, disease and ecology. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2002;271:1-19.

25 Listeria e Erysipelothrix

Os bacilos aeróbios, não formadores de esporos e Gram positivos são um grupo heterogêneo de bactérias. Alguns são patógenos humanos bem conhecidos (p. ex., *Corynebacterium diphtheriae, Mycobacterium tuberculosis*), outros são primariamente patógenos animais que podem causar doenças humanas (p. ex., *Erysipelothrix rhusiopathiae, Rhodococcus equi)*, e outros são patógenos oportunistas que infectam tipicamente pacientes hospitalizados e imunocomprometidos (p. ex., *Corynebacterium jeikeium*). Embora a apresentação clínica das doenças possa ser característica, a detecção e a identificação dos organismos no laboratório podem ser problemáticas. Uma técnica que é útil para a identificação preliminar destas bactérias envolve a **morfologia microscópica**. Os bacilos Gram positivos que são uniformes incluem ***Listeria*** e ***Erysipelothrix*** (Quadro 25-1), os temas deste capítulo. Os bacilos corineformes (que incluem o gênero *Corynebacterium*) compreendem um grande grupo de bacilos de forma irregular (discutidos no Capítulo 26). O último grupo de bactérias em forma de bastão é caracterizado pela presença de ácidos micólicos de cadeia longa em suas paredes celulares. Este componente da parede celular torna difícil corar as bactérias com a coloração de Gram; por isso, a coloração acidorresistente foi desenvolvida. Bactérias que são parcialmente ou completamente acidorresistentes incluem *Nocardia, Rhodococcus e Mycobacterium* (discutidos nos Capítulos 27 e 28).

Quadro 25-1 *Listeria* e *Erysipelothrix*

Organismo	Origem Histórica
Listeria	*Listeria*, nome concedido em homenagem ao cirurgião inglês Lord Lister
L. monocytogenes	*monocytum*, uma “célula sanguínea” ou monócito; *genero*, “produz” (produtor de monócito; extratos da membrana estimulam a produção de monócitos em coelhos, mas isto não é visto na doença humana)
Erysipelothrix	*erythros*, “vermelho”; *pella*, “pele”; *thrix*, “cabelo” (organismo fino, semelhante a cabelo que produz uma lesão de pele vermelha ou inflamatória)
E. rhusiopathiae	*rhusios*, “vermelho”; *pathos*, “doença” (doença vermelha)

Listeria monocytogenes (Quadro 25-2)

O gênero *Listeria* consiste de seis espécies, sendo ***Listeria monocytogenes*** e *Listeria ivanovii* as únicas reconhecidas como patógenos. *L. monocytogenes* é um patógeno humano significativo, e *L. ivanovii* é primariamente um patógeno animal. *L. monocytogenes* é um bacilo pequeno (0,4 a 0,5 × 0,5 a 2μm), não ramificado, Gram positivo, anaeróbio facultativo, capaz de crescer em uma ampla faixa de temperatura (1°C a 45°C) e em uma alta concentração de sal. Os **bacilos pequenos** aparecem isolados, em pares, ou em cadeias curtas (Fig. 25-1) e podem ser confundidos com *Streptococcus pneumoniae* ou *Enterococcus*. Isto é importante porque tanto *S. pneumoniae* quanto *L. monocytogenes* podem causar meningite. Os organismos são **móveis** à temperatura ambiente, não tão móveis a 37°C e exibem uma mobilidade "em cambalhota" característica, quando uma gota de meio de cultivo é examinada microscopicamente. *L. monocytogenes* exibe uma **beta-hemólise fraca** quando é cultivada em placas de agar sangue de carneiro. Estas características diferenciais (*i.e.*, morfologia na coloração de Gram, mobilidade, β-hemólise) são úteis para a identificação preliminar de *Listeria*. Embora as bactérias sejam amplamente distribuídas na natureza, doenças humanas são incomuns e são restritas a diversas populações bem definidas: recém-nascidos, idosos, mulheres grávidas e pacientes com imunidade celular comprometida.

Quadro 25-2 Resumo: *Listeria*

Biologia, Virulência, Doença

Cocobacilos Gram positivos frequentemente arranjados em pares assemelhando-se a enterococos

Patógeno intracelular facultativo que pode evitar a eliminação mediada por anticorpos

Linhagens virulentas produzem fatores de adesão celular (internalinas), hemolisinas (listeriolisina O, duas fosfolipases C) e uma proteína que media a mobilidade intracelular direcionada pela actina (ActA)

A habilidade de crescer a 4°C pode levar a altas concentrações de bactérias em alimentos contaminados

Epidemiologia

Isolado no solo, na água, na vegetação e em uma variedade de animais, incluindo humanos (baixa concentração no trato gastrointestinal)

Doença associada ao consumo de produtos alimentares contaminados (p. ex., requeijão, leite, peru, vegetais crus [esp. repolho]) ou disseminação transplacentária da mãe para o neonato; casos esporádicos e epidêmicos ocorrem ao longo do ano, mas os picos acontecem nos meses quentes

Os jovens, os idosos e as mulheres grávidas, assim como os pacientes com defeitos na imunidade celular, estão sob risco aumentado de sofrer a doença

Diagnóstico

A microscopia não é sensível; as culturas podem requerer incubação por 2 a 3 dias ou enriquecimento a 4°C

Móveis à temperatura ambiente, fracamente βhemolíticos e capazes de crescer a 4°C e em altas concentrações de sal

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de escolha para a doença grave é a penicilina ou ampicilina, sozinhas ou em combinação com gentamicina

As pessoas de alto risco devem evitar ingerir alimentos de origem animal, crus ou parcialmente cozidos, requeijões e vegetais crus não lavados

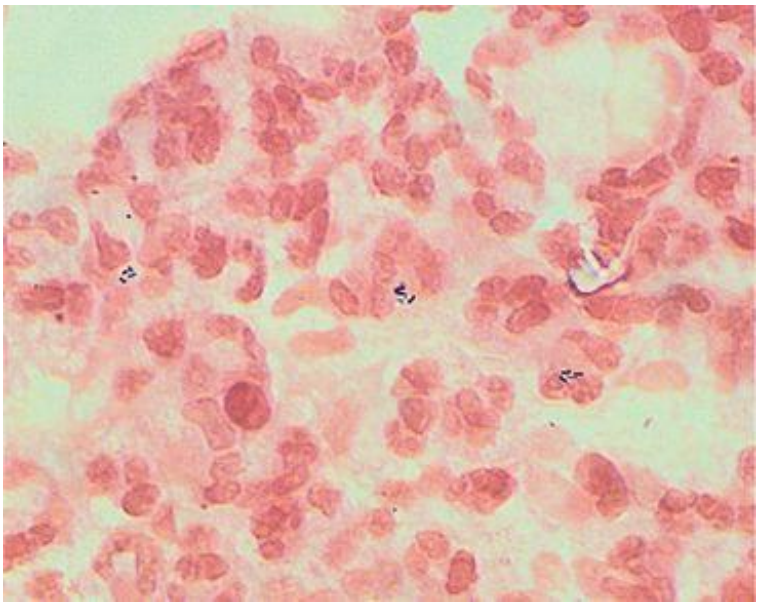


Figura 25-1 Coloração de Gram de *Listeria monocytogenes* no fluido cerebroespinhal.

Patogênese e Imunidade

L. monocytogenes é um **patógeno intracelular facultativo**. Posteriormente à ingestão de comida contaminada, *L. monocytogenes* é capaz de sobreviver à exposição a enzimas proteolíticas, ao ácido estomacal e aos sais de bile, com a ação protetora dos genes de resposta ao estresse. As bactérias são capazes de aderir às células hospedeiras via interação de proteínas presentes na superfície da bactéria (*i.e.*, internalina A, InlA) com receptores de glicoproteínas presentes na superfície do hospedeiro (p. ex., caderina epitelial, E-caderina). Outras internalinas (p. ex., InlB) podem reconhecer receptores em uma ampla gama de células hospedeiras. Estudos com modelos animais têm mostrado que a infecção é iniciada nos enterócitos ou nas células M, nas placas de Peyer. Após a penetração nas células, o pH ácido do fagolisossomo que circunda a bactéria ativa a exotoxina bacteriana **listeriolisina O** e duas diferentes enzimas **fosfolipases C**, levando à liberação da bactéria no citoplasma da célula. A bactéria se replica e migra para a membrana celular. Este movimento é mediado por uma proteína bacteriana **ActA**, localizada na superfície celular de uma das extremidades da bactéria, que coordena o **agrupamento de actina**. A extremidade distal da cauda de actina permanece fixa, enquanto a polimerização ocorre adjacentemente à extremidade da bactéria. Por isso, a bactéria é empurrada para a membrana da célula, onde uma protrusão (filopódio) é formada, empurrando a bactéria para a célula adjacente. Após a ingestão da bactéria pela célula adjacente, os processos de **lise do fagolisossomo, replicação bacteriana** e **movimento direcional** se repetem. A entrada nos macrófagos após a passagem pela mucosa intestinal transporta a bactéria para o fígado e para o baço, levando à disseminação da doença. Os genes responsáveis pela lise da membrana, pela replicação intracelular e pelo movimento direcional são agrupados juntos e regulados por um único gene, *prf*A ou gene do "fator de regulação positivo".

A imunidade humoral não é, relativamente, importante para o controle de infecções causadas por *L. monocytogenes*. Essas bactérias podem se replicar nos macrófagos e movimentarem-se dentro das células, impedindo a depuração mediada pelos anticorpos. Por essa razão, pacientes com falhas na imunidade celular, mas não na imunidade humoral, são particularmente sensíveis às infecções graves.

Epidemiologia

L. monocytogenes é isolada de uma variedade de fontes ambientais e das fezes de mamíferos, pássaros, peixes, insetos e outros animais. Acredita-se que as principais fontes deste organismo sejam o solo e a matéria vegetal em decomposição. Estima-se que 1% a 5% das pessoas saudáveis sejam portadoras de *L. monocytogenes* nas fezes. Pelo fato do organismo ser ubíquo, a exposição e a colonização transitórias podem ocorrer na maioria dos indivíduos. Cerca de 2.500 infecções ocorrem anualmente nos Estados Unidos. No entanto, muitas infecções brandas não são relatadas. Grandes surtos associados com **produtos alimentares contaminados** foram documentados. Por exemplo, 30 milhões de libras de carne contaminada foram recolhidas em um surto ocorrido em 1999 e 16 milhões de libras de peru e frango processados foram recolhidos em um segundo surto ocorrido em 2000, em diversos estados norte-americanos. Muitas pessoas foram expostas à bactéria antes do recolhimento ser concluído. A incidência da doença não é proporcional em **populações de alto risco**, tais como recém-nascidos, idosos, mulheres grávidas e em pacientes imunocomprometidos (p. ex., pacientes transplantados, com linfomas, síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]).

A listeriose humana é uma doença esporádica vista ao longo do ano, mas os picos de incidência ocorrem nos meses mais quentes. Focos de casos epidêmicos e esporádicos de listeriose foram associados com o consumo de leite contaminado, requeijão, carne mal cozida e aves (p. ex., salsichas de peru, frios fatiados), vegetais crus mal lavados e repolho. Como *Listeria* pode crescer em uma ampla faixa de pH e em baixas temperaturas, alimentos com uma pequena quantidade de organismos podem se tornar altamente contaminados durante a refrigeração prolongada. A doença pode ocorrer se o alimento não estiver cozido ou for cozido inadequadamente (p. ex., carne e salsichas de peru preparados no forno de micro-ondas) antes do consumo. A taxa de mortalidade das infecções sintomáticas causadas por *Listeria* (20% a 30%) é maior do que quase todas as doenças causadas pela ingestão de alimentos.

Doenças Clínicas (Quadro 25-3)

Doenças Neonatais

Duas formas de doenças neonatais têm sido descritas: (1) **doença de início precoce**, adquirida no útero, através da placenta; e (2) **doença de início tardio**, adquirida ao nascimento ou logo após o nascimento. As doenças de início precoce podem resultar em aborto, natimortos ou nascimentos prematuros. A **granulomatose infantisséptica** é uma forma grave de listeriose caracterizada pela formação de abscessos disseminados, granulomas em múltiplos órgãos e uma alta taxa de mortalidade, a menos que seja prontamente tratada.

Quadro 25-3 *Listeria* e *Erysipelothrix*: Resumos Clínicos

Listeria monocytogenes

Doença neonatal

Doença de início precoce (“granulomatose infantisséptica”): adquirida no útero pela placenta e é caracterizada por abscessos disseminados e granulomas em múltiplos órgãos

Doença de início tardio: adquirida ao nascimento ou logo após o nascimento e se apresenta como meningite ou meningoencefalite com septicemia

Doença em adultos saudáveis: tipicamente como uma doença semelhante à gripe com ou sem gastroenterite

Doença em mulheres grávidas ou em pacientes com sistema imunológico comprometido: podem se apresentar como bacteremia primária ou como doença disseminada com hipotensão e meningite

Erysipelothrix rhusiopathiae

Erisipeloide: lesão de pele dolorosa, prurítica, inflamatória com uma borda arroxeada alta e com o centro claro; infecção cutânea difusa pode se desenvolver raramente com manifestações sistêmicas

Doenças septicêmicas: o isolamento da bactéria no sangue está tipicamente associado com a endocardite (tanto a aguda quanto a forma crônica mais comum); raramente, formação de abscesso, meningite ou osteomielite podem se desenvolver

A doença de início tardio ocorre duas a três semanas após o nascimento, na forma de meningite ou meningoencefalite com septicemia. Os sinais e sintomas clínicos não são únicos; por isso outras causas de doenças neonatais do sistema nervoso central, como doença estreptocóccica do grupo B, devem ser excluídas.

Doença em Adultos Saudáveis

A maioria das infecções causadas por *Listeria* em adultos saudável é assintomática ou ocorre na forma de uma doença leve, semelhante à gripe. Sintomas gastrointestinais podem aparecer em alguns pacientes. A doença em pacientes idosos e em pacientes com a imunidade celular comprometida é mais grave.

Meningite em Adultos (Caso Clínico 25-1)

A meningite é a forma mais comum de infecção por *Listeria* em adultos. Embora os sinais e sintomas clínicos da meningite causados por este organismo não sejam específicos, deve-se suspeitar sempre de *Listeria* em pacientes com transplante de órgãos ou câncer e em mulheres grávidas que desenvolvem meningite. A doença está associada à alta mortalidade (20% a 50%) e a sequelas neurológicas significativas entre os sobreviventes.

Caso Clínico 25-1 Meningite por *Listeria* em Homem Imunocomprometido

Um paciente, descrito por Bowie et al. (Ann Pharmacother 38: 58-61, 2004), ilustra a apresentação clínica de meningite por *Listeria*. Um homem de 73 anos de idade com artrite reumatoide refratária foi trazido pela sua família ao hospital local porque tinha um nível diminuído de consciência e um histórico de dor de cabeça, náusea e vômito por 3 dias. Seus medicamentos em curso eram infliximab, metotrexato e prednisona para artrite reumatoide. No exame físico, o paciente tinha o pescoço rígido, estava febril, tinha um pulso de 92 batimentos/min e uma pressão sanguínea de 179/72mm Hg. Como havia a suspeita de meningite, o sangue e o fluido cerebroespinhal foram coletados para cultura. A coloração de Gram do CSF foi negativa, porém houve crescimento de *Listeria* tanto no sangue quanto no CSF. O paciente foi tratado com vancomicina, o infliximab foi descontinuado e teve uma recuperação sem problemas. O infliximab estava associado com uma monocitopenia dose-dependente. Como os monócitos são os efetores-chave para a eliminação de *Listeria*, este paciente imunocomprometido estava especialmente sob risco de infecção com este organismo. A falha da detecção de *Listeria* no CSF pela coloração de Gram é típica dessa doença.

Bacteremia Primária

Pacientes com bacteremia podem ter um histórico comum de calafrios e febre (comumente observado em mulheres grávidas) ou uma apresentação mais aguda com febres de alto grau e hipotensão. Somente pacientes gravemente imunocomprometidos e os filhos de mulheres grávidas com sepse parecem estar sob risco de morte.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Preparações de fluido cerebroespinhal (CSF) coradas com Gram tipicamente não mostram nenhum organismo, porque as bactérias geralmente estão presentes em concentrações abaixo dos limites de detecção (p. ex., 10^4 bactérias por mL de CSF ou menos). Ao contrário, a maioria dos patógenos bacterianos isolados no sistema nervoso central está presente em concentrações de 100 a 1.000 vezes mais altas. Quando a coloração de Gram apresenta organismos, eles são coco bacilos Gram positivos intracelulares e extracelulares. Deve-se tomar muito cuidado para distingui-los de outras bactérias como *S. pneumoniae, Enterococcus* e *Corynebacterium*.

Cultura

A *Listeria* cresce na maioria dos meios convencionais de laboratório, com pequenas colônias redondas observadas no meio agar após incubação por 1 a 2 dias. Pode ser necessário usar meios seletivos e **enriquecimento a frio** (armazenamento da amostra em refrigerador por período prolongado) para detectar *Listeria* em amostras contaminadas com bactérias de crescimento rápido. A beta-hemólise em meio agar sangue de ovelha pode servir para distinguir a *Listeria* de bactérias morfologicamente semelhantes; no entanto, a hemólise geralmente é fraca e pode não ser observada inicialmente. A hemólise é acentuada quando os organismos são cultivados juntamente com *Staphylococcus aureus* β-hemolíticos. Esta hemólise acentuada é considerada como positiva no teste CAMP [*C*hristie, *A*tkins, *M*unch-*P*etersen]. A mobilidade característica do organismo em um meio líquido ou em agar semissólido também é útil para a identificação preliminar de *Listeria*. Todos os bacilos Gram positivos isolados do sangue ou do FCE devem ser identificados para distinguir entre *Corynebacterium* (presumivelmente um contaminante) e *Listeria*.

Identificação

Testes bioquímicos e sorológicos selecionados são usados para identificar definitivamente o patógeno. Treze sorotipos foram descritos, sendo os sorotipos 1/2a, 1/2b, e 4b os responsáveis pela maioria das infecções em neonatos e adultos. A sorotipagem geralmente não é útil em investigações epidemiológicas porque relativamente poucos sorotipos são isolados de humanos com a doença. A eletroforese em campo elétrico pulsado (PFGE) é usada mais comumente nas investigações epidemiológicas de surtos. As cepas dos sorotipos 1/2a são altamente heterogêneas e podem ser facilmente subtipadas; ao contrário, o sorotipo 4b é homogêneo e múltiplos métodos de tipagem são necessários para uma boa diferenciação.

Tratamento, Prevenção e Controle

Como a maioria dos antibióticos tem efeito bacteriostático com *L. monocytogenes*, a combinação de **gentamicina com penicilina ou ampicilina** é o tratamento de escolha para infecções graves. *Listeria* é naturalmente resistente às cefalosporinas. Resistência aos macrolídios e às tetraciclinas tem sido observada, o que pode limitar a utilidade destes fármacos. Sulfametoxazol-trimetoprima é bactericida para o *L. monocytogenes* e tem sido usado com sucesso. Novos antibióticos como linezolida, daptomicina e tigeciclina têm boa atividade *in vitro*, mas não têm sido usados para tratar pacientes com doenças causadas por estes patógenos.

Devido ao fato de *Listeria* ser ubíquia e a maioria das infecções ser esporádica, a prevenção e o controle são difíceis. Pessoas com alto risco de infecção devem evitar a ingestão de alimentos de origem animal, crus ou parcialmente cozidos, requeijões e vegetais crus não lavados. Vacinas ainda não estão disponíveis e a terapia profilática com antibióticos ainda não foi avaliada.

Erysipelothrix rhusiopathiae (Quadro 25-4)

Fisiologia e Estrutura

O gênero *Erysipelothrix* contém três espécies, dos quais ***E. rhusiopathiae*** é a espécie responsável pela doença humana. *E. rhusiopathiae* é um bacilo Gram positivo, não formador de esporos, que se encontra distribuído por todo o mundo em animais selvagens e domésticos. Os bacilos são delgados (0,2 a 0,5 × 0,8 a 2,5 μm) e algumas vezes pleomórficos, com uma tendência de formar filamentos de até 60μm ("forma de cabelo"). Eles descoram rapidamente e podem parecer Gram negativos (Fig. 25-2). Os orga nismos são microaerofílicos, preferindo uma atmosfera com oxigênio reduzido e com suplementação de dióxido de carbono (5% a 10%). Colônias αhemolíticas pequenas e de coloração acinzentada são observadas após 2 a 3 dias de incubação.

Quadro 25-4 Resumo: *Erysipelothrix*

Biologia, Virulência, Doença

Bacilos delgados, pleomórficos, Gram positivos que formam longos (*i.e.*, 60µm) filamentos

Acredita-se que a produção de neuraminidase seja importante para adesão e penetração nas células epiteliais, e que uma cápsula semelhante a polissacarídeo proteja a bactéria da fagocitose

A doença em humanos é mais comum a uma infecção cutânea localizada ou uma septicemia associada à endocardite

Epidemiologia

Coloniza uma variedade de organismos, particularmente suínos e perus

É encontrado no solo rico em matéria orgânica ou em água subterrânea contaminada com restos de animais colonizados

Não é um patógeno comum nos Estados Unidos

Doença ocupacional de açougueiros, processadores de carne, fazendeiros, criadores de aves, manipuladores de peixes e veterinários

Diagnóstico

Bacilos longos, filamentosos e Gram positivos vistos na coloração de Gram de uma biopsia, coletada na borda progressiva da lesão

Crescem bem em agar sangue e agar chocolate, incubados em 5% a 10% de CO_2

Tratamento, Prevenção e Controle

A penicilina é o fármaco de escolha; o organismo é sensível às cefalosporinas, fluorquinolonas, eritromicina e clindamicina; suscetibilidade variável a aminoglicosídeos e sulfonamidas; resistentes a vancomicina

Os trabalhadores devem cobrir as áreas expostas da pele quando manusearem animais e produtos animais

Os rebanhos suínos devem ser vacinados

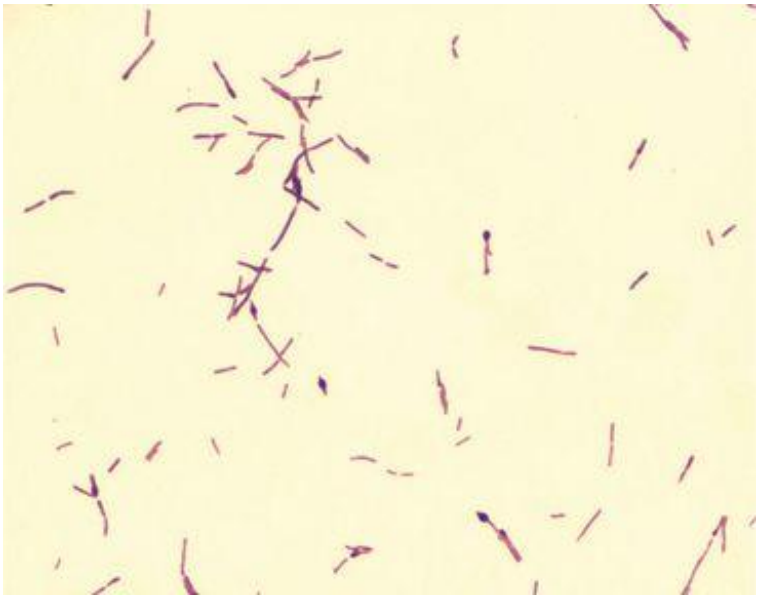


Figura 25-2 Coloração de Gram de *Erysipelothrix rhusiopathiae* em cultura. Observe os tamanhos variáveis dos bacilos e a aparência “Gram negativa”.

Patogênese

Pouco se sabe sobre os fatores de virulência específicos do gênero *Erysipelothrix*. Acredita-se que a produção de neuraminidase seja importante para a adesão e para a penetração nas células epiteliais, e também que uma cápsula semelhante a um polissacarídeo proteja a bactéria da fagocitose.

Epidemiologia

Erysipelothrix é um organismo ubíquo que está distribuído pelo mundo inteiro. Este organismo pode ser isolado nas tonsilas ou no trato digestivo de muitos animais selvagens e domésticos, incluindo mamíferos, pássaros e peixes. A colonização é particularmente alta em **suínos** e **perus**. O solo rico em matéria orgânica ou a água subterrânea contaminada com restos animais podem facilitar a disseminação animal-animal. As bactérias são resistentes ao ressecamento e podem sobreviver no solo por meses até anos. Além disso, *E. rhusiopathiae* é resistente a altas concentrações de sal, à decapagem e ao vapor. A doença causada por *Erysipelothrix* em humanos é **zoonótica** (se dissemina de animais para humanos) e primariamente ocupacional. Açougueiros, processadores de carne, fazendeiros, criadores de aves, manipuladores de peixes e veterinários estão sob grande risco. As infecções cutâneas se desenvolvem tipicamente após o organismo ser inoculado subcutaneamente por intermédio de uma abrasão ou ainda por intermédio de um ferimento causado por perfuração, durante o manuseio de produtos animais ou de solos contaminados. A incidência da doença humana é desconhecida, já que a infecção por *Erysipelothrix* não é uma doença notificável.

Doenças Clínicas (Quadro 25-3; Caso Clínico 25-2)

A doença animal (particularmente em suínos) é amplamente conhecida, porém a doença humana é menos comum. Duas formas primárias de infecção humana causada por *E. rhusiopathiae* foram descritas: (1) infecção cutânea localizada (**erisipeloide**); e (2) forma **septicêmica**. Erisipeloide é uma lesão de pele inflamatória que se desenvolve no local de um trauma após 2 a 7 dias de incubação. A lesão se apresenta mais comumente nos dedos ou mãos e aparecem arroxeadas com bordas aumentadas. Esta lesão se espalha, de forma lenta e perifericamente, enquanto a descoloração na área central desaparece gradualmente. A lesão dolorosa é prurítica e o paciente experimenta uma sensação de queimação ou latejamento. A supuração é incomum, uma característica que distingue erisipeloide das erisipelas estreptocócicas. A cura pode ser espontânea, porém pode ser apressada com a terapia antibiótica apropriada. Uma infecção cutânea difusa também pode se desenvolver. Essa está frequentemente associada a manifestações sistêmicas e os resultados das culturas de sangue são tipicamente negativos para os organismos.

Caso Clínico 25-2 Endocardite por *Erysipelothrix*

A endocardite causada por *E. rhusiopathiae* não é uma doença comum, mas, no entanto, é bem conhecida. O seguinte caso clínico relatado por Art e cols. (Eur J Clin Microbiol Infect Dis 20: 587-588, 2001) típico desta doença. Um homem de 46 anos de idade, que trabalhou como açougueiro e tinha um histórico de alcoolismo, foi admitido no hospital com uma erupção eritematosa na parte superior do corpo e uma reclamação de artralgias de ambos os ombros. O histórico médico revelou história de suores noturnos e calafrios diurnos recorrentes por quatro semanas, que o paciente atribuiu à bebida. O exame físico revelou hepatoesplenomegalia, um murmúrio sistólico detectado na auscultação e uma válvula aórtica calcificada com regurgitação leve. Nenhuma vegetação foi observada na ecocardiografia. Cinco culturas de sangue foram coletadas e todas foram positivas para *E. rhusiopathiae*, após 2 dias. O paciente foi transferido para cirurgia, para substituição da válvula. Abscessos paravalvulares foram detectados intraoperatoriamente. Após cirurgia, o paciente foi tratado com clindamicina e penicilina e teve uma recuperação completa. O caso ilustra os fatores de risco (*i.e.*, açougueiro, alcoolismo), um curso crônico e o valor da cirurgia combinada com o tratamento realizado com antibióticos efetivos (*i.e.*, penicilina, clindamicina).

A forma septicêmica das infecções causadas por *Erysipelothrix* é incomum, mas quando presente está frequentemente associada à endocardite. A endocardite por *Erysipelothrix* pode ter um início agudo, mas geralmente é subagudo. O envolvimento de válvulas cardíacas previamente não danificadas (particularmente, a válvula aórtica) é comum. Outras complicações sistêmicas (p. ex., formação de abscesso, meningite, osteomielite) são relativamente incomuns.

Diagnóstico Laboratorial

Os bacilos são localizados somente no tecido profundo da lesão. Por isso, amostras de biópsias espessas ou de aspirados profun dos devem ser coletados das margens da lesão. A coloração de Gram da amostra é geralmente negativa, embora a presença de **bacilos finos** e **Gram positivos** seja útil para o diagnóstico, quando presente. *E. rhusiopathiae* não é um organismo fastidioso e cresce na maioria dos meios de cultura convencionais dos laboratórios, quando incubados na presença de 5% a 10% de CO_2 no entanto, o crescimento é lento e as culturas devem ser incubadas por 3 dias ou mais antes de serem consideradas negativas. A ausência de mobilidade e da produção de catalase distingue este organismo de *Listeria*. O organismo é fracamente fermentativo e produz sulfeto de hidrogênio em agar ferro-triplo açúcar. A sorologia não é útil para o diagnóstico, uma vez que a resposta de anticorpos é fraca nas infecções humanas.

Tratamento, Prevenção e Controle

Erysipelothrix é sensível à **penicilina**, que é o antibiótico de escolha tanto para a doença localizada quanto a sistêmica. As cefalosporinas, os carbepenens, os macrolídeos, as fluorquinolonas e a clindamicina também são ativos *in vitro*. Porém, o organismo tem uma suscetibilidade variável às sulfonamidas e aos aminoglicosídeos e é resistente à vancomicina. Infecções em pessoas com alto risco ocupacional podem ser evitadas com o uso de luvas e outras proteções. A vacinação é usada para controlar a doença em suínos.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 35 anos de idade foi hospitalizado por causa de dor de cabeça, febre e confusão mental. Este paciente recebeu um transplante de rim 7 meses antes e, desde então, começou a receber fármacos imunossupressivos para evitar a rejeição do órgão. O CSF foi coletado e revelou uma contagem de células brancas de 36 células/mm^3 com 96% de leucócitos polimorfonucleares, uma concentração de glicose de 40mg/dL e uma concentração proteica de 172 mg/dL. O Gram do CSF foi negativo para os organismos, no entanto, cocobacilos Gram positivos cresceram em culturas de sangue e CSF.

1. Qual é a causa mais provável da meningite deste paciente?

1. O cocobacilo Gram positivo mais comum que causa meningite em pacientes imunocomprometidos é *Listeria monocytogenes*. *Streptococcus pneumoniae*, a causa mais comum de meningites bacterianas nos EUA, também deve ser considerado. Embora este organismo seja um diplococo Gram positivo, as células elongadas podem ser confundidas com pequenos bacilos Gram positivos (cocobacilos), por microscopistas inexperientes. Porém, *Listeria* é movel e produz beta hemólise fraca em meio de agar sangue, diferentemente de *S. pneumoniae*.

2. Quais são as fontes potenciais deste organismo?

2. As fontes mais comuns deste organismo são queijos, requeijão e carnes frias, mal cozidas. *Listeria* pode se multiplicar nestes produtos alimentares em altas concentrações, mesmo quando armazenados no refrigerador. Outras fontes deste organismo incluem leite contaminado, legumes crus e repolho.

3. Quais fatores de virulência estão associados a este organismo?

3 . *Listeria* é um patógeno intracelular, que o protege da fagocitose. Cepas virulentas também produzem fatores de aderência celular e hemolisinas. A habilidade do organismo de crescer em baixas temperaturas o torna capaz de se multiplicar em diferentes lugares até atingir concentrações que causam a doença.

4. Como essa doença seria tratada? Quais antibióticos são efetivos *in vitro*? Quais antibióticos não são eficazes?

4. O tratamento de infecções causadas por *Listeria* é complicado pelo fato de o organismo ser naturalmente resistente a vários antibióticos comumente utilizados, incluindo as cefalosporinas. O tratamento de escolha para infecções graves é a combinação de ampicilina

ou penicilina com um aminoglicosídeo. Testes de susceptibilidade aos antimicrobianos devem ser realizados, uma vez que o aumento de resistência destes organismos vem sendo notado.

Bibliografia

Gorby GL, Peacock JEJr. Erysipelothrix rhusiopathiae endocarditis: Microbiologic, epidemiologic, and clinical features of an occupational disease. *Rev Infect Dis*. 1988;10:317-325.

Gray MJ, Freitag NE, Boor KJ. How the bacterial pathogen Listeria monocytogenes mediates the switch from environmental Dr. Jekyll to pathogenic Mr. Hyde. *Infect Immun*. 2006;74:2505-2512.

Hof H, Nichterlein T, Kretschmar M. Management of listeriosis. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10:345-357.

Ireton K, Cossart P. Host-pathogen interactions during entry and actinbased movement of Listeria monocytogenes. *Annu Rev Genet*. 1997;31:113-138.

Liu D. Identification, subtyping and virulence determination of Listeria monocytogenes, an important foodborne pathogen. *J Med Microbiol*. 2006;55:645-659.

Lorber B. Listeriosis. *Clin Infect Dis*. 1997;24:1-11.

Olsen SJ, et al. Multistate outbreak of Listeria monocytogenes infection linked to delicatessen turkey meat. *Clin Infect Dis*. 2005;40:962-967.

Pamer EG. Immune responses to Listeria monocytogenes. *Nature Rev Immunol*. 2004;4:812-823.

Safdar A, Armstrong D. Listeriosis in patients at a comprehensive cancer center, 1955–1997. *Clin Infect Dis*. 2003;37:359-364.

Schlech W. Foodborne listeriosis. *Clin Infect Dis*. 2000;31:770-775.

Verbarg S, et al. Erysipelothrix inopinata sp. nov., isolated in the course of sterile filtration of vegetable peptone broth, and description of Erysipelotrichaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54:221-225.

Wing E, Gregory S. Listeria monocytogenes: Clinical and experimental update. *J Infect Dis*. 2002;185(Suppl 1):S18-S24.

26 Corynebacterium e Outros Bacilos Gram Positivos

Os bacilos Gram positivos aeróbios compõem um grupo heterogêneo de bactérias agrupadas de acordo com a morfologia celular, propriedades de coloração e quantidade das bases nitrogenadas guanina e citosina (G+C). As bactérias discutidas neste capítulo apresentam em comum a morfologia celular, isto é, apresentam **formato irregular** quando coradas pelo método de Gram. Este grupo de microrganismos é comumente citado como **corineforme** (“formato de clava”) e inclui o gênero *Corynebacterium* e outros relacionados (Quadro 26-1).

Quadro 26-1 Bactérias Corineformes Relevantes

Organismo	Origem Histórica
Corynebacterium	*coryne*, uma “clava”; Grego *bakterion*, um “bacilo pequeno” (um bacilo pequeno em formato de clava)
C. diphtheriae	*diphthera*, “couro” ou “pele” (referente à membrana coriácea que se forma inicialmente na faringe)
C. jeikeium	*jeikeium* (espécie originalmente classificada como grupo *JK*)
C. urealyticum	*urea*, ureia; *lyticum*, lise (capaz de lisar ureia; espécie hidrolisa ureia rapidamente)
C. amycolatum	*a*, “destituído de”; *mycolatum*, relativo aos ácidos micólicos (espécie não possui ácidos micólicos na parede celular)
C.	*pseudo*, “falso”; *tuberculosis* (produz infecções purulentas crônicas [p.

pseudotuberculosis	ex., tuberculose] em ovelhas e outros animais de sangue quente)
C. ulcerans	*ulcerans* (pode produzir úlceras na faringe como *C. diphtheriae*)
Arcanobacterium	*arcanus*, "discreto"; latim *bacterium*, "bacilo" (bactéria discreta; microrganismo de crescimento lento que pode ser de difícil isolamento)
Brevibacterium	*brevis*, "curto"; do latim *bacterium*, "bastão" (um bacilo curto; esta espécie apresenta forma cocobacilar muito pequena)
Rothia mucilaginosa	Nome concedido em homenagem a Roth, o bacteriologista que originalmente estudou este grupo de microrganismos; *mucilaginosa*, "viscosa" (microrganismos viscosos ou mucoides)

O gênero *Corynebacterium* é formado por mais de 100 espécies e subespécies que apresentam parede celular contendo resíduos de arabinose, galactose, ácido *meso*-diaminopimélico (*meso*-DAP) e (na maioria das espécies) **ácidos micólicos de cadeias curtas** (22 a 36 átomos de carbono). Ao contrário dos microrganismos, que contêm ácidos micólicos de cadeias médias e longas (Caps. 27 e 28), os microrganismos pertencentes ao gênero *Corynebacterium* não são capazes de corar por métodos de álcool-acidorresistência. Na coloração de Gram, são observados bacilos Gram positivos irregulares agregados ou em cadeias curtas (formato de clava) (Fig. 26-1). **Granulações metacromáticas** (*i.e.*, grânulos que apresentam cor diferente do corante primário) presentes no interior das células podem ser visualizadas por técnicas de coloração especiais. Corinebactérias são microrganismos aeróbios ou anaeróbios facultativos, imóveis e catalase-positivos. A maioria das espécies produz ácido lático a partir da fermentação de carboidratos. Muitas espécies crescem bem em meios de cultura comumente utilizados nos laboratórios. No entanto, algumas espécies requerem meios de cultura suplementados com lipídios (bactérias **lipofílicas**) para que ocorra crescimento *in vitro*.

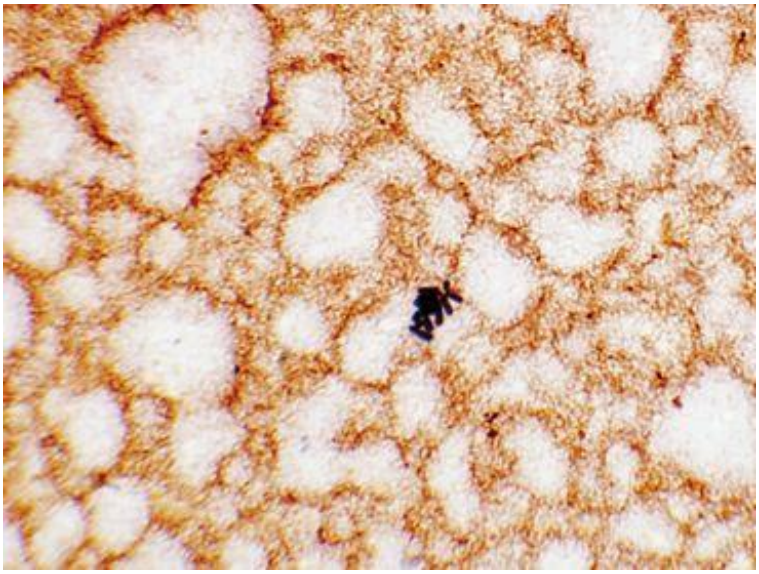


Figura 26-1 *Corynebacterium* spp. isolado de hemoculturas e visualizado pela coloração de Gram.

Corinebactérias são ubíquas em vegetais e animais e normalmente colonizam a pele, trato respiratório superior, trato gastrointestinal e trato geniturinário de humanos. Embora todas as espécies do gênero atuem como patógenos oportunistas, relativamente poucas espécies são capazes de causar doenças em humanos (Tab. 26-1) . ***Corynebacterium diphtheriae***, o agente etiológico da **difteria**, é a espécie mais conhecida.

Tabela 26-1 Espécies do Gênero *Corynebacterium* Associadas a Doenças Humanas

Organismo	Doenças
C. diphtheriae	Difteria (respiratória, cutânea);faringite e endocardite (amostras atoxinogênicas)

C. jeikeium (grupo JK)	Septicemia, endocardite, infecções de feridas, infecções decorrentes da presença de corpos estranhos (cateter, sistema de drenagem, prótese)
C. urealyticum	Infecções do trato urinário (incluindo pielonefrite e cistite alcalina com incrustração), septicemia, endocardite, infecções de feridas
C. amycolatum	Infecções de feridas, infecções decorrentes da presença de corpos estranhos, septicemia, infecções do trato urinário, infecções do trato respiratório
C. pseudotuberculosis	Linfadenite, linfangite ulcerativa, abscessos
C. ulcerans	Difteria respiratória

Vários outros gêneros de microrganismos corineformes já foram descritos. Quatro gêneros relacionados com patologias humanas (*Arcanobacterium, Brevibacterium, Rothia, Tropheryma*) estão descritos resumidamente no final deste capítulo.

Corynebacterium difhteriae (Quadro 26-2)

Estrutura e Fisiologia

A espécie *C. diphtheriae* é formada por bacilos pleomórficos que se coram irregularmente (0,3 a 0,8 × 1,0 a 8,0 μm). Granulações metacromáticos podem ser observadas nas células bacterianas coradas com azul de metileno. Os microrganismos apresentam colônias grandes, contendo 1 a 3mm de diâmetro, quando cultivados por uma noite em meio agar sangue. Meios seletivos e diferenciais podem ser utilizados para o isolamento de *C. diphtheriae*, a partir de espécimes clínicos contaminados com outras espécies bacterianas, como em materiais obtidos da faringe. A espécie *C. diphtheriae* é dividida em quatro biotipos diferentes de acordo com a morfologia colonial bacteriana e algumas propriedades bioquímicas. Os biotipos são denominados: *belfanti, gravis, intermedius* e *mitis*. A maioria dos casos de difteria descrito na literatura foi causada pelos biotipos ***gravis*** e ***mitis***, sendo os biotipos *intermedius* e *belfanti* raramente associados à doença.

Quadro 26-2 Resumo: *Corynebacterium diphtheriae*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram positivos pleomórficos

O principal fator de virulência é a toxina diftérica, uma exotoxina do tipo A-B; inibe a síntese de proteínas

Agente etiológico da difteria: formas respiratória e cutânea

Epidemiologia

Distribuição mundial mantida em portadores assintomáticos e pacientes infectados

Homem é o único reservatório conhecido e portador do bacilo na orofaringe ou na pele

Disseminação pessoa-pessoa pela exposição a gotículas de secreção respiratória ou de contato com a pele

Doença observada em indivíduos não vacinados que residem em aglomerados urbanos e em crianças ou adultos parcialmente imunizados

Difteria é incomum nos Estados Unidos

Diagnóstico

Microscopia não é específica; grânulos metacromáticos são observados em *C. diphtheriae* e em outras corinebactérias

Cultura deve ser realizada em meios não seletivos (agar sangue) e seletivos (agar cistina-telurito, meio de Tinsdale, agar colistina-ácido nalidíxico)

Identificação presuntiva de *C. diphtheriae* pode ser baseada na presença de cisteinase e ausência de pirazinamidase; identificação definitiva por testes bioquímicos ou sequenciamento de genes espécie-específicos

Demonstração da exotoxina é realizada pela reação da polimerase em cadeia ou teste de Elek

Tratamento, Prevenção e Controle

Infecções tratadas com antitoxina diftérica para neutralizar a exotoxina; penicilina ou eritromicina para eliminar *C. diphtheriae* e parar a produção de toxina; e imunização com toxoide diftérico de pacientes convalescentes para estimular a produção de anticorpos protetores

Administração da vacina diftérica e doses de reforço em populações suscetíveis

Patogênese e Imunidade

A **toxina diftérica** é o principal fator de virulência de *C. diphtheriae*. Esta exotoxina é produzida no local da infecção e se dissemina pela corrente sanguínea, produzindo os sinais sistêmicos da difteria. O microrganismo não precisa entrar na corrente sanguínea para causar a doença.

O gene *tox* que codifica a exotoxina diftérica é introduzido nas amostras de *C. diphtheriae* por um bacteriófago lisogênico (**fago-**β). Duas etapas são necessárias para que o produto gênico ativo seja secretado: (1) clivagem proteolítica da sequência líder da toxina proteica secretada pela célula bacteriana; e (2) clivagem da molécula de toxina em dois polipeptídeos (A e B) que permanecem unidos por uma ponte dissulfeto. Esta proteína de 58.300 Da é um exemplo da clássica **exotoxina do tipo A-B**.

A molécula de toxina apresenta três regiões funcionais: a **região de ligação com o receptor**, a **região de translocação**, ambas localizadas na subunidade B, e a **região catalítica** localizada na subunidade A. O receptor para a toxina é o **fator de crescimento epidérmico ligante de heparina** localizado na superfície de diferentes células eucarióticas, especialmente nas células cardíacas e nervosas. A presença destes receptores explica os sintomas neurológicos e cardíacos observados em pacientes com quadros de difteria grave. Depois que a toxina se liga à célula hospedeira, a região de translocação é inserida na membrana endossomal, facilitando a internalização da região catalítica para o citosol. A subunidade A bloqueia a síntese de proteínas da célula hospedeira pela inativação do **fator de alongamento 2 (EF-2)**, um fator envolvido na movimentação das cadeias peptídicas originadas nos ribossomos. O mecanismo de reposição (*turnover*) de EF-2 é muito lento e há disponibilidade de aproximadamente uma molécula para cada ribossomo. Estima-se que uma única molécula de toxina seja capaz de inativar todo o conteúdo de EF-2, impedindo completamente a síntese de proteínas da célula hospedeira-alvo. A síntese da toxina é regulada por um elemento codificado cromossomialmente, o **repressor da toxina diftérica (DTxR)**. Esta proteína é ativada na presença de altas concentrações de ferro e é capaz de se ligar ao operador do gene da toxina, impedindo a produção da mesma.

Epidemiologia

A difteria é uma doença que ocorre em todo o mundo, particularmente em áreas urbanas, pobres, superpovoadas e com níveis inadequados de proteção adquirida pela vacinação. O maior surto de difteria ocorrido no final do século XX surgiu nos países que faziam parte da antiga União Soviética. No ano de 1994 foram documentados aproximadamente 48.000 casos e 1.746 óbitos. Indivíduos imunizados (pela exposição ao *C. diphtheriae* ou pela vacinação), que se tornam **portadores assintomáticos** na orofaringe ou na pele, são os responsáveis pela manutenção do patógeno na população. A transmissão pessoa-pessoa se dá pela inalação de gotículas de secreção respiratória ou do contato com a pele. O **homem** é o **único reservatório conhecido** para o patógeno.

A difteria é raramente observada nos Estados Unidos devido à existência de um programa nacional de imunização. O fato de não terem ocorrido casos de difteria a partir do ano de 2003, em contraste ao observado no ano de 1921 quando foram notificados mais de 200.000 casos, enfatiza a eficácia do programa de vacinação. A difteria é originalmente uma doença pediátrica. Porém, vem sendo observada uma incidência maior em indivíduos de faixas etárias mais altas, que residem em áreas que apresentam programas ativos de imunização infantil. Embora casos de infecções de pele com amostras toxinogênicas (difteria cutânea) ocorram nos Estados Unidos, a incidência é desconhecida, uma vez que esta doença não é considerada de notificação obrigatória.

Doenças Clínicas

As manifestações clínicas da difteria são determinadas pelo (1) sítio da infecção; (2) nível de imunidade do paciente; e (3) virulência do microrganismo. A exposição ao *C. diphtheriae* pode resultar em colonização assintomática em pessoas completamente imunizadas, doença respiratória branda em pacientes parcialmente imunizados, ou em uma doença fatal, às vezes fulminante, em indivíduos não imunizados (Quadro 26-3).

Quadro 26-3 Corynebacterium diphtheriae: Resumos Clínicos

Difteria respiratória: início súbito com quadro de faringite exsudativa, dor de garganta, febre baixa e mal-estar; presença de espessa pseudomembrana na faringe; nos casos graves as complicações cardíacas e neurológicas são as mais preocupantes

Difteria cutânea: uma pápula pode se desenvolver na pele, progredindo para uma lesão ulcerada crônica; podem ocorrer sinais sistêmicos

Difteria Respiratória (Caso Clínico 26-1)

Os sintomas da difteria envolvendo o trato respiratório desenvolvem-se após um período de 2 a 4 dias de incubação. Os microrganismos multiplicam-se nas células epiteliais da faringe ou superfícies adjacentes e, inicialmente, causam danos localizados como resultado da atividade da exotoxina. O início é repentino, com mal-estar, dor de garganta, **faringite exudativa** e febre baixa. O exudato evolui para uma espessa **pseudomembrana**, composta de bactérias, linfócitos, células plasmáticas, fibrin, e células mortas, que podem recobrir as tonsilas, úvula e palato, e pode se estender para a nasofaringe ou para a laringe (Fig. 26-2). A pseudomembrana se adere firmemente ao tecido subjacente e fica difícil a remoção sem provocar sangramento do tecido (exclusivamente na difteria). Assim que o paciente se restabelece, após aproximadamente uma semana do curso da doença, a membrana se desprende e é expectorada. Complicações sistêmicas em pacientes com infecção severa envolvem primariamente o coração e sistema nervoso. Na maioria dos pacientes com difteria as evidências de **miocardite** podem ser detectadas tipicamente entre 1 a 2 semanas de doença, quando começam a aparecer sinais de melhora da faringe. Os sintomas podem se apresentar gradualmente ou de forma aguda, progredindo para um quadro de doença grave que pode culminar em deficiência cardíaca, arritmias e morte. A **neurotoxicidade** é proporcional à gravidade da doença primária e é influenciada pela imunidade do paciente. A maioria dos pacientes com doença primária grave desenvolve neuropatia, inicialmente localizada no palato mole e faringe, e mais tarde, envolvendo o oculomotor e causando paralisia ciliar com progressão para neurite periférica.

Caso Clínico 26-1 Difteria Respiratória

Lurie et al. (J Am Med Assoc 291:937-938, 2004) relataram o último caso de difteria respiratória ocorrido nos Estados Unidos. Um homem de 63 anos de idade e não vacinado, apresentou dor de garganta durante a semana que viajava pela zona rural do Haiti. Dois dias após ter retornado ao seu lar na Pensilvânia, visitou um hospital local com queixas de dor de garganta e dificultade de deglutição. Apesar de ter sido submetido ao tratamento com antibióticos orais, o paciente retornou após 2 dias com calafrios, dificuldade de deglutição, dificuldade respiratória, náuseas e vômitos. O paciente apresentou redução dos sons respiratórios no pulmão esquerdo e os exames radiográficos confirmaram a presença de infiltrado pulmonar e dilatação da epiglote. A laringoscopia demonstrou exudato amarelado nas tonsilas, faringe posterior e no palato mole. O paciente foi encaminhado para a unidade de tratamento intensivo e tratado com azitromicina, ceftriaxona, nafcilina e esteroides. Passados 4 dias, o paciente tornou-se hipotenso e com febre baixa. As culturas foram negativas para *Corynebacterium diphtheriae*. Pelo 8° dia, uma radiografia toráxica detectou infiltrado nas bases dos pulmões e em um deles foi observado um exsudato esbranquiçado, conforme a pseudomembrana diftérica, cobrindo toda a superfície da glote. As culturas permaneceram negativas para *C. diphtheriae*, entretanto, a reação de PCR para a detecção do gene que codifica a exotoxina diftérica foi positiva. Apesar da terapia agressiva, o paciente continuou piorando e, no 17° dia de hospitalização, apresentou complicações cardíacas e foi a óbito. Este caso ilustra a apresentação clássica da difteria respiratória grave em paciente não imunizado, assim como as dificuldades que a maioria dos laboratórios enfrenta para o isolamento e cultura deste microrganismo.

Figura 26-2 Faringe de paciente do sexo feminino com 39 anos de idade apresentando quadro de difteria confirmada bacteriologicamente. Fotografia obtida 4 dias após o início de febre, mal-estar e dor de garganta. A hemorragia causada pela remoção da pseudomembrana com *swab* aparece como uma área escura à esquerda.

(Mandell G, Bennett J, Dolin R: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Churchill Livingstone, 2005.)

Difteria Cutânea

A difteria cutânea é adquirida pelo contato da pele com outra pessoa infectada. O microrganismo coloniza a pele e ganha acesso ao tecido subcutâneo através de fissuras na pele. Uma pápula se desenvolve inicialmente e, então, evolui para uma **úlcera crônica que não cicatriza** e que, algumas vezes, é coberta por uma membrana acinzentada. *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus pyogenes* também são frequentemente encontrados nestas feridas.

Diagnóstico Laboratorial

Como os resultados laboratoriais não ficam disponíveis em menos de uma semana, o tratamento inicial de paciente com difteria é instituído com base no diagnóstico clínico e não nos resultados laboratoriais.

Microscopia

Os resultados dos exames microscópicos de materiais clínicos não são confiáveis. A presença de grânulos metacromáticos em bactérias coradas com azul de metileno tem sido documentada, mas não é uma característica exclusiva de *C. diphtheriae* e a interpretação do esfregaço requer conhecimento técnico especializado.

Cultura

Os espécimes clínicos obtidos para o isolamento de *C. diphtheriae* devem ser coletados tanto da nasofaringe quanto da garganta e devem ser inoculados primeiro em um meio de cultura sólido, não seletivo e enriquecido com sangue. Depois, em meio seletivo (p. ex., agar sangue cistina-telurito [CTBA]), meio de Tinsdale ou agar colistina-ácido nalidíxico [CNA]). O telurito é reduzido pelo *C. diphtheriae* produzindo colônias características de coloração acinzentada ou negra, além de inibir o crescimento da maioria das bactérias colonizadoras do trato respiratório superior e dos bacilos Gram negativos. A degradação de cisteína pela atividade da cisteinase de *C. diphtheriae* produz um halo marrom em torno das colônias. O meio CTBA pode ser mantido estocado por tempo prolongado (prático para culturas que não são realizadas frequentemente), porém inibe o crescimento de algumas amostras de *C. diphtheriae*. O meio de Tinsdale é considerado o melhor meio de isolamento de *C. diphtheriae* a partir de espécimes clínicos, apesar do período de validade das placas serem curtos e necessitar da adição de soro de cavalo (que dificulta o uso pela maioria dos laboratórios). O meio CNA tem mostrado ser uma boa alternativa comumente utilizada em laboratórios clínicos. Independente dos meios de cultura empregados, todos os isolados clínicos semelhantes ao *C. diphtheriae* devem ser identificados por testes bioquímicos e a presença da exotoxina diftérica também deve ser confirmada.

Identificação

A identificação presuntiva de *C. diphtheriae* pode ser baseada na presença de cisteinase e na ausência de pirazinamidase (duas reações enzimáticas que podem ser rapidamente detectadas). Análise bioquímica mais extensa ou o sequenciamento de genes espécie-específicos são requeridos para a identificação da espécie.

Teste de Toxinogenicidade

Todos os isolados clínicos de *C. diphtheriae* devem ser analisados quanto à capacidade de produção de exotoxina. Historicamente, nesta avaliação têm sido realizados um teste de imunodifusão *in vitro* (**teste de Elek**) e um teste de neutralização da toxina diftérica em culturas de células, utilizando antitoxina específica. Atualmente, a maioria dos laboratórios tem utilizado o teste de Elek com modificações. **Uma técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para a amplificação de genes** específicos foi desenvolvida pelo CDC

(*Centers for Disease Control and Prevention*) para ser aplicada como método alternativo de detecção do gene codificador da exotoxina. O PCR é capaz de detectar a presença do gene *tox* em isolados diretamente de amostras clínicas (p. ex., material da pseudomembrana diftérica coletado com *swabs* ou material coletado de biópsia). Embora o PCR permita um diagnóstico rápido e específico, pode também fornecer resultados positivos para amostras que são carreadoras do gene *tox*, mas que não estão produzindo a toxina (presumivelmente devido à expressão do **repressor da toxina diftérica**). As amostras atoxinogênicas de *C. diphtheriae* não devem ser ignoradas, uma vez que podem estar associadas com quadros clínicos graves, incluindo septicemia, endocardite, artrite séptica, osteomielite e formação de abscessos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O aspecto mais importante do tratamento da difteria é a administração da **antitoxina diftérica** o mais breve possível para neutralizar a exotoxina antes que ocorra a ligação da mesma com a célula do hospedeiro. A morte celular torna-se inevitável após a toxina ter sido internalizada pela célula hospedeira. A antibioticoterapia com **penicilina ou eritromicina** também é utilizada para matar o bacilo diftérico e parar com a produção de toxina. No tratamento também são importantes o repouso, o isolamento para prevenir a transmissão secundária e a manutenção de uma abertura nas vias aéreas dos pacientes com difteria respiratória. A **imunização** com o toxoide diftérico é necessária após a recuperação dos pacientes, uma vez que a maioria dos indivíduos é incapaz de produzir anticorpos protetores após uma infecção natural.

Os sintomas da difteria podem ser prevenidos pela imunização ativa dos indivíduos com o toxoide diftérico. O toxoide diftérico, imunogênico e desprovido de toxicidade, é obtido pelo tratamento da toxina com formalina. Inicialmente, as crianças recebem cinco injeções desta preparação, juntamente com antígenos do tétano e de pertussis (**vacina DTP**), nas idades de 2, 4 e 6 meses, 15 a 18 meses e de 4 a 6 anos. Após este período, é recomendado a cada 10 anos o reforço vacinal do toxoide diftérico combinado com o toxoide tetânico. Anticorpos séricos antitoxina diftérica podem ser avaliados pelo teste cutâneo realizado em coelhos ou pelo teste de neutralização em células Vero.

Indivíduos que mantiveram contato direto com pacientes com difteria confirmada apresentam um maior risco de contrair a doença. Portanto, para este grupo de contactantes, deve ser realizada uma pesquisa de *C. diphtheriae* em culturas obtidas de espécimes clínicos oriundos da nasofaringe. A profilaxia antimicrobiana com penicilina ou eritromicina também deve ser imediatamente iniciada. Qualquer indivíduo contactante que não tenha completado a série de imunização contra a difteria ou que não tenha recebido uma dose de reforço nos últimos 5 anos deve receber dose reforço do toxoide diftérico. Indivíduos que foram expostos à difteria cutânea devem ser submetidos ao mesmo tratamento dispensado àqueles que foram expostos à difteria respiratória. Não é necessário fazer a profilaxia em indivíduos que tiveram contato direto com pacientes que apresentaram infecções respiratórias ou cutâneas causadas por amostras atoxinogênicas.

Outras Espécies de Corynebacterium

Diversas espécies do gênero *Corynebacterium* são encontradas fazendo parte da flora normal de humanos além de serem capazes de causar doenças. As espécies mais comuns estão listadas na Tabela 26-1 e sumarizadas no Quadro 26-4

Quadro 26-4 Resumo: Outras Espécies do Gênero *Corynebacterium*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram positivos pleomórficos

Algumas espécies de relevância clínica requerem a presença de lipídios, tais como Tween 80 para obterem um bom crescimento (p. ex., *C. jeikeium, C. urealyticum*)

Exotoxina diftérica do tipo A-B pode ser produzida pelo *C. ulcerans* e *C. pseudotuberculosis*

Patógenos do trato urinário são produtores de urease (p. ex., *C. urealyticum*)

Muitas espécies são capazes de aderir a corpos estranhos (p. ex., cateter, sistema de drenagem, próteses)

Algumas espécies são resistentes a múltiplos antibióticos (p. ex., *C. jeikeium, C. urealyticum, C. amycolatum*)

Doenças incluem septicemia, endocardite, infecções de feridas, infecções causadas por corpos estranhos, infecções do trato urinário, infecções respiratórias, incluindo a difteria

Epidemiologia

A maioria das infecções é de origem endógena (produzidas por espécies que fazem parte da microbiota normal da pele e das membranas mucosas do hospedeiro)

Diagnóstico

Cultivos em meios não seletivos são confiáveis, embora o crescimento dos microrganismos possa ser lento e o meios de cultura possam necessitar de suplementação com lipídios

Tratamento, Prevenção e Controle

Tratamento com antibióticos eficazes para eliminar o microrganismo.

Remoção de corpos estranhos

Corynebacterium jeikeium (Fig. 26-3) é um reconhecido patógeno oportunista que acomete principalmente pacientes imunocomprometidos que apresentam doenças hematológicas ou fazem uso de cateteres intravasculares. A presença de *C. jeikeium* é incomum em indivíduos sadios, mas podem ser encontrados colonizando a pele de 40% dos pacientes hospitalizados, independente de suas condições imunológicas. Dentre os fatores predisponentes para a doença estão incluídos a hospitalização prolongada, granulocitopenia, terapia antimicrobiana, quimioterapia prévia ou simultânea e a presença de cateter intravenoso. Uma vez que a maioria das amostras de *C. jeikeium* é resistente a diversos antibióticos, a antibioticoterapia durante o período de hospitalização pode favorecer a colonização da pele por estes microrganismos. Posteriormente, *C. jeikeium* pode ganhar acesso a outros sítios anatômicos através de cateteres intravenosos e causar doenças em pacientes imunologicamente comprometidos.

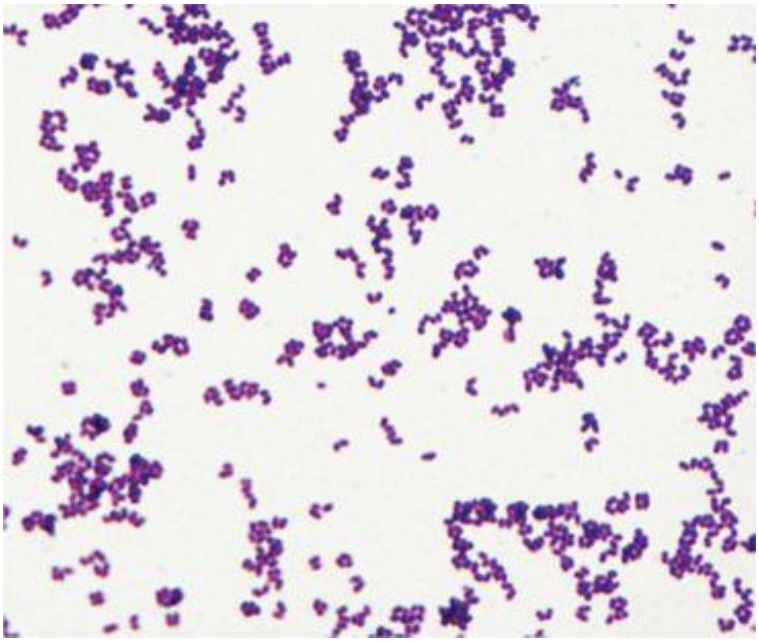


Figura 26-3 *Corynebacterium jeikeium* cultivado em laboratório e visualizado pela coloração de Gram. Observe as pequenas formas cocobacilares

Corynebacterium urealyticum não é uma espécie comumente isolada de pessoas sadias, apesar de ser um importante patógeno do trato urinário. Como o próprio nome sugere, *C. urealyticum*, é um grande produtor de urease. Esta espécie é capaz de produzir uma quantidade suficiente de urease para tornar a urina alcalina e favorecer a formação de **cálculos de estruvite** ou **pedras nos rins**. Os fatores de risco para infecções causadas por *C. urealyticum* incluem imunossupressão, doenças de base do trato genitourinário, procedimentos urológicos prévios e antibioticoterapia prévia. Embora *C. urealyticum* seja a espécie mais comum, existem outras corinebactérias produtoras de urease que também são capazes de causar infecções do trato urinário.

C. amycolatum reside na superfície da pele, mas não na orofaringe. Embora esta espécie seja a mais isolada a partir de espécimes clínicos, sua importância tem sido subestimada, devido ao fato das amostras de *C. amycolatum* serem frequentemente identificadas

erroneamente. Assim como *C. jeikeium* e *C. urealyticum*, esta espécie é resistente a vários antibióticos e é considerada um importante patógeno oportunista de infecções relacionadas a corpos estranhos, infecções de feridas, do trato urinário e das vias áereas inferiores.

Corynebacterium pseudotuberculosis e ***Corynebacterium ulcerans*** são intimamente relacionados com *C. diphtheriae* e podem carrear o gene *tox*, que codifica a toxina diftérica. Embora *C. ulcerans* possa causar doença idêntica à difteria, as infecções humanas causadas por *C. pseudotuberculosis* são raramente observadas.

Diversas outras espécies de corinebactérias têm sido associadas com infecções oportunistas. Estas bactérias estão comumente presentes na pele e nas superfícies das mucosas. Dessa forma, o isolamento a partir de espécimes clínicos pode ser um dado relevante ou pode simplesmente representar contaminação do espécime clínico durante os procedimentos de coleta. A identificação da espécie parece não ter importância para este grupo de corinebactérias.

O tratamento de infecções causadas por corinebactérias pode ser problemático. *C. jeikeium, C. urealyticum* e *C. amycolatum* são tipicamente resistentes a múltiplos antibióticos e os pacientes infectados são usualmente tratados com vancomicina. As demais espécies tendem a apresentar uma maior suscetibilidade aos antibióticos, entretanto, devem ser submetidos a testes *in vitro* antes que um esquema terapêutico seja preconizado.

Outros Gêneros Corineformes

Outros gêneros de bacilos Gram positivos irregulares podem ser encontrados colonizando humanos e causando doenças (Tab. 26-2) . ***Arcanobacterium*** é um dos gêneros de corineformes mais comumente associados a doenças humanas. Estes microrganismos podem causar faringite com quadro exantemático semelhante à escarlatina observada nas infecções estreptocócicas, infecções polimicrobianas de feridas e (mais raramente) infecções sistêmicas, como septicemia e endocardite. As infecções podem ser tratadas com penicilina ou eritromicina.

Tabela 26-2 Bacilos Gram Positivos Corineformes Pouco Comuns Associados a Doenças Humanas

Organismo	Doença
Arcanobacterium	Faringite, celulite, infecções de feridas, formação de abscessos, septicemia, endocardite

Brevibacterium	Septicemia, osteomielite, infecções decorrentes da presença de corpos estranhos (cateter, sistema de drenagem, prótese)
Rothia	Endocardite, infecções decorrentes da presença de corpos estranhos
Tropheryma	Doença de Whipple

Brevibacterium são encontrados colonizando as superfícies cutâneas e quando crescidos em meios de cultura produzem odor de queijo. Estes microrganismos têm sido responsáveis por odores fétidos nos pés de alguns indivíduos. Os quadros clínicos de maior relevância atribuídos ao gênero *Brevibacterium* são septicemia, osteomielite e infecções relacionadas à presença de corpos estranhos. Em cultura, estes microrganismos apresentam crescimento rápido, aparecendo inicialmente como bacilos curtos. Formas cocoides são observadas em culturas mais antigas (o que pode prejudicar a identificação do microrganismo). O tratamento é complicado devido às amostras resistentes aos antibióticos b-lactâmicos, eritromicina, clindamicina e ciprofloxacina. O uso de vancomicina, tetraciclina ou gentamicina tem se mostrado efetivo.

Rothia mucilaginosa é o membro mais importante do gênero e é encontrado colonizando a orofaringe. Duas características merecem destaque: esta espécie exibe predominantemente formas cocoides em vez de formas bacilares e as colônias são mucoides e grudentas. O fato desta espécie ser capaz de infectar valvas cardíacas lesadas e causar endocardite sugere que esta propriedade adesiva seja expressa *in vivo*. Os perfis de resistência aos antimicrobianos de amostras de *R. mucilaginosa* são imprevisíveis e justificam a realização de testes de suscetibilidade *in vitro*.

Tropheryma whippelii é o agente etiológico da **doença de Whipple**, uma enfermidade caracterizada pela presença de artralgia, diarreia, dores abdominais, perda de peso, linfadenopatia, febre e aumento da pigmentação da pele. Historicamente, o diagnóstico desta doença era baseado nas características clínicas e na presença de inclusões periódicas ácido-Schiff positivas, em macrófagos espumosos infiltrados na lâmina própria do intestino delgado. Embora espécimes clínicos apresentassem culturas *in vitro* negativas, a etiologia bacteriana da infecção foi confirmada com o uso de técnicas moleculares. Os microrganismos são capazes de exibir crescimento lento em culturas de células, entretanto, culturas bacterianas realizadas na ausência de células eucarióticas ainda não foram possíveis. Atualmente, a confirmação laboratorial da doença clínica é realizada com a amplificação de fragmentos de DNA espécie-específicos, utilizando a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). O tratamento recomendado atualmente é de duas semanas de penicilina e estreptomicina parenteral, seguido de sulfametoxazol-trimetoprim oral durante um ano ou mais.

Estudo de Caso e Questões

Um indivíduo do sexo masculino, com 78 anos de idade e histórico de hipertensão, foi hospitalizado em decorrência de uma forte dor de cabeça, com duração de 4 horas. Após diagnosticadas hemorragia subaracnoide e hidrocefalia, foi necessária a colocação de um shunt ventrículo atrial esquerdo. Uma semana após o procedimento, o paciente passou a apresentar febre. *C. jeikeium* foi isolado nas hemoculturas e na cultura subsequente do fluido coletado do shunt.

1. Quais são os fatores de risco associados com as infecções causadas pelo *C. jeikeium*?

1 . *C. jeikeium* é um patógeno oportunista que acomete principalmente os pacientes imunocomprometidos que apresentam doenças hematológicas ou fazem uso de cateteres intravasculares. Este organismo pode ganhar acesso pela pele ou mucosas chegando até o sangue, onde, então, estabelecem a doença.

2. Qual o agente antimicrobiano que deve ser utilizado no tratamento de infecções

relacionadas com este microrganismo?

2. Esta espécie de *Corynebacterium* é relativamente resistente aos antibióticos. O antibiótico mais confiável para o tratamento de infecções graves causadas por este organismo é a vancomicina.

3. Cite duas outras espécies do gênero *Corynebacterium* que são frequentemente resistentes a múltiplos antibióticos. Quais as doenças que são associadas com estes microrganismos?

3. Duas espécies de *Corynebacterium* resistentes aos antibióticos são *C. jeikeium* e *C. urealyticum*, importantes patógenos do trato urinário.

4. Explique os mecanismos de síntese e modo de ação da exotoxina diftérica.

4. As cepas de *Corynebacterium diphtheriae* responsáveis pela difteria são infectadas por um bacteriófago lisogênico que carrega o gene *tox*. Este gene codifica a exotoxina diftérica, responsável pela doença. Depois da transcrição do gene, a sequência líder é clivada pela toxina proteica e secretada pela célula bacteriana. A molécula de toxina é subsequentemente clivada em dois polipeptídeos (A e B) que permanecem unidos por uma ponte dissulfeto (esta proteína é um exemplo clássico de uma exotoxina do tipo A-B). A subunidade B da exotoxina adere-se a receptores presentes na superfície de várias células eucarióticas (incluindo células cardíacas e nervosas) e a sequência de translocação é inserida na membrana endossomal, facilitando a internalização da região catalítica da subunidade A no citosol. A subunidade A então bloqueia a síntese de proteínas da célula hospedeira pela inativação do fator de alongamento 2 (EF-2), um fator envolvido na movimentação das cadeias peptídicas originadas nos ribossomos.

Bibliografia

Coyle MA, Lipsky BA. Coryneform bacteria in infectious diseases: Clinical and laboratory aspects. *Clin Microbiol Rev*. 1990;3:227-246.

Esteban J, et al. Microbiological characterization and clinical significance of Corynebacterium amycolatum strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999;18:518-521.

Fenollar F, et al. Whipple's disease. *N Engl J Med*. 2007;356:55-66.

Funke G, et al. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10:125-159.

George MJ. Clinical significance and characterization of Corynebacterium species. *Clin Microbiol Newsl*. 1995;17:177-180.

Lipsky BA, et al. Infections caused by nondiphtheria corynebacteria. *Rev Infect Dis*. 1982;4:1220-1235.

McNeil M, Brown J. The medically important aerobic actinomycetes: Epidemiology and microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 1994;7:357-417.

Pascual C, et al. Phylogenetic analysis of the genus Corynebacterium based on 16S rRNA gene sequences. *Int J Syst Bacteriol*. 1995;45:724-728.

Popovic T, et al. Molecular epidemiology of diphtheria in Russia, 1985- 1994. *J Infect Dis*. 1996;174:1064-1072.

Soriano F, et al. Urinary tract infection caused by Corynebacterium group D2: Report of 82 cases and review. *Rev Infect Dis*. 1990;12:1019-1034.

27 Nocardia e Bactérias Relacionadas

Os gêneros discutidos neste capítulo (Quadro 27-1) compreendem os bacilos Gram positivos aeróbios que são fracamente álcool-acidorresistentes (*i.e.*, resistem a procedimentos de descoloração com soluções ácidas fracas) em decorrência da presença de paredes celulares, que contêm ácidos micólicos de cadeias curtas. O grupo de bactérias álcool-acidorresistentes, que apresentam paredes celulares com ácidos micólicos de cadeias longas, inclui o gênero *Mycobacterium* e será abordado a seguir. O amplo espectro de infecções causadas pelos microrganismos apresentados neste capítulo inclui: colonização sem importância clínica (diversos gêneros), doenças pulmonares (*Nocardia, Rhodococcus*), infecções sistêmicas (*Nocardia, Rhodococcus*), mycetoma (*Nocardia*) e infecções oportunistas (*Nocardia, Rhodococcus, Gordonia e Tsukamurella*) (Tab. 27-1).

Quadro 27-1 Bacilos Gram Positivos Fracamente Álcool-acidorresistentes

Organismos	Origem Histórica
Nocardia	Nome concedido em homenagem ao veterinário francês Edmond *Nocard*
Rhodococcus	*Rhodo*, “rosa” ou “de cor vermelha”; *coccus*, “grão ou baga” (coco de cor vermelha)
Gordonia	Nome concedido em homenagem à microbiologista americana Ruth *Gordon*
Tsukamurella	Homenagem ao microbiologista japonês Michio *Tsukamura*, que descreveu a primeira amostra pertencente a esse gênero

Tabela 27-1 Doenças Causadas por Determinados Actinomicetos

Organismo	Doenças	Frequência
Nocardia	Doenças pulmonares (bronquite, pneumonia, abscessos pulmonares); infecções cutâneas primárias ou secundárias (p. ex., micetomas, infecções linfocutâneas, celulites, abscessos subcutâneos); infecções secundárias do SNC (p. ex., meningites, abscessos cerebrais)	Comum
Rhodococcus	Doenças pulmonares (bronquite, abscessos pulmonares); doenças disseminadas (p. ex., meningites, pericardites); infecções oportunistas (p. ex., infecções de feridas, peritonites, endoftalmites traumáticas)	Incomum
Gordonia	Infecções oportunistas	Raro
Tsukamurella	Infecções oportunistas	Raro

Nocardia (Quadro 27-2)

Fisiologia e Estrutura

As nocardias são bacilos aeróbios estritos que formam estruturas filamentosas ramificadas nos tecidos e nos meios de cultura. Estas formas filamentosas são semelhantes às hifas produzidas por fungos filamentosos. Apesar de apresentarem as paredes celulares iguais às dos Gram positivos e outras estruturas observadas apenas em bactérias, no passado as nocardias eram consideradas fungos. Normalmente, estes microrganismos coram-se fracamente pelo método de Gram e apresentam células bacterianas Gram negativas com grânulos intracelulares Gram positivos (Fig. 27-1). Estas propriedades morfotintoriais são decorrentes da semelhança observada entre as paredes celulares das nocardias e das micobactérias (Cap. 28), contendo ácido 10-metil-esteárico (ácido **tuberculoesteárico**), ácido *meso*-diaminopimélico (*meso*-DAP), arabinose, galactose e ácidos micólicos. O comprimento das cadeias de ácidos micólicos das nocardias (50 a 62 átomos de carbono) é menor do que os das micobactérias (70 a 90 átomos de carbono). Esta diferença pode explicar por que os dois gêneros são álcool-acidorresistentes, mas as nocardias são descritas como “fracamente álcool-acidorresistentes ”; ou seja, uma solução fraca de ácido clorídrico deve ser usada no processo de descoloração para demonstrar a propriedade de álcool-acidorresistência das nocardias (Fig. 27-2). A álcool-acidorresistência também é uma característica útil para distinguir os microrganismos do gênero *Nocardia* entre outros morfologicamente similares, como *Actinomyces* (Cap. 40). A maioria das amostras de nocardias apresenta trealose ligada a duas moléculas de ácido micólico (6,6′- dimicolato de trealose; fator corda). O fator corda é um importante fator de virulência que facilita a sobrevivência bacteriana intracelular (Divisão de Patogênese e Imunidade).

Quadro 27-2 Sumário: *Nocardia*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos filamentosos, Gram positivos e álcool-acidorresistentes; parede celular com ácido micólico

Aeróbios estritos capazes de crescerem na maioria dos meios não seletivos e meios para fungos e micobactérias; entretanto, pode ser necessário um tempo prolongado de incubação (7 dias ou mais)

Virulência relacionada com a capacidade de sobrevivência em ambiente intracelular

Catalase e superóxido dismutase: inativam espécies 4 reativas de oxigênio 4 (p. ex., peróxido de hidrogênio e superóxido)

Fator corda: impede a morte intracelular em fagócitos pela interferência na fusão fagossoma-lisossoma

Doença primária mais comum: broncopulmonar (p. ex., doença cavitária) ou infecção cutânea primária (p. ex., micetoma, infecção linfocutânea, celulite, abscesso subcutâneo)

Disseminação mais frequente para o sistema nervoso central (p. ex., abscesso cerebral) ou pele

Epidemiologia

Distribuição mundial em solos ricos em substâncias orgânicas

Infecções exógenas adquiridas por inalação (pulmonar) ou ação traumática (cutânea)

Patógeno oportunista, causando doenças mais frequentemente em pacientes imunocomprometidos com deficiências nas células T (receptores de transplantes, pacientes com malignidade, pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana, pacientes em tratamento com corticosteroides)

Diagnóstico

Microscopia é sensível e relativamente específica quando microrganismos ramificados e parcialmente álcool-acidorresistentes são observados

O cultivo é lento e requer até uma semana de incubação; meios seletivos (p. ex., agar BCYE) podem ser necessários para o isolamento de nocardias em culturas mistas

Identificação do gênero pode ser realizada por características morfológicas macroscópicas e microscópicas (ramificação, bacilos álcool-acidorresistentes formadores de colônias com hifas aéreas)

Identificação das espécies requer análise genômica para a maioria das amostras

Tratamento, Prevenção e Controle

Infecções são tratadas com antibióticos e com procedimentos apropriados para as feridas

Sulfametoxazol-trimetoprim é utilizado em casos de infecções localizadas; combinações de antibióticos como amicacina, e carbapenem ou cefalosporina de amplo espectro são empregados para doenças progressivas e graves; tratamento durante 6 semanas ou mais

Exposição não pode ser evitada devido à ubiquidade das nocardias

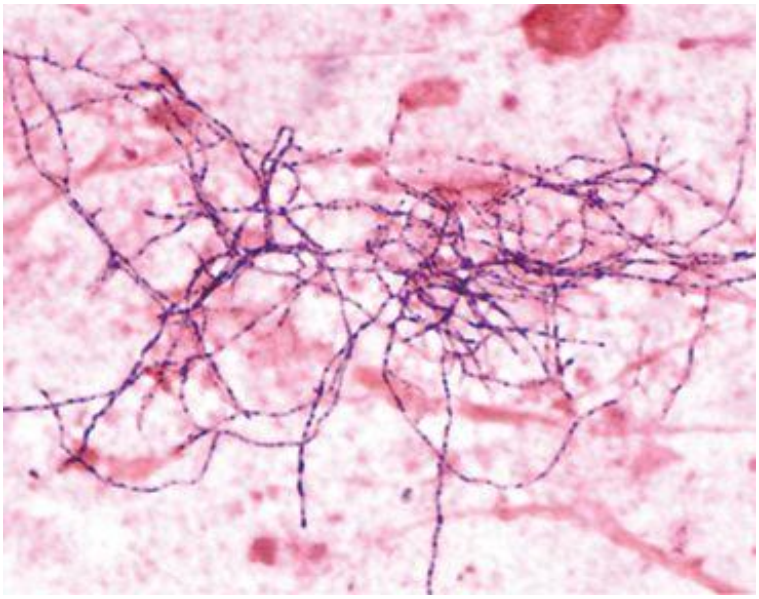


Figura 27-1 *Nocardia* spp. corada pelo método de Gram, isolada de amostra de escarro. Notar os filamentos granulosos delicados.

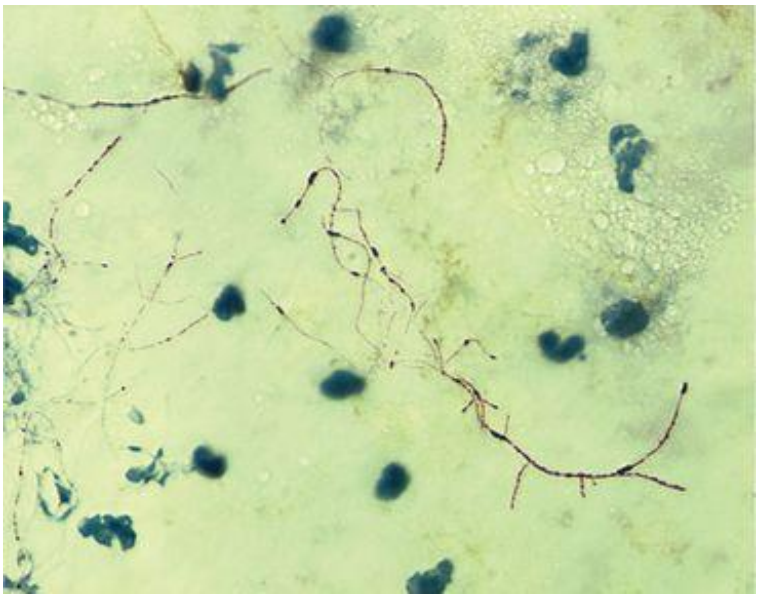


Figura 27-2 *Nocardia* spp. corada pela coloração álcool-acidorresistente, isolada de escarro. Em contraste do observado com as micobactérias, os membros do gênero *Nocardia* são incapazes de reter o corante uniformemente (“parcialmente álcool-acidorresistentes”)

As espécies de nocardias são catalase positivas, apresentam metabolismo oxidativo e capacidade de crescimento na maioria dos meios de cultura não seletivos, utilizados no isolamento de bactérias, micobactérias e fungos. Entretanto, são microrganismos com crescimento lento e necessitam de 3 a 5 dias de incubação para que as colônias possam ser observadas na superfície dos meios de cultura. O aspecto das colônias varia de seca a butirosa e a cor de branca a laranja (Fig. 27-3). Hifas aéreas (hifas que se desenvolvem na superfície das colônias) podem ser observadas quando as colônias são visualizadas em microscópio estereoscópico (Fig. 27-4). A presença concomitante de hifas aéreas e álcool-acidorresistência é exclusiva de *Nocardia* e pode ser utilizada como um teste rápido para a identificação presuntiva deste gênero.

Figura 27-3 Colônias laranja de *Nocardia*

Figura 27-4 Hifas aéreas de *Nocardia*

A classificação taxonômica do gênero ainda é problemática. Recentemente foi observado que a maioria dos microrganismos descritos na literatura foi identificada incorretamente. Historicamente, estes microrganismos foram classificados de acordo com a capacidade de metabolização de carboidratos, degradação de substratos diversos e perfis de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos. Só recentemente foram definidas relações taxonômicas corretas entre membros do gênero, com a utilização de técnicas de sequenciamento gênico e hibridização DNA-DNA. No período correspondente à publicação da última edição deste livro, eram conhecidas 31 espécies de nocardias. Quatro anos mais tarde, haviam sido descritas 78 espécies. Provavelmente, quando esta nova edição estiver sendo publicada, este número corresponderá a aproximadamente 100 espécies. Felizmente, a maioria das infecções é causada por um número relativamente pequeno de espécies e os procedimentos de identificação do gênero, aliados aos testes *in vitro* de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos são suficientes para o tratamento da maioria dos pacientes.

Patogênese e Imunidade

Microrganismos pertencentes ao gênero *Nocardia* causam **doenças broncopulmonares** em pacientes imunocomprometidos com frequente **disseminação hematogênica para o sistema nervoso central (SNC) ou para a pele**. Pacientes com deficiências de respostas das células T em decorrência de algumas doenças (p. ex., leucemia, síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]) ou de terapia com imunossupressores (p. ex., uso de corticoides em transplantes renais, cardíacos ou de medula óssea) apresentam um maior risco de desenvolver infecções causadas pelas nocardias. Doenças pulmonares localizadas crônicas podem ocorrer em pacientes imunocompetentes com quadros de bronquite, enfizema, asma, bronquiectasia e proteinose alveolar pulmonar. **Nocardioses cutâneas** podem ser apresentadas de quatro formas: micetoma, doença linfocutânea, infecção superficial da pele com formação de abscesso ou celulite e infecção cutânea secundária, decorrente de disseminação hematogênica a partir de um sítio pulmonar. ***Nocardia brasiliensis*** é a espécie mais comumente relacionada com quadros de **infecções cutâneas primárias** em pacientes imunocompetentes.

As doenças broncopulmonares desenvolvem-se após a colonização inicial do trato respiratório superior pela inalação e posterior aspiração das secreções da cavidade oral para as vias aéreas inferiores. **Nocardioses cutâneas primárias** desenvolvem-se após ação traumática externa e introdução de microrganismos nos tecidos subcutâneos. Doenças pulmonares e cutâneas são caracterizadas pelo desenvolvimento de necrose e abscessos, similar ao observado com outras bactérias piogênicas. Infecções crônicas com formação de ductos de drenagem podem ocorrer, particularmente quando associadas às infecções cutâneas primárias. Grânulos de enxofre (microcolônias de bactérias pigmentadas presentes em exsudatos de feridas) são comumente observados em infecções causadas por *Actinomyces* spp., no entanto, os mesmos não são comuns em nocardias e são apenas vistos em doenças cutâneas.

Embora a produção de toxinas e enzimas tenha sido descrita para nocardias, o papel que esses fatores desempenham no estabelecimento e desenvolvimento das nocardioses ainda não foi completamente definido. O principal fator associado com a virulência de amostras patogênicas de nocardias parece ser a habilidade de **evitar a morte pela fagocitose**. Quando os fagócitos entram em contato com os microrganismos, ocorre uma explosão oxidante ("*burst* oxidativo") com a liberação de Espécies Reativas de Oxigênio de efeito tóxico (*i.e.*, peróxido de hidrogênio, superóxido). Amostras patogênicas de nocardias são protegidas pela capacidade de produção das enzimas **catalase** e **superóxido dismutase**. A superóxido dismutase presente na superfície celular também exerce atividade de proteção dos microrganismos. Nocardias são capazes de sobreviver e **replicar no interior dos macrófagos** em decorrência da: (1) inibição da fusão fagossoma-lisossoma (mediada pelo **fator corda**); (2) inibição da acidificação do fagossoma (através de mecanismos indeterminados); e (3) escape de morte mediada pela fosfatase ácida, devido à metabolização da enzima como fonte de carbono.

Epidemiologia

As nocardioses são de origem **exógena** (*i.e.*, causadas por microrganismos que não fazem parte da flora normal humana). A presença ubíqua do microrganismo em solo rico e em substâncias orgânicas, e o aumento do número de indivíduos imunocomprometidos nas comunidades ocasionaram um acréscimo significativo no número de casos de nocardioses. Especialmente, em populações de alto risco, como os pacientes ambulatoriais infectados com o vírus da imunodeficiência humana (vírus HIV) ou que tenham sido submetidos a transplante de medula óssea ou de órgãos sólidos.

Doenças Clínicas (Quadro 27-3)

Doenças Broncopulmonares (Caso Clínico 27-1) causadas por espécies de nocardias são indistinguíveis das doenças causadas por outros microrganismos piogênicos, embora as infecções causadas pelas nocardias tenham tendência a se desenvolverem mais lentamente e a doença pulmonar primária quase sempre ocorre em pacientes imunocomprometidos. Sinais como tosse, dispneia e febre são comumente observados, mas não auxiliam no diagnóstico diferencial da doença. Cavitações e infecções pleurais ocorrem frequentemente. Embora não seja um quadro clínico específico de nocardias, estes microrganismos devem ser considerados em pacientes imunocomprometidos, que apresentam pneumonia com lesões cavitárias, particularmente quando há evidências de disseminação para o SNC ou tecidos subcutâneos. É indicada a avaliação das condições imunológicas do paciente em casos de nocardiose pulmonar ou disseminada, diagnosticadas em indivíduos sem doença de base.

Quadro 27-3 Nocardioses: Resumos Clínicos

Doença broncopulmonar: doença pulmonar indolente apresentando necrose e formação de abscesso; frequente disseminação para o sistema nervoso central e pele

Micetoma: doença crônica, destrutiva e progressiva, geralmente nas extremidades e caracterizada pela presença de granulomas supurativos, fibrose progressiva, necrose e formação de ductos de drenagem

Doença linfocutânea: infecção primária ou disseminação secundária para a pele; caracterizada pela formação de granulomas crônicos e nódulos eritematosos subcutâneos, com eventual formação de úlceras

Celulite e abscessos subcutâneos: formação de úlceras granulomatosas circundadas de eritema, com a participação mínima ou nenhuma de linfonodos de drenagem

Abscesso cerebral: infecção crônica com febre, dor de cabeça e déficit focal relacionado à localização do(s) abscesso(s) de evolução lenta

Caso Clínico 27-1 Nocardiose disseminada

Shin et al. (Transpl Infect Dis 8:222-225, 2006) descreveram o caso de um homem de 63 anos de idade que recebeu um transplante de fígado em decorrência de cirrose hepática causada por hepatite C. O paciente foi tratado com fármacos imunossupressores, incluindo tacrolimus e prednisona durante 4 meses. Cada vez que retornava ao hospital o paciente apresentava febre e dores nos membros inferiores. Embora a radiografia do tórax indicasse condições de normalidade, o exame de ultrassom revelou um abscesso no músculo soleus. Bacilos Gram positivos fracamente corados foram observados no pus aspirado do abscesso. Após 3 dias de incubação foi observado crescimento de nocardia. O tratamento com imipenem foi iniciado, entretanto, o paciente sofreu convulsões 10 dias mais tarde e paralisia parcial do lado esquerdo. Estudos de imagens do cérebro revelaram três lesões. O tratamento foi trocado para ceftriaxona e amicacina. O abscesso subcutâneo e as lesões cerebrais foram regredindo gradativamente, e o paciente foi liberado do hospital após 55 dias de internação. O paciente ilustra a propensão das nocardias de causarem infecções em pacientes imunocomprometidos, disseminação para o cérebro, além de apresentarem crescimento lento em culturas e necessidade de tratamento prolongado.

Infecções cutâneas podem ser infecções primárias (p. ex., micetomas, infecções linfocutâneas, celulites e abscessos subcutâneos) ou o resultado de uma disseminação secundária dos microrganismos a partir do foco primário de infecção no pulmão. **Micetoma** é um processo infeccioso crônico e indolor que se manifesta originalmente nos pés e é

caracterizado pela presença de edema no tecido subcutâneo, supuração e formação de múltiplos ductos de drenagem. O tecido conjuntivo subjacente, músculos e ossos podem estar comprometidos e comumente surgem ductos de drenagem na superfície cutânea. Diversos microrganismos podem causar micetomas, embora *N. brasiliensis* seja o principal agente causal na América do Norte, América Central e na América do Sul. **Infecções linfocutâneas** podem se manifestar como nódulos cutâneos e ulcerações juntamente com o comprometimento dos vasos linfáticos e linfonodos regionais. Estas infecções são semelhantes às infecções causadas por algumas espécies de micobactérias e pelo fungo *Sporothrix schenckii*. As nocardias também são capazes de causar **lesões ulcerativas crônicas, abscessos subcutâneos** e **celulite** (Fig. 27-5).

Figura 27-5 Lesões cutâneas causadas por *Nocardia*. (De *Sorrell TC et al*: Nocardia *species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 6*

A disseminação dos microrganismos para o cérebro, com frequente formação de **abscessos cerebrais**, únicos ou múltiplos, ocorre em um terço dos pacientes com infecções causadas por nocardias. Inicialmente a doença pode se apresentar como meningite crônica.

Diagnóstico Laboratorial

Múltiplas amostras de escarro devem ser coletadas de pacientes com doença pulmonar. Devido ao fato das nocardias estarem comumente espalhadas em todo o tecido e nos abscessos, é relativamente fácil detectar estes microrganismos por microscopia e recuperá-los nas culturas realizadas a partir dos espécimes clínicos coletados de pacientes com doença pulmonar, cutânea ou do SNC. As hifas delicadas presentes nas nocardias e encontradas nos tecidos do hospedeiro fazem com que estes microrganismos assemelhem-se com *Actinomyces*; entretanto, diferente de *Actinomyces*, nocardias são tipicamente álcool-acidorresistentes (Figs. 27-1 e 27-2).

Os microrganismos crescem na maioria dos meios de cultura utilizados em laboratórios, quando incubados em atmosfera de 5% a 10% de dióxido de carbono. A presença destes microrganismos de crescimento lento pode ser ocultada pelo crescimento de bactérias comensais de crescimento rápido. Amostras clínicas potencialmente passíveis de contaminação com outras bactérias (p. ex., bactérias da cavidade oral no escarro) devem ser semeadas em meios seletivos. O meio de cultura utilizado no isolamento de diferentes espécies do gênero *Legionella* (**Agar** carvão-extrato de levedura tamponado [**BCYE**]) tem obtido sucesso no isolamento de nocardias. De fato, o meio BCYE pode ser utilizado no isolamento de amostras pertencentes aos dois gêneros, a partir de espécimes clínicos pulmonares. Nocardias também crescem ocasionalmente em meios utilizados no isolamento de micobactérias e fungos; entretanto, o uso destes meios é menos eficaz do que o uso de meios específicos para culturas bacterianas. Uma vez que a maioria dos laboratórios não inclui nos procedimentos de rotina meios de culturas especiais e realiza a incubação dos espécimes clínicos durante 1 a 3 dias, é importante notificar aos bacteriologistas os casos suspeitos de nocardiose. É necessário um tempo prolongado de incubação (*i.e.*, uma semana) para que as nocardias sejam detectadas nas culturas.

A identificação preliminar de *Nocardia* spp. não é complicada. Os membros do gênero podem ser inicialmente classificados com base na presença de **hifas aéreas, filamentosas e fracamente álcool-acidorresistentes** na superfície das colônias. A identificação definitiva das espécies apresenta maior grau de dificuldade. A maioria das espécies é incapaz de ser identificada corretamente pelos métodos fenotípicos utilizados em muitos laboratórios (p. ex., testes bioquímicos). A identificação correta da maioria das espécies requer a análise molecular de genes "housekeeping" (p. ex., genes de proteínas de choque térmico) e de genes que codificam ácidos ribonucleicos ribossomais (16S rRNA). Porém, estes testes normalmente são realizados apenas em laboratórios de referência ou de pesquisa.

Tratamento, Prevenção e Controle

As nocardioses são tratadas com uma combinação de antibióticos e intervenções cirúrgicas apropriadas. Sulfametoxazol-trimetoprim é o fármaco mais comumente utilizado no tratamento das infecções localizadas. Para os pacientes com doença progressiva e grave é recomendada uma associação de antibióticos, como amicacina com carbapenem (p. ex., imipenem, meropenem) ou cefalosporinas de amplo espectro. Testes de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos realizados *in vitro* podem ser utilizados para orientar na seleção dos antibióticos. Uma vez que as nocardias são capazes de disseminar pelos tecidos e de causar doenças graves, a antibioticoterapia deve ser prolongada para 6 semanas ou mais. A resposta clínica é favorável em pacientes com infecções localizadas, porém, o prognóstico é ruim para os pacientes imunocomprometidos com doença disseminada.

É impossível prevenir a exposição humana às nocardias devido à ubiquidade deste microrganismo. Entretanto, as doenças pulmonares causadas por nocardias são incomuns em indivíduos imunocompetentes, e infecções cutâneas primárias podem ser prevenidas mediante cuidados adequados das feridas. Quando a norcadiose é incluída no diagnóstico

diferencial de doença pulmonar cavitária prontamente tratada em pacientes imunocomprometidos, as complicações associadas com a doença disseminada podem ser minimizadas.

Rhodococcus

O gênero *Rhodococcus* compreende bactérias Gram positivas fracamente álcool-acidorresistentes, que inicialmente exibem formas bacilares e depois, revertem para formas cocoides (Fig. 27-6). Ramificações rudimentares podem estar presentes, mas as formas filamentosas delicadas comuns nas nocardias não são observadas nos rodococos. Dentre as espécies reconhecidas atualmente, ***Rhodococcus equi*** é o patógeno humano de maior relevância. Originalmente, *R. equi* (inicialmente *Corynebacterium equi*) era considerado um patógeno veterinário, particularmente de animais herbívoros, que ocasionalmente causava doença ocupacional em fazendeiros e veterinários. Entretanto, o microrganismo foi gradativamente reconhecido como um **patógeno de pacientes imunocomprometidos** (p. ex., pacientes infectados com o vírus HIV ou transplantados). É interessante que a maioria desses pacientes infectados não apresenta história de contato prévio com animais de pasto ou exposição a solos contaminados com estrume de animais herbívoros. O aumento da incidência de infecções humanas está aparentemente mais relacionado com o aumento do número de pacientes com doenças imunossupressoras, particularmente AIDS, e com uma maior consciência do potencial patogênico do microrganismo para os humanos. Provavelmente muitos isolados clínicos de *R. equi* foram anteriormente ignorados ou inadequadamente identificados como bactérias corineformes irrelevantes.

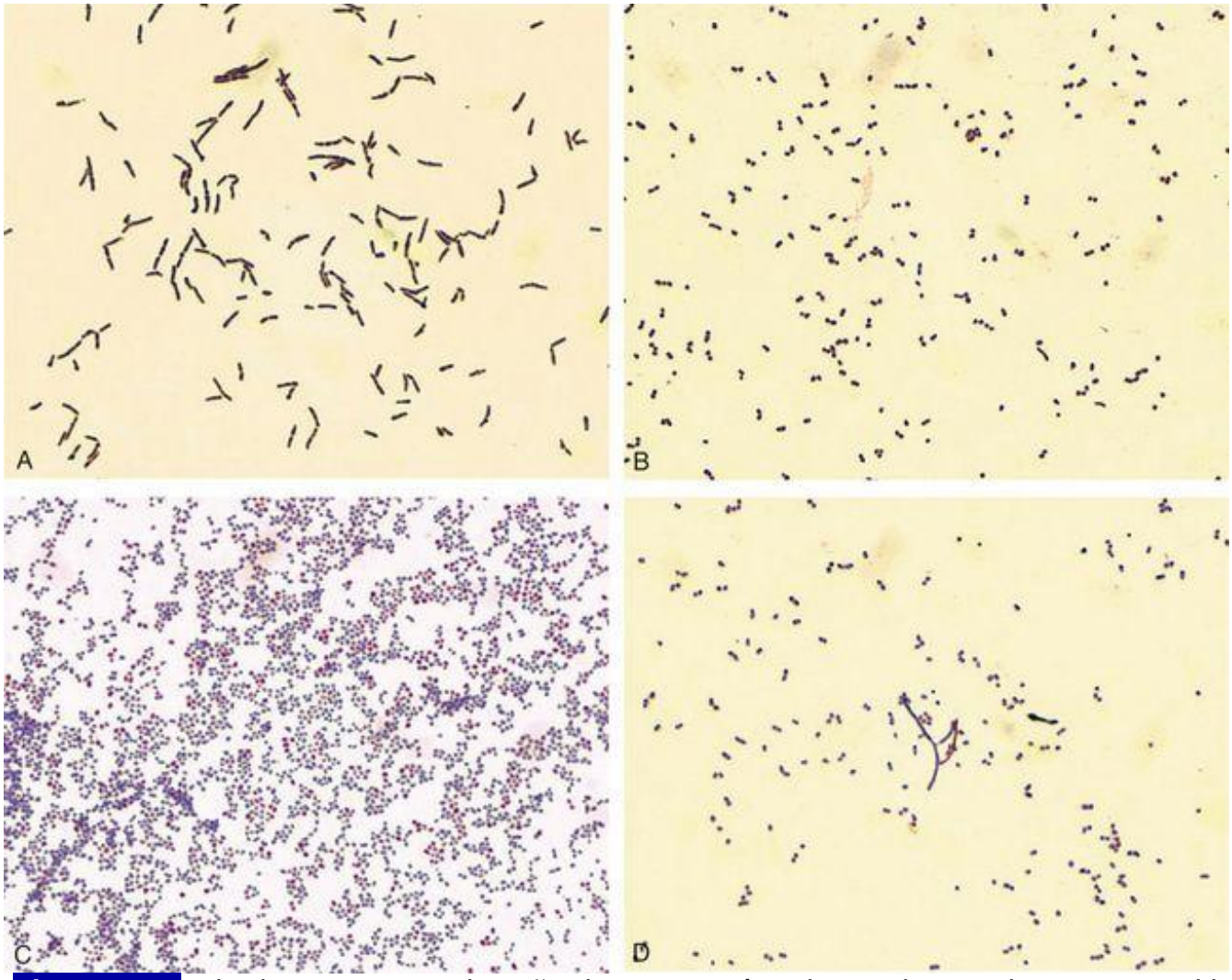


Figura 27-6 *Rhodococcus*. **A**, Coloração de Gram após 4 horas de crescimento em caldo nutriente. **B**, Coloração de Gram após 18 horas de crescimento em caldo nutriente. **C**, Coloração álcool-acidorresistente após 2 dias de crescimento em meio de cultura de micobactérias, Middlebrook agar (notar a escassez de células vermelhas "álcool-acidorresistentes"). **D**, Coloração de Gram de formas filamentosas ramificadas.

R. equi, como as nocardias, é um microrganismo intracelular facultativo que sobrevive no interior de macrófagos, causa inflamação granulomatosa e consequente **formação de abscessos**. Embora tenham sido descritos possíveis fatores de virulência, a exata patofisiologia da infecção ainda não foi esclarecida. Uma proteína relacionada com a virulência, *vap A*, tem sido relacionada com o desenvolvimento de doenças em equinos, entretanto o papel em doenças humanas ainda não foi estabelecido. Indivíduos não produtores de interferon-g parecem ser incapazes de eliminar as bactérias das infecções pulmonares.

Pacientes imunocomprometidos geralmente apresentam doença pulmonar invasiva (p. ex., nódulos pulmonares, solidificação, abscessos pulmonares). Disseminação hematogênica para sítios distantes (linfonodos, meninges, pericárdio e pele) é comumente observada. Os rodococos geralmente causam infecções oportunistas em pacientes imunocompetentes (p. ex., infecções cutâneas pós-traumática, peritonite em pacientes submetidos à diálise por tempo prolongado, endoftalmite traumática).

Os rodococos crescem em meios não seletivos incubados em aerobiose, entretanto, o característico pigmento rosa-salmão pode não ser observado antes de 4 dias. As colônias são típicamente **mucoides**, embora formas secas também possam ser observadas. Os microrganismos podem ser inicialmente identificados pelo seu crescimento lento, morfologia macroscópica, microscópica e habilidade de reter fracamente a coloração de microrganismos **álcool-acidorresistentes** (particularmente quando crescidos em meios para micobactérias). A identificação definitiva das espécies é problemática porque os microrganimos são relativamente inertes.

As rodococoses são de difícil tratamento. Embora os testes *in vitro* e os testes realizados em modelos animais tenham identificado combinações específicas de fármacos como eficazes, um sucesso limitado tem sido obtido nos tratamentos de infecções humanas (pacientes imunocomprometidos com baixa contagem de células CD4: 50% de mortalidade; pacientes imunocompetentes: 20% de mortalidade). A recomendação atual para o tratamento de infecções localizadas em pacientes imunocompetentes é o uso de antibióticos por via oral (p. ex., eritromicina, rifampina e/ou ciprofloxacina). Infecções disseminadas e infecções em pacientes imunocomprometidos devem ser tratadas com combinações de antibióticos intravenosos (p. ex., vancomicina, imipenem, aminoglicosídeos, ciprofloxacina, rifampina e/ou eritromicina). Penicilinas e cefalosporinas não devem ser utilizadas devido ao fato dos rodococos comumente adquirirem resistência a estes agentes. A eficácia de qualquer agente antimicrobiano deve ser confimada por testes realizados *in vitro*.

Gordonia e Tsukamurella

Gordonia (outrora *Gordona*) e ***Tsukamurella*** foram previamente classificadas como *Rhodococcus* devido às semelhanças morfológicas, presença de ácidos micólicos e de **álcool-acidorresistência parcial**. Os microrganismos estão presentes no solo e raramente atuam como patógenos oportunistas humanos. *Gordonia* tem sido relacionada a infecções pulmonares, cutâneas e infecções nosocomiais associadas ao uso de cateteres intravasculares contaminados. *Tsukamurella* tem sido relacionada a infecções em cateteres. O significado do isolamento destes microrganismos a partir de material clínico deve ser cautelosamente avaliado.

Estudo de Caso e Questões

Um indivíduo de 47 anos de idade submetido a transplante renal no passado e que permanecia sob tratamento com prednisona e azatioprina durante os últimos 2 anos foi admitido no centro médico universitário. Duas semanas antes, o paciente passou a apresentar tosse seca e persistente. Cinco dias antes da internação, apresentou tosse produtiva e dor torácica de origem pleural. No dia da internação, apresentou insuficiência respiratória e as imagens radiológicas do tórax revelaram a presença de infiltrado irregular no lobo superior direito. Amostras de escarro foram inicialmente enviadas para a pesquisa de crescimento bacteriano; resultados negativos foram relatados para as culturas de microrganismos após 2 dias de incubação. A antibioticoterapia com cefalotina foi ineficaz. Material clínico adicional foi coletado e submetido à pesquisa de bactérias, micobactérias, *Legionella* spp. e fungos. Após 4 dias de incubação, *Nocardia* foi isolada nos meios inoculados para micobactérias, *Legionella* spp. e fungos.

1. Por que não ocorreu crescimento bacteriano no início? Que medidas podem ser adotadas para corrigir este problema?

1. *Nocardia* é uma bactéria de crescimento relativamente lento. Embora seja possível que o crescimento seja observado depois de dois dias de incubação, na maioria dos casos, as culturas podem precisar de até sete dias de incubação para o crescimento ser detectado. Isto é particularmente problemático com espécimes de escarro, onde as bactérias de crescimento rápido da orofaringe podem esconder as colônias de *Nocardia*. Portanto, se existe a suspeita de *Nocardia*, a cultura deverá ser incubada por um período prolongado.

2. Uma vez que ocorre disseminação destes microrganismos, quais são os dois tecidos-alvo, que têm maior possibilidade de estarem comprometidos?

2. Os tecidos mais comuns envolvidos na disseminação de infecções por *Nocardia* são a pele e o sistema nervoso central.

3. Qual a forma mais frequente de doença causada por *N. brasiliensis*?

3. *N. brasiliensis* é mais comumente associada a infecções cutâneas primárias (exemplo: abscessos formados no lugar do trauma, micetoma).

4. Qual doença é causada por *Rhodococcus* em pacientes imunocomprometidos?

4. Infecção causada por *Rhodococcus* em humanos ocorre mais comumente em pacientes imunocomprometidos (exemplo: pacientes infectados com o vírus HIV ou pacientes transplantados) que usualmente apresentam doença pulmonar invasiva (exemplo: nódulos pulmonares, solidificação, abscessos pulmonares).

5. Qual a propriedade microscópica compartilhada entre *Rhodococcus* e *Nocardia*? Quais os outros dois gêneros discutidos neste capítulo que apresentam esta mesma propriedade?

5 . *Rhodococcus* e *Nocardia* são bacilos Gram positivos fracamente álcool-acidorresistentes. Esta propriedade é melhor visualizada em colônias cultivadas em meios para micobactérias (exemplo: meio de Lowenstein-Jensen e agar Middlebrook). Outros gêneros fracamente álcool-acidorresistentes são: *Tsukamurella* e *Gordonia*.

6. Quais são as bactérias capazes de causarem micetomas? Qual delas é a causa mais comum da doença nos Estados Unidos?

6. Bactérias e fungos selecionados podem causar micetomas. A causa mais comum de micetoma bacteriano nos Estados Unidos é *Nocardia brasiliensis*. As outras espécies de *Nocardia* são menos comuns.

Bibliografia

Beaman B, Beaman L. Nocardia species: Host-parasite relationships. *Clin Microbiol Rev*. 1994;7:213-264.

Conville P, Witebsky F. Nocardia and other aerobic Actinomycetes. In Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. London: Hodder Arnold. 2005;10th ed.

Conville P, Witebsky F. Nocardia, Rhodococcus, Gordonia, Actinomadura, Streptomyces, and other aerobic Actinomycetes. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Giguere S, et al. Role of the 85-kilobase plasmid and plasmid-encoded virulence-associated protein A in intracellular survival and virulence of Rhodococcus equi. *Infect Immun*. 1999;67:3548-3557.

Steingrube V, et al. Rapid identification of clinically significant species and taxa of aerobic Actinomycetes, including Actinomadura, Gordona, Nocardia, Rhodococcus, Streptomyces, and Tsukamurella isolates, by DNA amplification and restriction endonuclease analysis. *J Clin Microbiol*. 1997;35:817-822.

Weinstock D, Brown A. Rhodococcus equi: An emerging pathogen. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1379-1385.

28 Mycobacterium

O gênero *Mycobacterium* (Quadro 28-1) consiste em bacilos aeróbios, imóveis, não formadores de esporos que medem de 0,2 a 0,6 × 1 a 10 µm. Os bacilos, ocasionalmente, formam filamentos ramificados que podem ser interrompidos. A parede celular é rica em lipídios, o que torna a superfície hidrofóbica e a micobactéria resistente a vários desinfetantes e colorações comuns de laboratório. Uma vez corados, os bacilos não podem ser descorados com soluções ácidas; por isso são chamados de bactérias **acidorresistentes**. Pelo fato de a parede celular das micobactérias ser complexa e este grupo de microrganismo ser fastidioso, muitas micobactérias crescem lentamente dividindo-se a cada 12-24 horas e requerendo um período de 8 semanas para que o crescimento seja detectado em culturas de laboratório.

Quadro 28-1 Micobactérias Importantes

Organismo	Origem Histórica
Mycobacterium	*myces*, um “fungo”; *bakterion*, um “bastão pequeno” (bastão semelhante a fungo)
M. abscessus	*abscessus*, de “abscesso” (causa formação de abscessos)
M. avium	*avis*, de “aves” (causa doença semelhante à tuberculose em aves)

M. chelonae	*chelonae*, uma “tartaruga”
M. fortuitum	*fortuitum*, “casual, acidental” (refere-se ao fato de ser um patógeno oportunista)
M. haemophilum	*haema*, “sangue”; *philos*, “amante” (amantes de sangue; refere-se à necessidade de sangue ou hemina para o crescimento *in vitro*)
M. intracellulare	*intra*, “dentro”; *cella* “pequena sala” (no interior das células; refere-se à localização intracelular das micobactérias)
M. kansasii	*kansasii*, de “Kansas” (onde o microrganismo foi originalmente isolado)
M. leprae	*leprae*, de “leproso” (a causa da lepra)
M. marinum	*marinum*, de “mar” (bactéria relacionada a águas doce e salgada contaminadas)
M. tuberculosis	*tuberculum*, um “pequeno inchaço” ou tubérculo; *osis*, “caracterizado por” (caracterizado por tubérculos, refere-se à formação de tubérculos nos pulmões de pacientes infectados).

As micobactérias são uma causa significativa de morbidade e mortalidade, principalmente em países com recursos médicos limitados. Atualmente, mais de 130 espécies de micobactérias são descritas, muitas das quais associadas a doenças humanas (Tab. 28-1). Apesar da abundância de espécies de micobactérias, apenas as seguintes espécies e grupos causam a maioria das infecções humanas: *M. tuberculosis, M. leprae*, complexo *M. avium, M. kansasii, M. fortuitum, M. chelonae* e *M. abscessus*.

Tabela 28-1 Classificação das Micobactérias Patogênicas para o Ser Humano

Organismo	**Patogenicidade**	**Frequência nos Estados Unidos**
Complexo M. tuberculosis		
M. tuberculosis	Estritamente patogênico	Comum
M. leprae	Estritamente patogênico	Incomum
M. africanum	Estritamente patogênico	Raro
M. bovis	Estritamente patogênico	Raro
M. bovis (cepa BCG)	Algumas vezes patogênico	Raro
Micobatérias Não Tuberculose de Crescimento Lento		
Complexo *M. avium*	Usualmente patogênico	Comum
M. kansasii	Usualmente patogênico	Comum
M. marinum	Usualmente patogênico	Incomum
M. siniae	Usualmente patogênico	Incomum
M. szulgai	Usualmente patogênico	Incomum
M. genavense	Usualmente patogênico	Incomum

M. haemophilum	Usualmente patogênico	Incomum
M. malmoense	Usualmente patogênico	Incomum
M. ulcerans	Usualmente patogênico	Incomum
M. scrofulaceum	Algumas vezes patogênico	Incomum
M. xenopi	Algumas vezes patogênico	Incomum
Micobactérias Não Tuberculose de Crescimento Rápido		
M. abscessus	Algumas vezes patogênico	Comum
M. chelonae	Algumas vezes patogênico	Comum
M. fortuitum	Algumas vezes patogênico	Comum
M. mucogenicum	Algumas vezes patogênico	Incomum

Fisiologia e Estrutura das Micobactérias

Bactérias são classificadas no gênero *Mycobacterium* com base: (1) na acidorresistência; (2) na presença de ácidos **micólicos** contendo 70 a 90 carbonos; e (3) em um alto conteúdo (61 a 71mol%) de guanina mais citosina (GC) no ácido desoxirribonucleico (DNA). Embora outras espécies de bactérias possam ser acidorresistentes (*i. e.*, *Nocardia, Rhodococcus, Tsukamurella, Gordonia*), elas se coram menos intensamente (são parcialmente acidorresistentes) e suas cadeias de ácidos micólicos são mais curtas.

As micobactérias têm uma complexa **parede celular rica em lipídios** (Fig. 28-1). Esta parede celular é responsável por muitas das propriedades caracterísitcas da bactéria (p. ex., acidorresistência, crescimento lento, resistência a detergentes, resistência aos antibióticos antibacterianos comuns, antigenicidade, aglutinação). A estrutura básica da parede celular é típica da parede das bactérias Gram positivas: uma membrana plasmática interna recoberta por uma camada espessa de peptidioglicano e ausência de membrana externa. No entanto, a estrutura da parede celular nas micobactérias é muito mais complexa do que em outras bactérias Gram positivas. Ancorados à parede celular estão proteínas, manosídios de fosfatidilinositol e **lipoarabinomanana (LAM)**. O LAM é funcionalmente relacionado aos lipopolissacarídios antigêncios O, presentes em outras bactérias. A camada de peptidioglicano forma a base sobre a qual estão ancoradas as arabinogalactanas, um polissacarídio ramificado que consiste em D-arabinose e D-galactose. O resíduo terminal de D-arabinose é esterificado a ácidos micólicos hidrofóbicos de alto peso molecular, ligados a moléculas glicolipídicas de superfície. Lipídios, glicolipídios, e peptidoglicolipídios também estão presentes. Os componentes lipídicos compreendem 60% do peso da parede celular. Proteínas de transporte e porinas estão intercaladas por todas as camadas da parede celular e constituem 15% do peso da parede. As proteínas são antígenos biologicamente importantes, estimulam a resposta imunecelular do paciente à infecção. Preparações extraídas e parcialmente purificadas destes derivados proteicos **(derivados de proteina purificada ou PPDs**) são utilizadas como reagentes de testes de pele para medir exposição a *M. tuberculosis*. Preparações semelhantes de outras micobactérias são usadas como reagentes de testes de pele espécie-específicos.

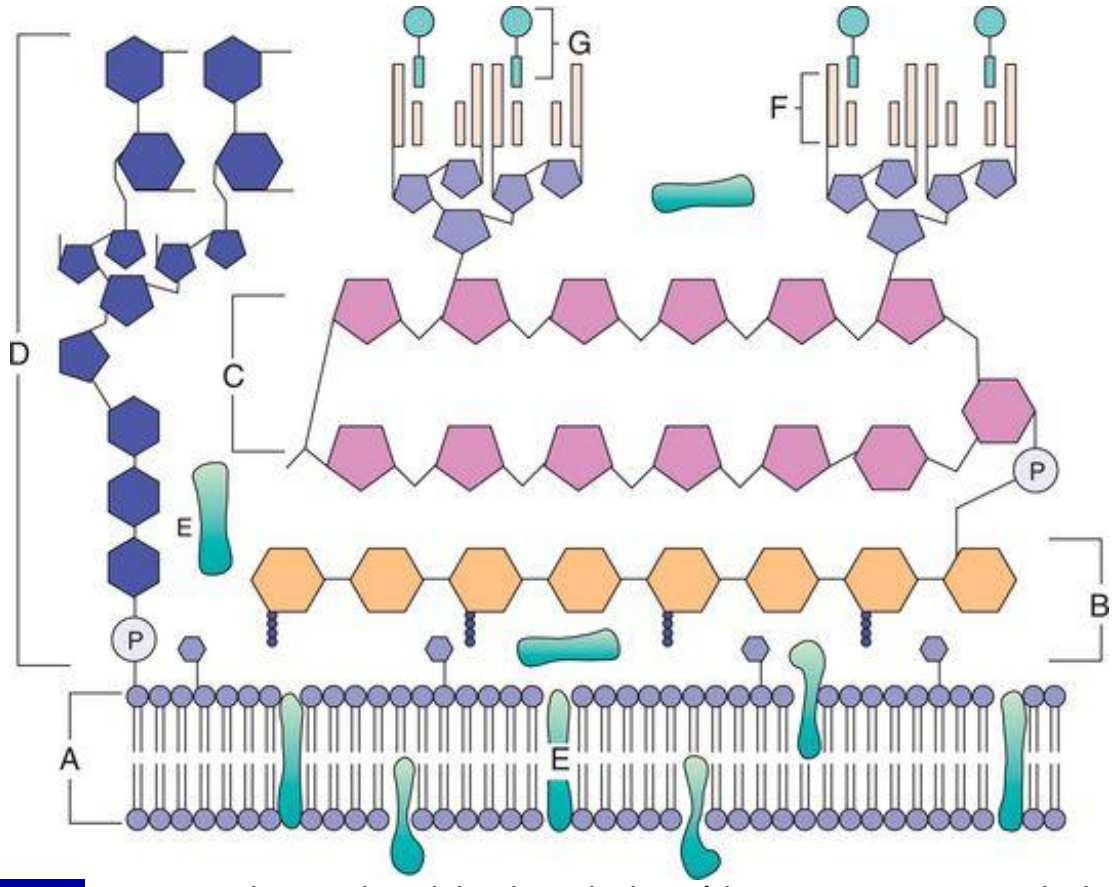


Figura 28-1 Estrutura da parede celular das micobactérias. Os componentes incluem a (*A*) membrana plasmática, (*B*) peptidioglicano, (*C*) arabinogalactana (*D*) lipoarabinomanana coberta por manose, (*E*) proteínas associadas à membrana plasmática e à parede celular, (*F*) ácidos micólicos, (*G*) moléculas de glicolipídios de superfície associadas aos ácidos micólicos, (*P*) molécula de fosfato.

(De Karakousis et al: Cell Microbiol 6:105-116, 2004.)

As propriedades de crescimento e a morfologia colonial são utilizadas para a classificação preliminar das micobactérias. Como observado, *M. tuberculosis* e espécies intimamente relacionadas do complexo *M. tuberculosis* são bactérias de crescimento lento. As colônias destas micobactérias ou apresentam uma coloração castanha brilhante ou não são pigmentadas (Fig. 28-2). As outras micobactérias, referidas como "micobactérias não tuberculosis" ou NTM, foram classificadas originalmente por Runyon, levando em consideração as taxas de crescimento e pigmentação (Tab. 28-1). As micobactérias pigmentadas produzem intensamente, **carotenoides amarelos**, que podem ser estimulados pela exposição à luz (organismos fotocromogênicos; Fig. 28-3) ou produzidos na ausência de luz (organismos escotocromogênicos). O esquema de **classificação de Runyon** consiste em quatro grupos: fotocromógenos de crescimento lento (p. ex., *M. kansasii, M. marinum*), escotocromógenos de crescimento lento (p. ex., *M. gordonae*, uma bactéria não patogência comumente isolada), micobactérias não pigmentadas de crescimento lento (p. ex., *M. avium, M. intracellulare*) e micobactérias de crescimento rápido (p. ex., *M. fortuitum, M. chelonae* e *M. abscessus*). Os métodos atuais usados para a detecção e identificação rápida de micobactérias tornaram este esquema menos importante. Todavia, uma micobactéria pigmentada ou de crescimento rápido não deve ser confundida com *M. tuberculosis*.

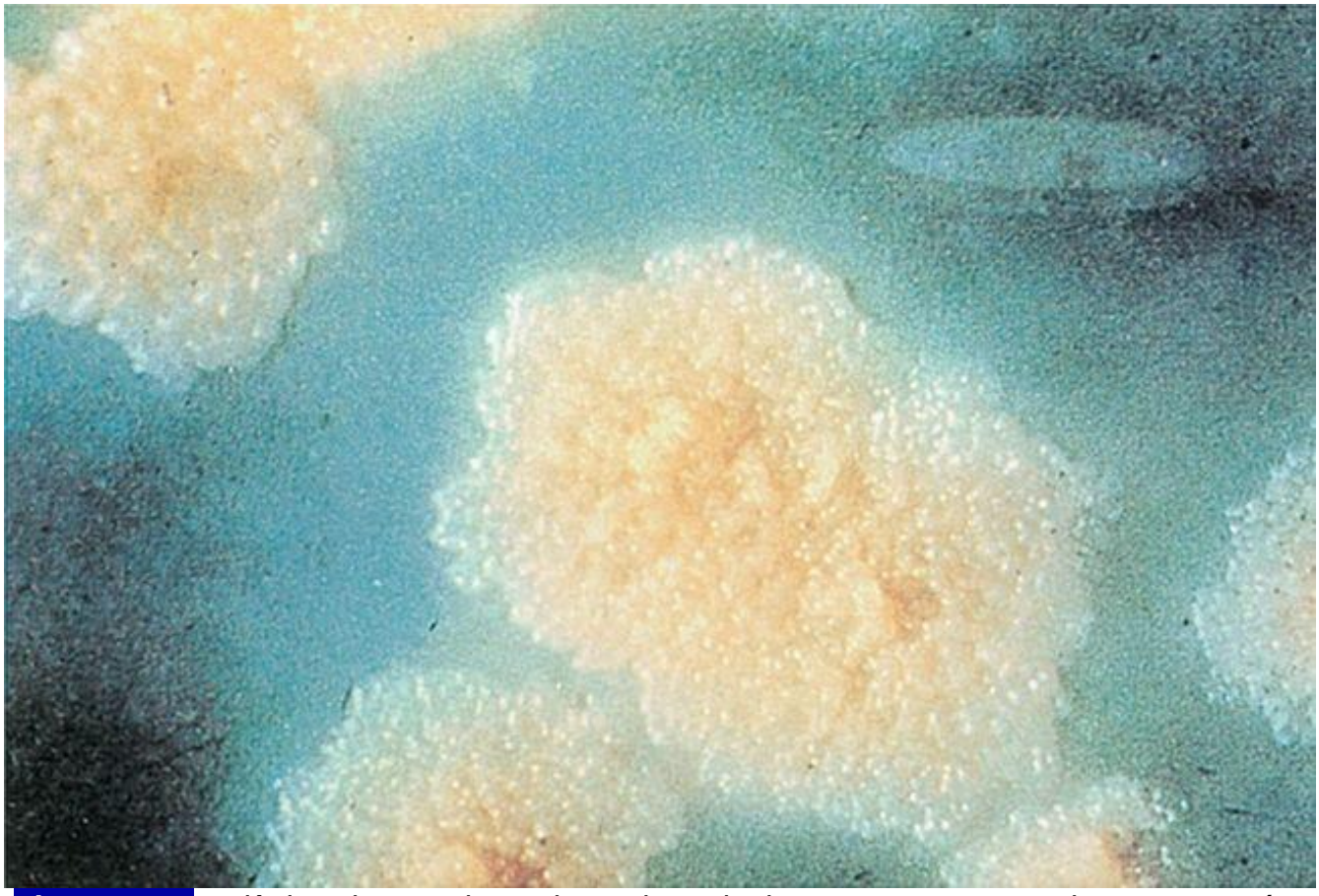


Figura 28-2 Colônias de *Mycobacterium tuberculosis* em agar Löwenstein-Jensen após 8 semanas de incubação.

(De Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9th ed. St Louis, Mosby, 1994.)

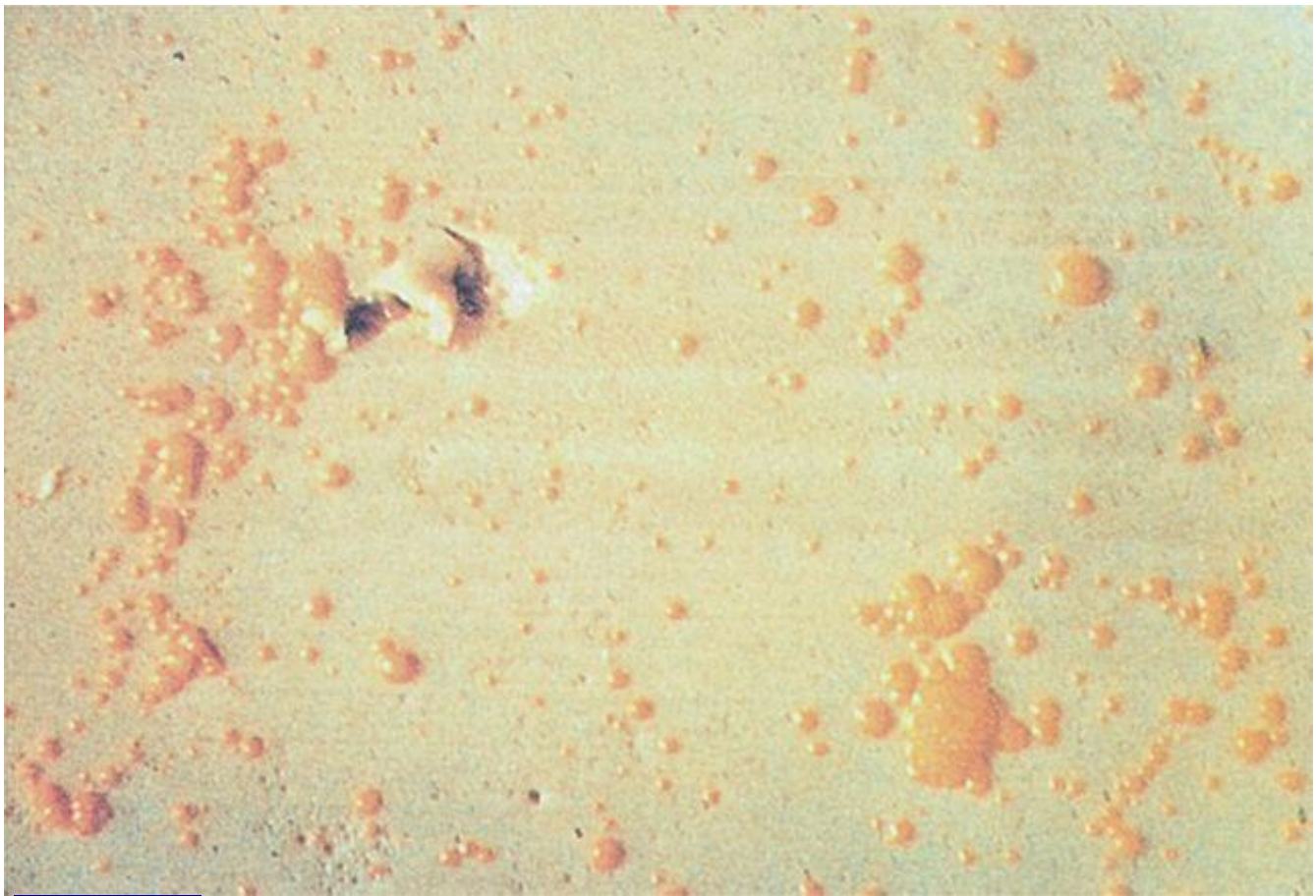


Figura 28-3 Colônias de *Mycobacterium kansasii* em agar Middlebrook um dia após

exposição à luz

Mycobacterium tuberculosis (Quadro 28-2)

Patogênese e Imunidade

M. tuberculosis é um patógeno intracelular que é capaz de estabelecer infecções que duram a vida toda. A complexicidade da existência intracelular desta bactéria não está ainda completamente esclarecida, mas está sendo lentamente decifrada. No momento da exposição, *M. tuberculosis* entra pelas vias aéreas respiratórias e partículas infecciosas minutas penetram nos alvéolos, onde são fagocitadas pelos macrófagos alveolares. Ao contrário do que acontece com a maioria das bactérias fagocitadas, *M. tuberculosis* **evita a fusão do fagossoma com o lisossoma** (pelo bloqueio da molécula específica que faz esta ligação, antígeno 1 do endossoma primário [EEA1]). Ao mesmo tempo, o fagossoma é capaz de se fundir com outras vesículas intracelulares, permitindo acesso a nutrientes e facilitando a replicação intravacúolo. Pela inativação dos oxidantes que são formados, a bactéria fagocitada também é capaz de evadir a morte no macrófago mediada pelos intermediários reativos do nitrogênio, formados entre o óxido nítrico e ânions superóxido.

Quadro 28-2 Resumo: *Mycobacterium tuberculosis*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos aeróbios fracamente Gram positivos, fortemente acidorresistentes

Parede celular rica em lipídios tornando o microrganismo resistente a desinfetantes, detergentes, antibióticos antibacterianos comuns e colorações tradicionais

Capacidade de crescimento intracelular em macrófagos alveolares inativados

A doença se dá principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção

A infecção primária é pulmonar

A disseminação para qualquer sítio do corpo ocorre mais comumente em pacientes imunocomprometidos

Epidemiologia

Disseminados mundialmente, um terço da população mundial é infectada por este microrganismo

Um total de 9 milhões de casos a cada ano e 2 milhões de mortes

Doença mais comum no sudeste da Ásia, Sul do Saara na África e Leste da Europa

Menos de 14 mil novos casos nos Estados Unidos em 2006

A população sob maior risco de contrair a doença são os pacientes imunocomprometidos (principalmente os com infecção por HIV), indivíduos que fazem uso abusivo de álcool ou drogas, desabrigados e indivíduos expostos a pacientes doentes

Os seres humanos são o único reservatório natural

Disseminação pessoa-pessoa por intermédio de aerossóis contaminados

Diagnóstico

Os testes de pele da tuberculina e o teste da liberação de IFN-g são marcadores sensíveis de exposição ao microrganismo

A microscopia e a cultura são testes sensíveis e específicos

A detecção direta com sonda molecular é pouco sensível, exceto para espécimes com esfregaços acidorresistentes positivos

A identificação é comumente realizada utilizando sondas moleculares espécie-específicas

Tratamento, Prevenção e Controle

Os regimes com múltiplos fármacos e o tratamento prolongado são necessários para evitar o desenvolvimento de cepas resistentes aos antimicrobianos

Isoniazida (INH), etambutol, pirazinamida e rifampina por 2 meses seguidos por 4 a 6 meses de INH e rifampina, ou combinação alternativa de fármacos.

A profilaxia para a exposição à tuberculose pode incluir INH por 6 a 9 meses ou rifampina por 4 meses; pirazinamida e etambutol ou levofloxacina são usados por 6 a 12 meses após exposição a *M. tuberculosis* resistente aos antimicrobianos.

Imunoprofilaxia com o bacilo de Calmette-Guerin (BCG) em países endêmicos

Controle da doença feito pela vigilância ativa, profilaxia, intervenção terapêutica e monitoramento cuidadoso dos casos.

Em resposta à infecção por *M. tuberculosis*, os macrófagos secretam interleucina 12 (**IL-12**) e fator de necrose tumoral a> (**TNF-**a). Estas citocinas aumentam a inflamação localizada com o recrutamento de células T e células exterminadoras naturais (NK) para a área dos macrófagos infectados, induzindo à diferenciação das células T em células TH1 (**células T auxiliadoras**), com subsequente secreção de interferon g (**IFN-**g). Na presença de IFN-g, os macrófagos infectados são ativados, levando ao aumento da fusão fagossoma-lisossoma e morte intracelular. Além disso, o TNF-a estimula a produção de óxido nítrico e intermediários reativos do nitrogênio relacionados, levando ao aumento da morte intracelular. Os pacientes com produção de IFN-g ou TNF-a diminuída, ou aqueles que apresentam defeitos nos receptores para estas citocinas, estão em maior risco de contrair infecções graves por micobactérias.

Se uma pequena carga antigênica estiver presente no momento que os macrófagos forem estimulados, a bactéria é destruída com dano tecidual mínimo. No entanto, se muitas bactérias estiverem presentes, a resposta imunecelular resulta em necrose do tecido. Múltiplos fatores do hospedeiro estão envolvidos neste processo, incluindo toxicidade pelas citocinas, ativação local da cascata do complemento, isquemia e exposição a enzimas hidrolíticas derivadas dos macrófagos e intermediários reativos do oxigênio. Nenhuma toxina ou enzima micobacteriana foi associada à destruição do tecido.

A efetividade da eliminação bacteriana está em parte relacionada ao tamanho do foco da infecção. Macrófagos alveolares, células epiteloides e **células gigantes de Langhans** (células epiteloides fundidas) com micobactérias intracelulares formam o core central de uma massa necrótica, que é circundada por uma densa parede de células T CD4, CD8, NK e macrófagos. Esta estrutura, denominada **granuloma**, evita a posterior disseminação da bactéria. Se o granuloma for pequeno, as bactérias intracelulares são mortas. Os granulomas grandes necróticos ou caseosos tornam-se encapsulados com fibrina, que efetivamente

protege a bactéria da morte pelos macrófagos. A bactéria pode permanecer dormente neste estágio ou pode ser reativada anos mais tarde, quando a responsividade imunológica do paciente diminuir como resultado da idade avançada, doença ou terapia imunossupressora. Este processo é a razão pela qual pacientes expostos a *M. tuberculosis* podem não desenvolver a doença até idades mais avançadas.

Epidemiologia

Embora a tuberculose possa ser estabelecida em primatas e animais de laboratório como as cobaias, **os seres humanos são o único reservatório natural**. A doença é disseminada com o contato íntimo pessoa-pessoa, pela inalação de aerossóis infecciosos. Partículas grandes são aprisionadas na superfície da mucosa e removidas pela ação ciliar da árvore respiratória. No entanto, partículas pequenas contendo de um a três bacilos da tuberculose podem alcançar os espaços alveolares e estabelecer infecção.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que um terço da população mundial esteja infectado por *M. tuberculosis*. Atualmente são 9 milhões de novos casos e 2 milhões de mortes por *M. tuberculosis*, por ano. As regiões com maior incidência da doença são o sudeste da África, o sub-Saara africano e o Leste da Europa. Nos Estados Unidos, a incidência da tuberculose decresce constantemente desde 1992 (Fig. 28-4). Em 2006, pouco mais de 14 mil casos foram relatados, sendo quase 60% das infecções relatadas em pessoas nascidas fora do país. Outra população com risco aumentado para a tuberculose são os desabrigados, os dependentes de álcool e drogas, os presidiários e indivíduos infectados com o vírus da imunodeficiência (HIV). Por ser difícil erradicar a doença nestes pacientes, a disseminação da infecção para outros indivíduos, incluindo trabalhadores da área de saúde, é um problema significativo de saúde pública. No caso de *M. tuberculosis* resistente aos antimicrobianos, isso é particularmente verdadeiro, pois pacientes que recebem tratamento inadequado podem permanecer infecciosos por um longo tempo.

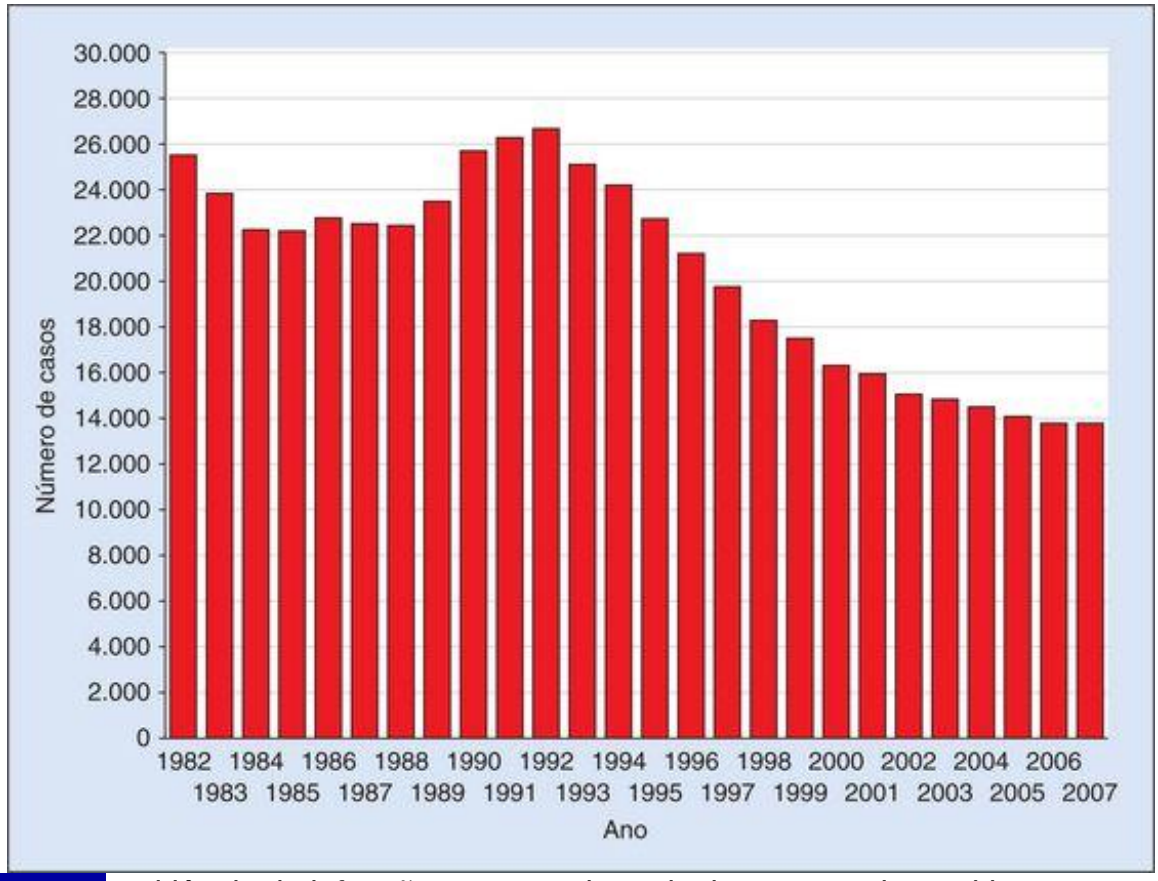


Figura 28-4 Incidência de infecções por *M. tuberculosis* nos Estados Unidos, 1982-2007

Doenças Clínicas (Caso Clínico 28-1)

Embora a tuberculose possa envolver qualquer órgão, a maioria das infecções em pacientes imunocompetentes é restrita aos pulmões. O foco pulmonar inicial se localiza nos campos pulmonares médio ou inferior, onde os bacilos da tuberculose podem se multiplicar livremente. A imunidade celular do paciente é ativada, e a replicação das micobactérias cessa na maioria dos pacientes dentro de 3 a 6 semanas após a exposição ao microrganismo. Aproximadamente 5% dos pacientes expostos a *M. tuberculosis* progridem para a doença ativa em 2 anos, e outros 5% a 10% apresentam à doença em algum momento ao longo da vida.

Caso Clínico 28-1 *Mycobacterium tuberculosis* resistente aos antimicrobianos

O risco da tuberculose ativa é significativamente aumentado em indivíduos infectados por HIV. Infelizmente este problema é complicado pelo desenvolvimento de cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos antimicrobianos nesta população. Isso foi ilustrado pelo relato de Gandhi et al. (Lancet 368:1575-1580, 2006), que estudaram a prevalência da tuberculose na África do Sul de janeiro de 2005 a março de 2006. Eles identificaram 475 pacientes com cultura confirmada para tuberculose, destes 39% apresentaram cepas com multirresistência aos antimicrobianos (MDR TB) e 6% apresentaram cepas extremamente resistentes aos antimicrobianos (XDR TB). Todos os pacientes com XDR TB foram coinfectados com HIV e 98% destes pacientes morreram. A alta prevalência de MDR TB e a evolução de XDR TB colocam um sério desafio para os programas de tratamento da tuberculose e enfatiza a necessidade de testes rápidos para o diagnóstico.

A probabilidade da infecção evoluir para doença ativa é uma função tanto da dose infecciosa como da competência imune do paciente. Por exemplo, a doença ativa se desenvolve em um ano após a exposição em aproximadamente 10% dos pacientes que são infectados pelo HIV e apresentam uma contagem baixa de células T CD4. Em pacientes HIV negativos, há um risco de 10% para o desenvolvimento da doença durante toda a vida. Em pacientes HIV positivos, a doença aparece antes do início de outras infecções oportunistas, apresenta duas vezes mais probabilidade de se disseminar para sítios extrapulmonares e pode progredir rapidamente para a morte.

Os sinais e sintomas clínicos da tuberculose refletem o sítio da infecção, com a doença primária usualmente restrita ao trato respiratório inferior. A doença é insidiosa no início. Os pacientes tipicamente apresentam queixas não específicas de mal-estar, perda de peso, tosse e suores noturnos. O escarro pode ser escasso, sanguinolento ou purulento. A produção de escarro com hemoptise está associada à destruição do tecido (p. ex., **doença cavitária**). O diagnóstico clínico é amparado por: (1) evidência radiográfica de doença pulmonar (Fig. 28-5); (2) teste de reatividade da pele positivo; e (3) detecção laboratorial da micobactéria, por microscopia ou cultura. Um ou ambos os lobos superiores dos pulmões estão envolvidos em pacientes com doença ativa, que inclui pneumonite ou formação de abscesso e cavitação.

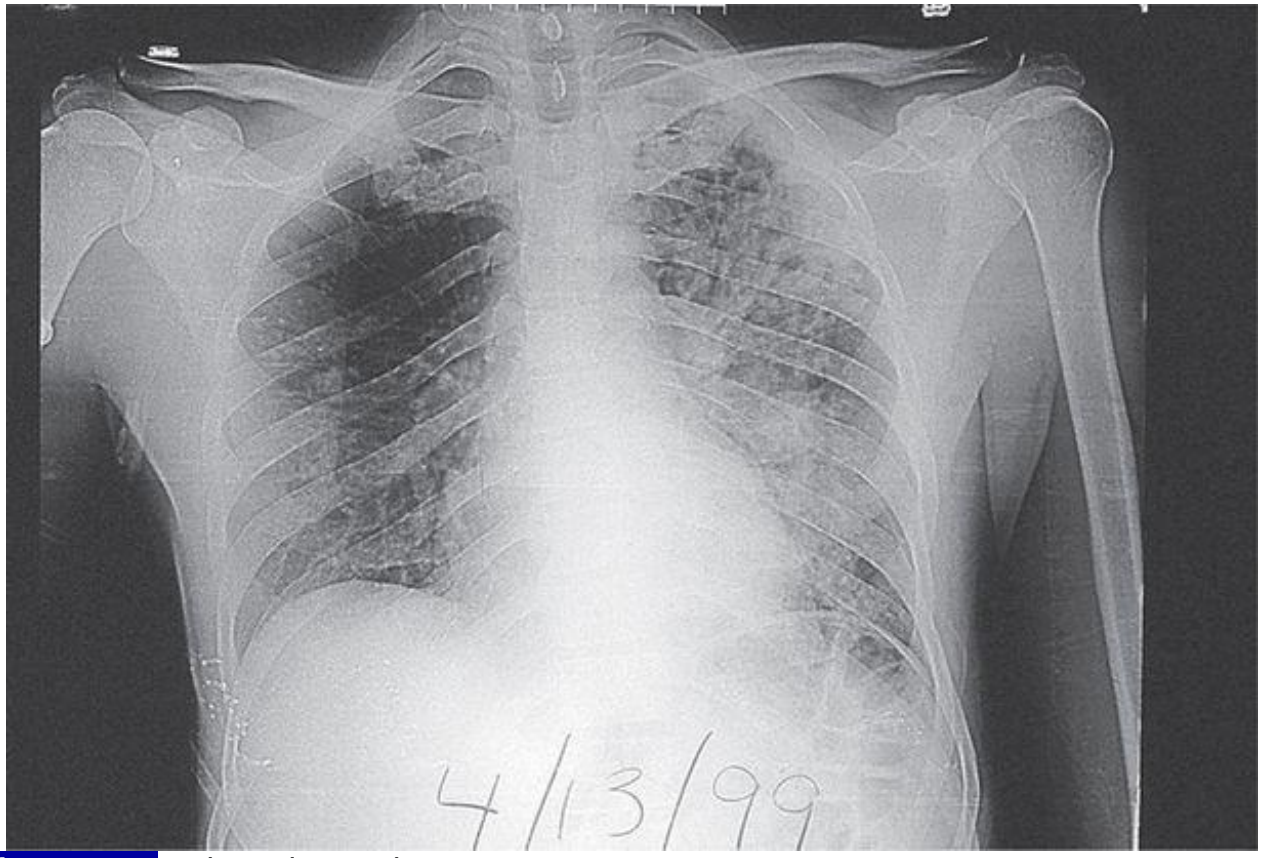


Figura 28-5 Tuberculose pulmonar

A tuberculose extrapulmonar pode ocorrer como resultado de disseminação hematogênica dos bacilos durante a fase inicial de multiplicação. Pode não haver evidência de doença pulmonar em pacientes com **tuberculose disseminada (miliar)**

Mycobacterium leprae (Quadro 28-3)

Patogênese e Imunidade

A **lepra** (também chamada **doença de Hansen**) é causada pelo *M. leprae*. Pelo fato de a bactéria se multiplicar muito lentamente, o período de incubação é prolongado e os sintomas desenvolvem-se em até 20 anos após a infecção. Da mesma maneira como com as infecções por *M. tuberculosis*, as manifestações clínicas da lepra dependem da reação imune do paciente à bactéria. A apresentação clínica da lepra varia da forma tuberculoide à forma lepromatosa. Os pacientes com **lepra tuberculoide** (também chamada **doença de Hansen paucibacilar**) apresentam uma forte reação imunecelular, com muitos linfócitos e granulomas presentes nos tecidos e relativamente poucas bactérias (Fig. 28-6; Tab. 28-2). Como acontece nas infecções por *M. tuberculosis* em pacientes imunocompetentes, as bactérias induzem à produção de citocinas que medeiam a ativação de macrófagos, fagocitose e eliminação dos bacilos.

Quadro 28-3 Resumo:*Mycobacterium leprae*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos fracamente Gram positivos, fortemente acidorresistentes

Parede celular rica em lipídios

Não é capaz de ser cultivado em meios artificiais

A doença se dá principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção

Formas tuberculoide (paucibacilar) e lepromatosa (multibacilar)

Epidemiologia

Menos que 300 mil casos foram relatados em 2005, com a maioria dos casos na Índia, Nepal e Brasil

Aproximadamente 100 novos casos relatados anualmente nos Estados Unidos

A forma lepromatosa da doença, mas não a forma tuberculoide, é altamente infecciosa

Disseminação pessoa-pessoa por contato direto ou inalação de aerossóis infecciosos

Diagnóstico

A microscopia é sensível para a forma lepromatosa, mas não para a forma tuberculoide

O teste de pele é necessário para confirmar a lepra tuberculoide

A cultura não é útil

Tratamento, Prevenção e Controle

A forma tuberculoide é tratada com rifampicina e dapsona por 6 meses; clofazimina é adicionada ao regime para o tratamento da forma lepromatosa e a terapia é estendida por, no mínimo, 12 meses

A doença é controlada pelo pronto reconhecimento e tratamento dos indivíduos infectados.

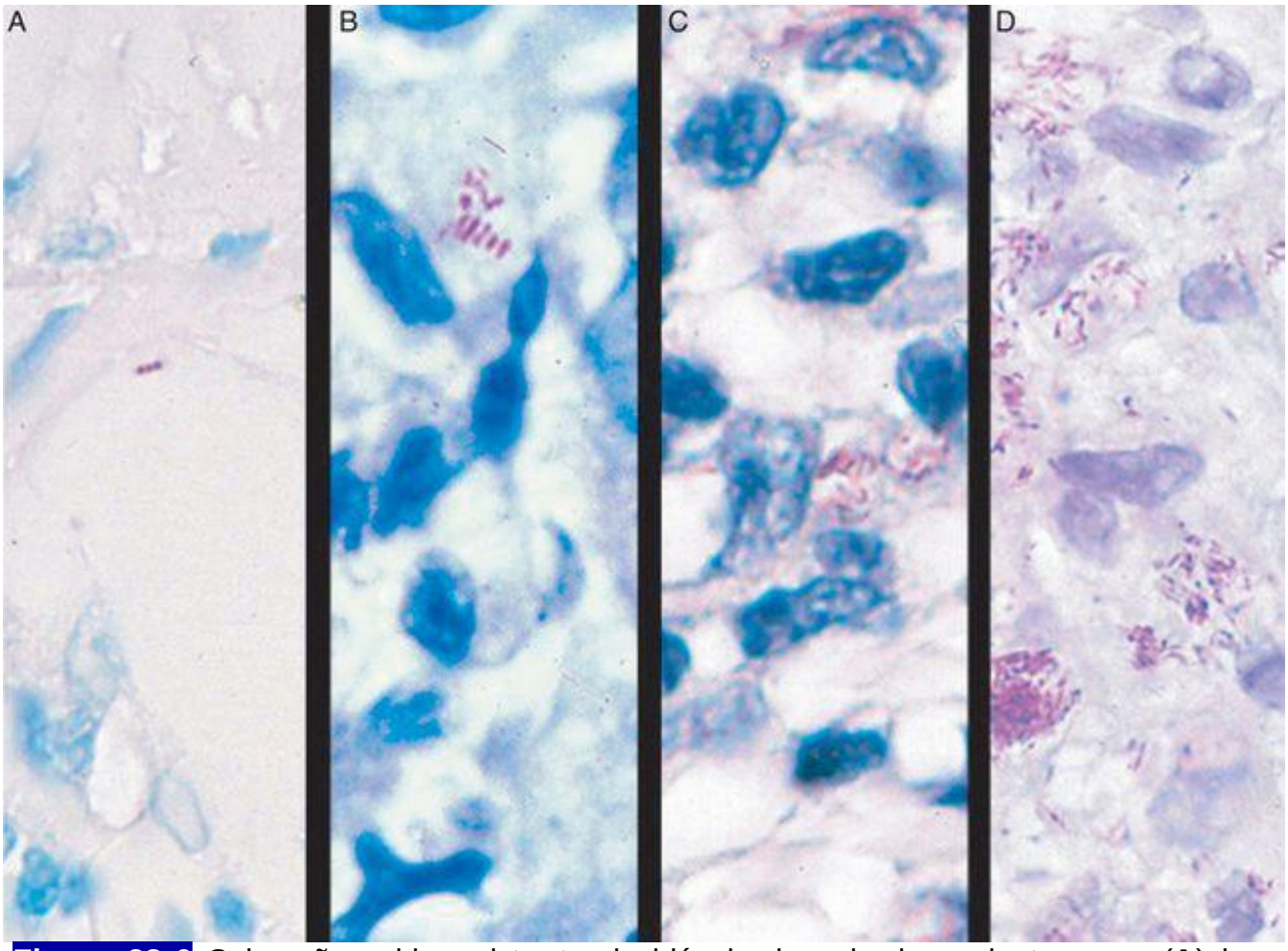


Figura 28-6 Coloração acidorresistente de biópsia de pele de pacientes com (**A**) lepra tuberculoide, (**B**) lepra tuberculoide *borderline*, (**C**) lepra lepromatosa *borderline* e (**D**) lepra lepromatosa. Observe que há um aumento progressivo de bactérias que vão da forma tuberculoide para a forma lepromatosa da doença.

Tabela 28-2 Manifestações Clínicas e Imunológicas da Lepra

Características	Lepra Tuberculoide	Lepra Lepromatosa
Lesões de pele	Placas pouco eritematosas ou hipopigmentadas com centros lisos e bordas elevadas demarcadas; dano do nervo periférico com perda sensorial completa; aumento visível dos nervos	Muitas máculas eritematosas, pápulas ou nódulos; destruição tecidual extensiva (p. ex., cartilagem nasal, ossos, orelhas); envolvimento nervoso difuso com perda sensorial desigual; ausência de aumento do nervo
Histopatologia	Infiltração de linfócitos ao redor de um centro de células epiteliais; presença de células de Langhans; Nenhum ou poucos bacilos acidorresistentes observados	Predominantemente macrófagos “espumosos” com poucos linfócitos; ausência de células de Langhans; numerosos bacilos acidorresistentes nas lesões e nos órgãos internos
Infectividade	Baixa	Alta
Resposta Imune		
Hipersensibilidade tardia	Reação à lepromina	Ausência de reação à lepromina
Níveis de Imunoglobulinas	Normal	Hipergamaglobulinemia
Eritema nodoso	Ausente	Usualmente presente

Os pacientes com **lepra lepromatosa** (**doença de Hansen multibacilar**), no entanto, apresentam uma forte resposta de anticorpos, mas um defeito específico na resposta celular aos antígenos de *M. leprae*. Assim, uma abundância de bactérias é tipicamente observada nos macrófagos da derme e nas células Schwann dos nervos periféricos. Como esperado, esta é a forma mais infecciosa de lepra.

Epidemiologia

A lepra foi primeiramente descrita em 600 aC e foi reconhecida em civilizações antigas da China, Egito e Índia. A **prevalência global da lepra caiu dramaticamente** com a disseminação da terapia eficaz. Mais de 5 milhões de casos foram documentados em 1985 e pouco mais de 300 mil casos 20 anos depois. Atualmente 90% dos casos são observados no Brasil, Madagascar, Moçambique, Tanzânia e Nepal. Nos Estados Unidos a lepra não é comum, com aproximadamente 100 casos relatados anualmente. A maioria dos casos ocorre na Califórnia, Texas, Havaí e, principalmente, em imigrantes do México, Ásia, África e Ilhas do Pacífico. A lepra é endêmica em **tatus** encontrados no Texas e Louisiana, produzindo uma doença semelhante à forma lepromatosa, altamente infecciosa em seres humanos. Desta maneira, estes tatus representam um foco endêmico nos Estados Unidos.

A lepra é disseminada por contato pessoa-pessoa. Embora a rota mais importante de infecção seja desconhecida, acredita-se que a lepra seja disseminada por aerossóis infecciosos, no contato da pele com secreções respiratórias ou exsudados de feridas. Numerosos isolados de *M. leprae* são encontrados em secreções nasais de pacientes com lepra lepromatosa.

***M. leprae* não cresce em culturas livres de células**. Desta forma, a confirmação laboratorial da lepra requer achados histopatológicos consistentes com a doença clínica, teste de pele de reatividade à lepromina ou a observação de bactérias acidorresistentes em material coletado das lesões.

Doença Clínica

A lepra é uma infecção crônica que afeta a pele e os nervos periféricos. O espectro do envolvimento tecidual é influenciado pelo estado imune do paciente, como observado previamente (Tab. 28-2). A forma tuberculoide (Fig. 28-7) é mais branda e caracterizada por manchas de pele não pigmentada. A forma lepromatosa (Fig. 28-8) está associada a lesões de pele desfigurantes, nódulos, placas, espessamento da derme e envolvimento da mucosa nasal.

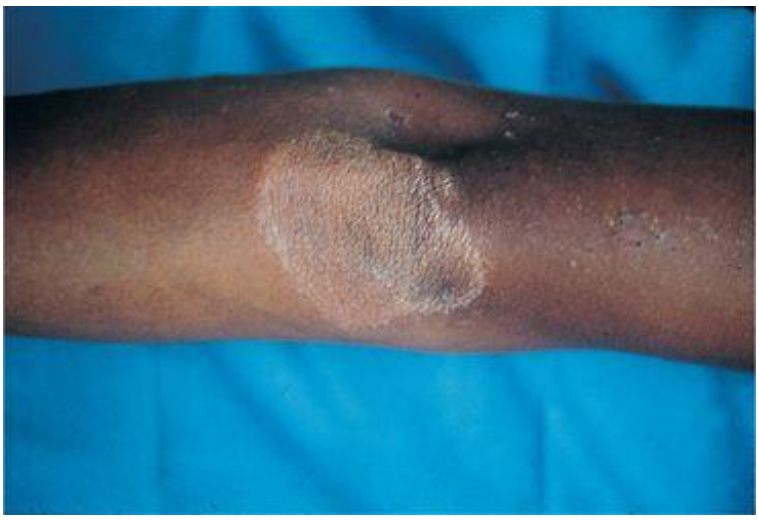


Figura 28-7 Lepra tuberculoide. As lesões tuberculoides primárias são caracterizadas por máculas anestéticas com hipopigmentação.

(De Cohen J, Powderly WB: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

Figura 28-8 Lepra lepromatosa. Infiltração difusa da pele por múltiplos nódulos de vários tamanhos, cada um deles com muitas amostras bacterianas.

(De Cohen J, Powderly WB: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

Complexo *Mycobacterium avium* (Quadro 28-4)

A classificação das micobactérias no complexo *M. avium* foi definida recentemente por estudos baseados no genoma.

Quadro 28-4 Resumo: Complexo *Mycobacterium avium*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos fracamente Gram positivos, fortemente acidorresistentes

Parede celular rica em lipídios

A doença se dá principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção

As doenças incluem: colonização assintomática, doença pulmonar crônica localizada, nódulo solitário ou doença disseminada, principalmente em pacientes com AIDS

Epidemiologia

Distribuição mundial, mas as doenças são vistas mais comumente em países nos quais a tuberculose é menos comum

Adquirida principalmente pela ingestão de água ou alimentos contaminados; a inalação de aerossóis infecciosos parece ter um papel menor na transmissão

Pacientes com maior risco para contrair a doença são os que estão imunocomprometidos (principalmente pacientes com AIDS) e os com doença pulmonar de longa duração

Diagnóstico

A microscopia e a cultura são testes sensíveis e específicos

Tratamento, Prevenção e Controle

As infecções devem ser tratadas por períodos prolongados com claritomicina ou azitromicina combinada com etambutol e rifabutina

A profilaxia em pacientes com AIDS que apresentam baixa contagem de células CD4+ consiste em claritromicina ou rifabutina, o que tem reduzido muito a incidência da doença

Atualmente são reconhecidas duas espécies, *M. avium* e *M. intracellulare* e mais quatro subspécies (Tab. 28-3). Muitos relatos na literatura se referem a *M. avium* ou ao complexo *M. avium* como a causa de uma doença humana. No entanto, parece que as cepas responsáveis pela doença aviária (*M. avium* subsp. *avium*) são diferentes das cepas responsáveis pela maioria das doenças humanas (*M. avium* subsp. *hominissuis*). *M. avium* subsp. *silvaticum* não é associado à doença humana. Uma grande parte da literatura debate o papel do *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, agente etiológico da enterite granulomatosa crônica em ruminantes (doença de Johne), como causa de enterite granulomatosa crônica em seres humanos (doença de Crohn). Estas diferenças taxonômicas são importantes para a compreensão da epidemiologia e patogênese das cepas do complexo *M. avium* responsáveis por doenças humanas. No entanto, para a finalidade deste texto, somente os termos *M. avium* (*M. avium* subsp. *hominissuis*) e complexo *M. avium* (*M. avium* e *M. intracellulare*) serão utilizados.

Tabela 28-3 Complexo *Mycobacterium avium*

Espécies	Doença
M. avium subsp. *avium*	Tuberculose aviária
M. avium subsp. *hominissuis*	Doenças em seres humanos e porcos; doença disseminada em pacientes infectados por HIV; linfadenite cervical em crianças; doença pulmonar crônica em adolescentes com fibrose cística e em adultos mais idosos com doença pulmonar de base
M. avium subsp. *silvaticum*	Doença em pombos torcazes
M. avium subsp. *paratuberculosis*	Doença entérica granulomatosa crônica em ruminantes (doença de Johne) e possivelmente em seres humanos (doença de Crohn)
M. intracellulare	Doença pulmonar em pacientes imunocompetentes

Ambas as espécies do complexo *M. avium* (*MAC*, termo comumente usado) produzem doença em pacientes imunocompetentes, enquanto a doença em pacientes infectados por HIV é principalmente causada por *M. avium*. Antes da epidemia de HIV, o isolamento do microrganismo em espécimes clínicos representava tipicamente colonização transitória ou, menos comumente, doença pulmonar crônica. A doença pulmonar em pacientes imunocompetentes se apresenta de três formas diferentes. Mais comumente, a doença é vista em homens de meia idade ou mais velhos, com histórico de tabagismo e **doença pulmonar de base**. Esses pacientes apresentam tipicamente uma doença cavitária de evolução lenta que se assemelha à tuberculose na radiografia de tórax. A segunda forma de infecção por MAC é observada em mulheres idosas e não fumantes. Essas pacientes apresentam infiltrados na língula ou no lobo médio, com aparência nodular desigual à radiografia e bronquestasia associada (brônquios cronicamente dilatados). Esta forma da doença é indolente e é associada à morbidade e mortalidade significantes. Foi postulado que esta forma da doença é vista principalmente em mulheres idosas que suprimem cronicamente seus reflexos de tosse, o que leva a alterações inflamatórias não específicas e as predispõem à superinfecção por MAC. Esta doença específica é chamada de **síndrome de Lady Windermere**, baseada na personagem principal de uma peça de Oscar Wilde. A terceira forma da doença por MAC é a formação de um **nódulo pulmonar solitário**. A espécie mais comum que causa este nódulo pulmonar solitário é o complexo *M. avium*.

Um novo espectro de doença desenvolvida em **pacientes com AIDS** tornou a infecção pelo complexo *M. avium* a doença micobacteriana mais comum nestes pacientes, nos Estados Unidos. As infecções por *M. tuberculosis* são mais comuns em continentes como a África e a

Ásia, onde a tuberculose é altamente endêmica. Ao contrário do que é observado em outros grupos de pacientes, a infecção causada por MAC em pacientes com AIDS é tipicamente disseminada, afetando praticamente todos os órgãos (Caso Clínico 28-2). A magnitude destas infecções é notável, os tecidos de alguns pacientes ficam repletos de micobactérias (Fig. 28-9) e existem centenas a milhares de bactérias por mililitro de sangue. Infecções disseminadas fulminantes causadas por *M. avium* são comuns em pacientes que estão em estágios terminais de distúrbios imunes, quando a contagem de linfócitos T CD4+ cai abaixo de 10 células/mm^3. Felizmente, com a terapia antirretroviral mais eficaz e o uso rotineiro de antibióticos profiláticos, a doença por MAC em pacientes infectados por HIV tornou-se menos comum. Embora alguns pacientes com AIDS desenvolvam a doença por *M. avium* após exposição pulmonar (p. ex., aerossóis infecciosos de água contaminada), acredita-se que a maior parte das infecções se desenvolva após ingestão da bactéria. Ainda não foi demonstrada a transmissão pessoa-pessoa. Após exposição às micobactérias, a replicação é iniciada nos linfonodos localizados e segue-se a disseminação sistêmica. As manifestações clínicas da doença não são observadas até que resultados da replicação bacteriana comecem a causar dano à função normal do órgão.

Caso Clínico 28-2 Infecção por *Mycobacterium avium* em um paciente com AIDS

Woods e Goldsmith (Chest 95:1355-1357, 1989) descreveram um paciente com AIDS avançada que morreu por infecção disseminada causada por *M. avium*. O paciente era um homem de 27 anos de idade que apresentou em outubro de 1985 uma história de 2 semanas de dispneia progressiva e uma tosse sem secreção. No lavado bronco-alveolar foi detectado *Pneumocystis* e a sorologia confirmou que o paciente era HIV positivo. O paciente foi tratado com sucesso com sulfametoxazol-trimetoprim e recebeu alta e permaneceu estável até maio de 1987, quando apresentou febre persistente e dispneia. Na semana seguinte desenvolveu dor torácica subesternal e um atrito de fricção pericárdica. O ecocardiograma revelou uma pequena efusão. O paciente deixou o hospital contra a vontade médica, mas retornou uma semana mais tarde com uma tosse persistente, febre, dor no tórax e no braço esquerdo. Foi realizado um diagnóstico de periocardiocentese e 220mL de fluido foi aspirado. O quadro foi suspeito de pericardite tuberculosa e foi iniciada terapia antimicobacteriana apropriada. No entanto, nas 3 semanas seguintes o paciente desenvolveu falha cardíaca progressiva e faleceu. *M. avium* foi isolado do fluido pericárdico, como das culturas de autópsia do pericárdio, baço, fígado, glândulas adrenais, rins, intestino delgado, linfonodos e glândula pituitária. Embora a pericardite causada por *M. avium* não fosse comum, a extensiva disseminação de micobactérias em pacientes com AIDS avançada era comum antes da profilaxia com azitromicina tornar-se amplamente utilizada.

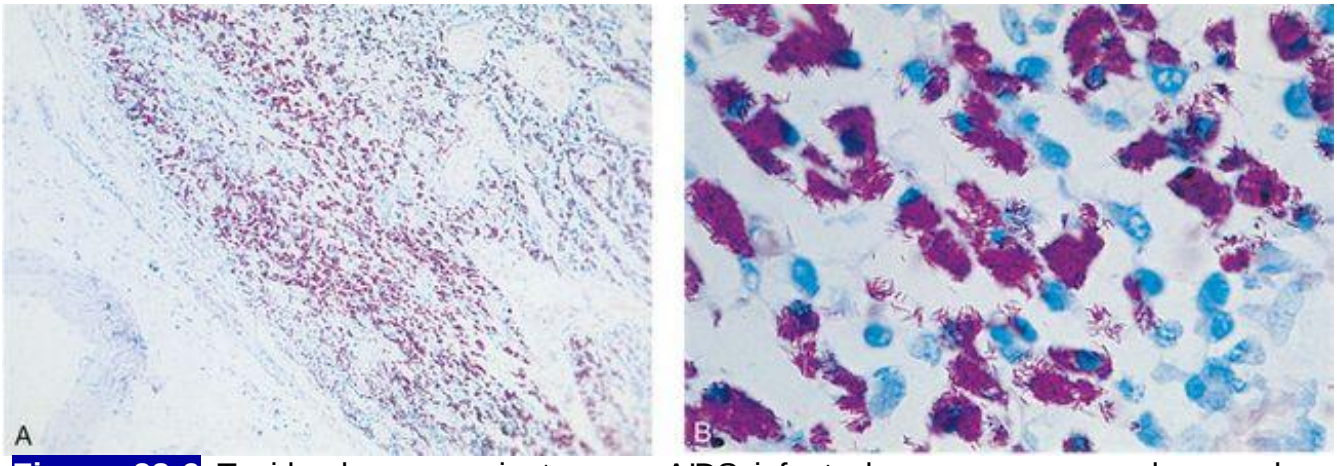


Figura 28-9 Tecido de um paciente com AIDS infectado por uma cepa do complexo *Mycobacterium avium*, fotografado no aumento baixo (**A**) e alto (**B**)

Outras Micobactérias de Crescimento Lento

Muitas outras bactérias de crescimento lento podem causar doença humana e novas espécies continuam a ser relatadas, à medida que métodos melhores para testes diagnósticos são desenvolvidos. O espectro das doenças produzidas por estas micobactérias também continua a se expandir, em grande parte porque doenças como a AIDS, doenças malignas e transplantes de órgãos com uso concomitante de fármacos imunossupressores, criaram uma população de pacientes que são altamente suscetíveis aos organismos com potencial de virulência relativamente baixo. Algumas micobactérias produzem doença idêntica à tuberculose pulmonar (p. ex., *Mycobacterium bovis, M. kansasii*). Outras espécies comumente causam infecções localizadas no tecido linfático (*Mycobactrium scrofulaceum*) e outras, que crescem muito bem em temperaturas frias, produzem principalmente infecções cutâneas (*Mycobacterium ulcerans, Mycobacterium marinum, Mycobacterium haemophilum*). No entanto, doença disseminada em pacientes com AIDS pode ser observada por estas mesmas espécies, assim como por micobactérias pouco comuns (p. ex., *Mycobacterium genavense, Mycobacterium simiae*).

Muitas destas micobactérias são isoladas da água e do solo e ocasionalmente de animais infectados (p. ex., *M. bovis* causa a tuberculose bovina). Frequentemente, o isolamento destas micobactérias em espécimes clínicos representa simplesmente uma colonização transitória por microrganismos que o paciente ingeriu. A disseminação destas micobactérias pessoa-pessoa, com exceção de *M. bovis* e outras micobactérias intimamente relacionadas a *M. tuberculosis*, não ocorre.

Micobactérias de Crescimento Rápido

Como discutido, as micobactérias ditas não tuberculosas podem ser subdivididas em espécies que crescem lentamente e espécies que crescem rapidamente (crescimento em menos de 7 dias). Esta distinção é importante porque as espécies que crescem rapidamente apresentam um potencial de virulência relativamente baixo, coram-se de forma irregular com as colorações tradicionais para micobactérias e são mais suscetíveis aos antibióticos antibacterianos "convencionais" do que aos fármacos usados para tratar outras infecções causadas por micobactérias. As espécies mais comuns associadas à doença são *M. fortuitum, M. chelonae* e *M. abscessus*.

As micobactérias de crescimento rápido raramente causam infecções disseminadas. Ao contrário, estão mais associadas a doenças que ocorrem após as bactérias serem introduzidas em tecidos subcutâneos profundos, por trauma ou infecções iatrogênicas (p. ex., infecções associadas ao uso de cateter venoso, curativos contaminados, dispositivos prostéticos tais como válvula cardíaca, diálise peritoneal ou broncoscopia). Infelizmente a incidência de infecções por estes microrganismos está crescendo, à medida que procedimentos mais invasivos vêm sendo realizados em pacientes hospitalizados e os cuidados médicos avançados vêm aumentando a expectativa de vida de pacientes imunocomprometidos. Infecções oportunistas em pacientes imunocompetentes têm se tornado um lugar comum (Caso Clínico 28-3).

Caso Clínico 28-3 Infecções Micobacterianas Associadas a Salões de Beleza

Em setembro de 2000 (N Engl J Med 346:1366-1371, 2002), um clínico relatou ao Departamento de Saúde da Califórnia o caso de quatro pacientes do sexo feminino que desenvolveram furunculose nas extremidades inferiores. Cada uma apresentou pequenas pápulas eritomatosas que se tornaram bolhas grandes, moles, flutuantes e violáceas no decorrer de várias semanas. As culturas bacterianas das lesões foram negativas, e as pacientes não responderam à terapia antibacteriana. Todas frequentaram manicures de um mesmo salão de beleza, antes do aparecimento dos furúnculos. Como resultado da investigação no salão de beleza, um total de 110 pacientes com furunculose foi identificado. *Mycobacterium fortuitum* foi detectado nas culturas de lesões de 32 pacientes, como nos banhos para os pés usados pelas pacientes antes do serviço de pedicure. A depilação das pernas foi identificada como um fator de risco para a doença. Surtos semelhantes foram relatados na literatura, o que ilustra os riscos associados à contaminação de águas com micobactérias de crescimento rápido, as dificuldades de confirmar estas infecções por culturas bacterianas de rotina incubadas somente por 1 a 2 dias e a necessidade de terapia antibiótica eficaz.

Diagnóstico Laboratorial

Os vários testes de laboratório usados no diagnóstico das infecções causadas por micobactérias estão citados no Quadro 28-5.

Quadro 28-5 Diagnóstico Laboratorial da Doença Micobacteriana

Imunodiagnóstico

Teste cutâneo da tuberculina

Ensaios de liberação de IFN-g

Microscopia

Coloração de Ziehl-Neelsen (acidorresistência a quente)

Coloração de Kinyoun (acidorresistência a frio)

Coloração acidorresistente do fluorocromo de Truant

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAA)

Cultura

Meio contendo ovo ou agar

Meio líquido

Identificação

Propriedades morfológicas

Reações bioquímicas

Análise dos lipídios da parede celular

Sondas de ácidos nucleicos

Sequenciamento de ácidos nucleicos

Imunodiagnóstico

O teste tradicional para avaliar a resposta do paciente à exposição a *M. tuberculosis* é o **teste cutâneo da tuberculina**. A reatividade a uma injeção intradérmica de antígenos micobacterianos pode diferenciar entre indivíduos infectados e não infectados, com uma reação PPD positiva, desenvolvendo-se 3 a 4 semanas após exposição a *M. tuberculosis*. A única evidência de infecção por micobactérias na maioria dos pacientes é uma reação positiva ao teste cutâneo, que persiste por toda a vida e a evidência radiográfica de calcificação de granuloma nos pulmões ou em outros órgãos.

Os métodos de preparação de antígenos mudaram muitas vezes desde que os testes foram inicialmente desenvolvidos. O antígeno tuberculino atualmente recomendado é um **derivado de proteína purificada (PPD)** da parede celular da micobactéria. No teste, uma quantidade específica de antígeno (cinco unidades de tuberculina de PPD) é inoculada na camada intradérmica da pele do paciente. A reatividade do teste da pele (definida pelo diâmetro da área de endurecimento da pele) é medida 48 horas mais tarde. Os pacientes anérgicos (não reativos a antígenos; particularmente verdadeiro em pacientes infectados pelo HIV) infectados por *M. tuberculosis*, podem não apresentar uma resposta ao teste de pele da tuberculina. Desse modo, antígenos controle devem sempre ser utilizados com testes de tuberculina. Além disso, indivíduos de países em que a vacinação com *M. bovis* atenuado (bacilo de Calmette-Guérin [**BCG**]) é amplamente aplicada (veja a discussão intitulada **imunoprofilaxia** posteriormente neste capítulo) terão uma reação positiva ao teste de pele.

Recentemente, **ensaios *in vitro* de liberação de IFN-**g foram introduzidos como alternativas sensíveis e mais específicas que o teste de pele PPD. Os testes usam imunoensaios para medir IFN-g produzido por células T sensibilizadas, estimuladas por antígenos de *M. tuberculosis*. Se um indivíduo foi previamente infectado por *M. tuberculosis*, a exposição aos antígenos de *M. tuberculosis* das células T sensibilizadas presentes no sangue resulta na produção de IFN-g. Os testes iniciais que usavam PPD como antígenos estimuladores estão sendo substituídos por testes de segunda geração que utilizam antígenos mais específicos (*i.e.*, 6kDa alvo antigênico precocemente secretado [**ESAT-6**], proteína 10 de filtrado de cultura [**CFP-10**]). Embora os testes sejam sensíveis e altamente específicos, atualmente a complexidade técnica limita a utilização dos mesmos. No entanto, modificações com potencial destes testes estão sendo introduzidas, e os ensaios de liberação de IFN-g poderão se tornar alternativas promissoras ao teste cutâneo PPD.

A reatividade à **lepromina**, que é preparada a partir de *M. leprae* inativada, é viável para confirmar o diagnóstico clínico da lepra tuberculoide. Um endurecimento papular se desenvolve 3 a 4 dias após a injeção intradérmica do antígeno. Esse teste não é útil para a identificação de pacientes com lepra lepromatosa, pois esses são anérgicos ao antígeno.

Microscopia

A detecção microscópica de bactérias acidorresistentes em espécimes clínicos é a maneira mais rápida de confirmar a doença causada por micobactérias. O espécime é corado com carbofucsina (métodos de **Ziehl-Neelsen** ou **Kinyoun**) ou com corantes fluorescentes auramina-rodamina (método **fluorocromo** de Truant) descorados com uma solução álcool-ácido e contracorados. Os espécimes são examinados ao microscópio óptico ou, se corantes fluorescentes foram usados, ao microscópio fluorescente (Fig. 28-10). O método fluorocromo de Truant é o mais sensível, porque o espécime pode ser examinado rapidamente com aumento baixo, para a pesquisa de áreas fluorescentes e a presença das bactérias acidorresistentes pode ser confirmada com aumentos maiores.

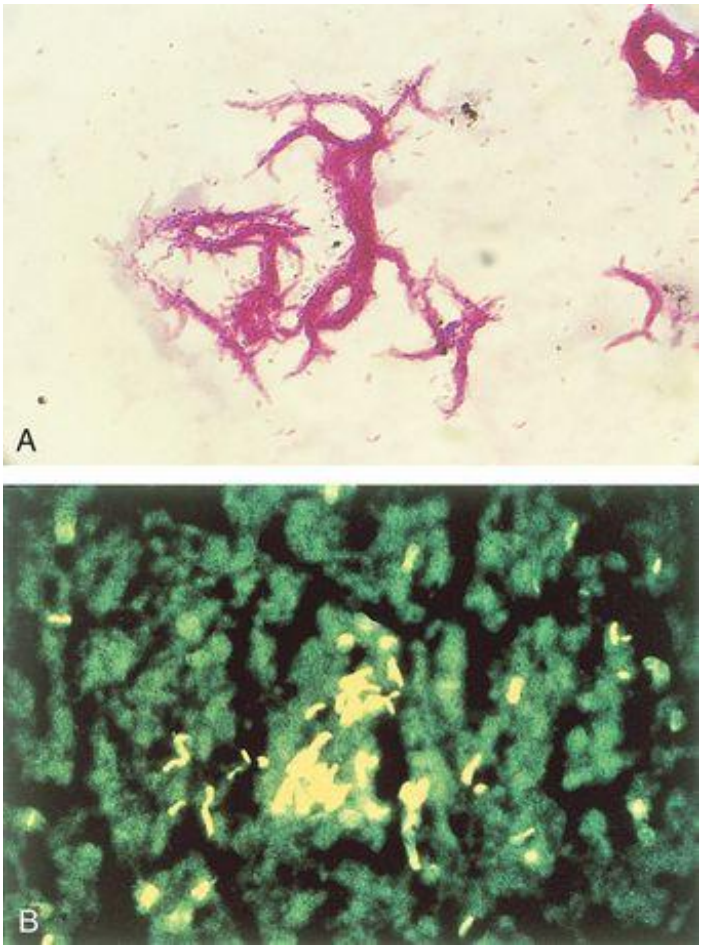


Figura 28-10 Coloração acidorresistente de *Mycobacterium tuberculosis*. **A**, Corado com carbofuccina, utilizando o método de Kinyoun. **B**, Corado com corantes fluorescentes auramina-rodamina, utilizando o método do fluorocromo de Truant.

Bactérias acidorresistentes são detectadas por microscopia em aproximadamente metade dos espécimes positivos nas culturas. A sensibilidade deste teste é alta para (1) espécimes respiratórios (principalmente para pacientes com evidência radiográfica de cavidade) e (2) espécimes nas quais muitas colônias de micobactérias são isoladas na cultura. Assim, uma coloração acidorresistente positiva corresponde a uma alta infectividade. A especificidade do teste é maior que 95% se realizado cuidadosamente.

Testes com Ácidos Nucleicos

Embora a microscopia forneça informação útil relacionada à presença da doença por micobactérias, a mesma não pode identificar a espécie de micobactéria envolvida na doença. Por esta razão, foram desenvolvidas técnicas para detectar sequências específicas de ácidos nucleicos de micobactérias, presentes em espécimes clínicos. Empresas comerciais desenvolveram uma variedade de técnicas de amplificação de ácidos nucleicos (p. ex., reação em cadeia da polimerase), uma vez que um número baixo de bactérias pode estar presente. Os testes comerciais atualmente utilizados são específicos para *M. tuberculosis*, mas são relativamente, pouco sensíveis. Além disso, estes testes não podem ser utilizados para identificar micobactérias diferentes de *M. tuberculosis*. Recentemente, um gene que codifica uma proteína secretora, **gene *Sec* A**, foi demonstrado ser um alvo útil para identificar diretamente todas as espécies de micobactérias em espécimes clínicos. O gene pode ser amplificado por PCR e a porção espécie-específica do gene é sequenciada para determinar a identidade da amostra. O teste é altamente sensível e específico para espécimes com esfregaços acidorresistentes positivos, mas é relativamente insensível para espécimes com esfregaços negativos. No entanto, com futuros aprimoramentos, estes testes irão provavelmente se tornar ferramentas úteis para o diagnóstico.

Cultura

As micobactérias que causam doença pulmonar, principalmente em pacientes com evidência de cavidade, são abundantes nas secreções respiratórias (p. ex., 10^8 bacilos por mL ou mais). A recuperação do microrganismo é virtualmente assegurada em pacientes, nos quais espécimes respiratórios são coletados pela manhã, durante 3 dias consecutivos. No entanto, é mais difícil isolar *M. tuberculosis* e espécies de NTM de outros sítios, em pacientes com doença disseminada (p. ex., trato genitourinário, tecidos, fluido cerebrospinal). Nesses casos, espécimes adicionais devem ser coletados para cultura e um grande volume de fluido ou tecido deve ser processado.

O crescimento *in vitro* de micobactérias é complicado pelo fato de a maioria das amostras crescer lentamente e poder ser obscurecida por bactérias de crescimento rápido, que normalmente colonizam os indivíduos. Assim, espécimes como escarro são inicialmente tratados com um **reagente descontaminante** (p. ex., hidróxido de sódio a 2%) para remover os organismos que poderiam confundir o resultado. As micobactérias podem tolerar tratamentos breves com álcali, que mata as bactérias de crescimento rápido e permite o isolamento seletivo das micobactérias. A descontaminação estendida do espécime mata as micobactérias, assim sendo o procedimento não é realizado quando espécimes normalmente estéreis estão sendo testados ou quando são esperados números baixos de micobactérias.

No passado, quando espécimes clínicos eram inoculados em meios com base de ovo (p. ex., **Löwentein-Jensen**) ou meios com agar (p. ex., **Middlebrook**), precisava-se de muito tempo para que fossem detectadas *M. tuberculosis*, complexo *M. avium* e outras micobactérias de crescimento lento importantes. No entanto, este tempo foi encurtado com o uso de **culturas em caldo**, especialmente formuladas para o crescimento rápido da maioria das micobactérias. Assim, o tempo médio para crescer micobactérias diminuiu de 3 a 4 semanas para 10 a 14 dias.

A habilidade de *M. tuberculosis* crescer rapidamente em caldos de culturas vem sendo usada para realizar testes rápidos de suscetibilidade. A técnica **MODS ou** observação microscópica **de** suscetibilidade aos fármacos utiliza um microscópio óptico invertido para examinar placas de 24 orifícios inoculadas com caldo Middlebrook e escarro descontaminado. O crescimento de *M. tuberculosis* geralmente pode ser detectado como emaranhados ou cordas de crescimento no caldo, após uma semana de incubação. A incorporação de antimicobacterianos no caldo possibilita testes de suscetibilidade diretos e rápidos com espécimes clínicos. Esta técnica está amplamente disponível em laboratórios clínicos de países desenvolvidos, onde cepas resistentes de *M. tuberculosis* são disseminadas.

Algumas espécies de micobactérias (p. ex., *M. marinum, M. haemophilum, M. malmoense*) requerem uma **temperatura de incubação** mais baixa do que a usada para a maioria das culturas (30°C *versus* 37°C). Além disso, *M. haemophilum* requer para o crescimento a suplementação do meio com hemina ou citrato férrico de amônio. Pelo fato das infecções por estes microrganismos envolverem caracteristicamente a pele, a maioria dos laboratórios cultiva espécimes superficiais (p. ex., biópsia de pele e lesões) em ambas as temperaturas 30°C e 37°C e em pelo menos um meio suplementado com hemina.

Identificação

As propriedades de crescimento e a morfologia colonial podem ser utilizadas para a identificação preliminar das espécies mais comuns de micobactérias. A identificação definitiva de micobactérias pode ser realizada utilizando uma variedade de técnicas. O método padrão para a identificação das micobactérias eram os testes bioquímicos. Porém, muitos laboratórios não realizam mais estes testes, devido à demora de pelo menos 3 semanas para a liberação dos resultados. As espécies de micobactérias também podem ser identificadas pela análise cromatográfica dos lipídios característicos da parede celular. No entanto, uma **sonda molecular espécie-específica** é a forma mais usada para identificar as micobactérias comumente isoladas (p. ex., *M. tuberculosis, M. avium, M. kansasii*). Pelo fato de um número grande de microrganismos estar presente após o cultivo *in vitro*, não é necessário amplificar a sequência genômica-alvo. Os sistemas de identificação com sonda, preparados comercialmente e utilizados atualmente são rápidos (o teste leva 2 horas), sensíveis e específicos. As espécies de micobactérias para as quais não há sondas disponíveis podem ser identificadas pela amplificação de sequências de genes espécie-específicos (*i. e*., regiões hipervariáveis do gene rRNA 16S ou gene *Sec*A), seguida da análise das sequências para identificar as espécies. Este método é rápido (1 a 2 dias), não é limitado pela disponibilidade de sondas específicas e é provável que substitua os métodos alternativos de identificação.

Tratamento, Prevenção e Controle

Tratamento

O tratamento e a profilaxia para as infecções causadas por micobactérias, diferente dos tratamentos para outras infecções bacterianas, são complexos e controversos. As micobactérias de crescimento lento são resistentes à maioria dos antibióticos utilizados para tratar outras infecções bacterianas. Em geral, os pacientes devem tomar múltiplos antibióticos por um longo período de tempo (p. ex., um mínimo de 6 a 9meses), ou cepas resistentes aos antibióticos se desenvolverão. Em 1990, os primeiros surtos de ***M. tuberculosis* multirresistentes** (**MDR-TB**; resistentes pelo menos à isoniazida e à rifampina) foram observados em Nova York e Miami, em pacientes com AIDS e em indivíduos sem lugar para morar. Embora estas cepas sejam relativamente incomuns nos Estados Unidos, a prevalência está aumentando dramaticamente nos países em desenvolvimento. Além disso, novas cepas d e *M. tuberculosis* resistentes, chamadas de **TB extremamente resistentes aos antimicrobianos (XDR)**, emergiram em cada região do mundo. Essas cepas definidas como MDR-TB, resistentes a fluoroquinolonas e a pelo menos um dos fármacos de segunda linha (p. ex., canamicina, amicacina, capreomicina), são potencialmente intratáveis.

O número de regimes e tratamento que foram desenvolvidos para cepas de *M. tuberculosis* sensíveis e resistentes aos antimicrobianos é muito complexo para ser revisto aqui de forma abrangente (consulte o site do CDC, http://www.cdc.gov/tb/). A maioria dos regimes de tratamento se inicia com 2 meses de isoniazida (INH), etambutol, pirazinamida e rifampina, seguido por 4 a 6 meses de INH e rifampina, ou combinação de fármacos alternativos. As modificações para este esquema de tratamento são determinadas pela suscetibilidade da cepa e pela população de pacientes.

Na última década, o tratamento da lepra reduziu com sucesso a incidência total da doença. Os regimes de tratamento preconizados pela OMS (http://www.WHO.int/lep) se distinguiram entre pacientes com a forma tuberculoide (paucibacilar) e com a forma lepromatosa (multibacilar). A forma paucibacilar deve ser tratada com rifampicina e dapsona por um período mínimo de 6 meses, enquanto a forma multibacilar deve ter a clofazimina adicionada ao regime e o tratamento deve ser estendido por 12 meses. Nota-se que muitos investigadores acreditam que uma terapia antimicrobiana mais longa seja necessária para um ótimo controle dos pacientes. Tratamento com um único antimicrobiano não deve ser utilizado para nenhuma das formas.

M. avium e muitas outras micobactérias de crescimento lento são resistentes aos agentes antimicobacterianos comuns. Um regime atualmente recomendado para as infecções causadas por MAC é claritromicina ou azitromicina combinada com entambutol e rifampina. A Sociedade Americana Torácica recomendou que as infecções causadas por *M. kansasii* sejam tratadas com INH, rifampina e etambutol. A duração do tratamento e a seleção final dos antimicobacterianos para tais espécies e outras micobactérias de crescimento lento são determinadas por: (1) resposta à terapia; e (2) interações entre estes fármacos e outros fármacos que o paciente esteja recebendo (p. ex., interações tóxicas e farmacocinéticas desses fármacos com inibidores de protease usados para tratar infecção por HIV). Para obter informações adicionais sobre o tratamento de infecções por micobactérias que não *M. tuberculosis*, consulte a publicação de Griffith et al., citada na bibliografia deste capítulo.

Diferente das micobactérias de crescimento lento, as espécies de crescimento rápido são resistentes à maioria dos agentes antimicobacterianos usados comumente, mas são suscetíveis aos seguintes antimicrobianos: claritromicina, imipenem, amicacina, cefoxitina e sulfonamidas. A atividade específica destes agentes deve ser determinada utilizando-se testes *in vitro*. Pelo fato das infecções por estas micobactérias serem geralmente confinadas à pele ou estarem associadas a dispositivos prostéticos, o desbridamento cirúrgico ou a remoção da prótese também são necessários.

Quimioprofilaxia

A Sociedade Americana Torácica e os Centros para o Controle e Prevenção de Doenças examinaram um número de regimes profiláticos para serem utilizados em pacientes (HIV positivos e HIV negativos) expostos a *M. tuberculosis*. O regime por eles recomendado inclui dose diária ou duas vezes na semana de INH por um período de 6 a 9 meses, ou doses diárias de rifampina por 4 meses. Os pacientes que foram expostos a *M. tuberculosis* resistente aos antimicrobianos devem receber profilaxia com pirazinamida combinada com entambutol ou levofloxacina, por 6 a 12 meses. Pelo fato de as infecções causadas pelo complexo *M. avium intracellulare* serem comuns em pacientes com AIDS, a quimioprofilaxia é recomendada em pacientes com contagem de células T CD4+ menores que 50 células/μL. Nestes casos, é recomendada a profilaxia com claritromicina ou azitromicina. Combinações destes antimicrobianos com rifabutina são usadas, mas geralmente são mais tóxicas e não são mais eficazes que um agente único. A quimioprofilaxia não é necessária para pacientes com outras infecções micobacterianas.

Imunoprofilaxia

A vacinação com *M. bovis* atenuado BCG é comumente usada em países nos quais a tuberculose é endêmica e responsável por morbidade e mortalidade significativas. Essa prática pode levar a uma redução importante na incidência da tuberculose se a BCG é administrada em indivíduos jovens (é menos eficaz em adultos). Infelizmente, a imunização com BCG não pode ser utilizada em pacientes imunocomprometidos (p. ex., aqueles com infecção por HIV). Assim, é improvável que seja útil em países com uma alta prevalência de infecções por HIV (p. ex., África) ou para controlar a disseminação de *M. tuberculosis* resistente aos antimicrobianos. Outro problema relacionado à imunização com BCG é que uma reação de pele positiva se desenvolve em todos os pacientes e pode persistir por um período prolongado. Esta reação de pele é geralmente baixa e, portanto, uma reação forte ao teste (p. ex., .20mm de endurecimento) deve ser considerada significativa. Os testes de liberação de IFN-g não são afetados pela imunização com BCG, podendo ser usados na triagem desta população. A imunização com BCG não é amplamente utilizada nos Estados Unidos ou em outros países nos quais a incidência da tuberculose é baixa.

Controle

Pelo fato de um terço da população mundial estar infectada por *M. tuberculosis*, a erradicação dessa doença é pouco provável. No entanto, a doença pode ser controlada com uma combinação de vigilância ativa, intervenções terapêuticas e profiláticas, e cuidadoso monitoramento dos casos.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 35 anos de idade e história de uso de drogas intravenosas deu entrada em uma clínica de saúde local com queixa de uma tosse seca persistente, febre, mal-estar e anorexia. No período de 4 semanas, ele havia perdido aproximadamente 7 kg e sofrido calafrios e suores. Uma radiografia torácica revelou infiltrados desiguais nos campos pulmonares. Pelo fato de o paciente não apresentar uma tosse produtiva, a coleta de escarro foi induzida e a amostra coletada submetida a culturas de fungos, bactérias, micobactérias e pesquisa de *Pneumocystis*. Foram realizadas culturas de sangue e testes sorológicos para infecções por HIV. Foi detectado que o paciente era HIV positivo. Os resultados de todas as culturas foram negativos após 2 dias de incubação, no entanto, as culturas foram positivas para *M. tuberculosis* após incubação adicional de uma semana.

1. O que é característico da parede celular das micobactérias e que efeitos biológicos podem ser atribuídos à estrutura da parede celular?

1. As micobactérias são as únicas bactérias que possuem na parede celular, longas cadeias (60 a 90 carbonos) de ácidos micólicos. Esta característica única das micobactérias de possuírem uma complexa parede celular rica em lipídios é responsável por muitas das propriedades características da bactéria, como, por exemplo: acidorresistência, resistência a detergentes, resistência aos antibióticos antibacterianos comuns e resistência a vários procedimentos de desinfecção.

2. Por que *M. tuberculosis* é mais virulento em pacientes com infecção por HIV do que em pacientes sem infecção por HIV?

2. Em um hospedeiro normal, a replicação de micobactérias estimula as células T “helper” (CD4+) e citotóxicas (CD8+). As células T liberam interferon gama e outras citocinas que ativam os macrófagos e que podem destruir as micobactérias. Como os pacientes HIV positivos possuem uma contagem baixa de células T CD4+, a destruição de micobactérias por via imunológica é diminuída. Por isto, estes pacientes possuem uma progressão mais rápida da doença quando comparados a pacientes imunocompetentes.

3. Qual é a definição de um resultado de teste de pele (PPD) positivo para *M. tuberculosis*?

3. A população de pacientes é que determina a definição de um teste PPD positivo. Para pacientes com um sistema imunológico prejudicado (exemplo: por infecção causada pelo HIV ou durante recebimento de terapia imunossupressora), para pessoas que tiveram contato recente com pacientes com tuberculose, ou exposição à micobactéria num passado distante, uma reação de 5 mm ou mais de endurecimento da pele é considerada positiva. Uma reação de 10 mm ou mais é considerada positiva em imigrantes recentes de países com alta prevalência de tuberculose, ou em usuários de drogas intravenosas, residentes e funcionários de locais considerados de alto-risco, pessoas com condições de alto risco e crianças expostas a adultos considerados de alto risco. Uma reação de 15 mm ou maior é considerada positiva

em pessoas com baixo risco para adquirir tuberculose.

4. Quais as duas apresentações clínicas das infecções por *M. leprae*? Como os testes diagnósticos diferem para estas duas apresentações?

4. A apresentação clínica da lepra varia da forma tuberculoide à forma lepromatosa. A lepra tuberculoide é uma forma mais branda, caracterizada por manchas da pele não pigmentadas. Os pacientes apresentam uma forte reação imune celular (teste da pele positivo), com muitos linfócitos e granulomas presentes nos tecidos e relativamente poucos bacilos. A forma lepromatosa está associada a lesões de pele desfigurantes, nódulos, placas, espessamento da derme e envolvimento da mucosa nasal. Os pacientes com lepra lepromatosa apresentam uma forte resposta de anticorpos, mas um defeito específico na resposta imune celular aos antígenos de *M. leprae*. Como a resposta imune celular é responsável pela eliminação dos bacilos, este defeito é associado a uma abundância de bactérias tipicamente observada nos tecidos infectados.

5. Por que as infecções por micobactérias têm que ser tratadas com múltiplos fármacos por 6 meses ou mais?

5. As micobactérias são organismos que se multiplicam relativamente devagar. Assim, terapias prolongadas são necessárias para eliminarem as bactérias. Acredita-se que aproximadamente uma a cada 100.000 ou 1.000.000 de bactérias irá desenvolver resistência a um antibiótico utilizado no tratamento. Como números grandes de bacilos estão tipicamente presentes numa infecção, se um único antibiótico for utilizado no tratamento, a resistência poderá se desenvolver rapidamente. Por isto, os pacientes devem tomar múltiplos antibióticos por um longo período de tempo, garantindo o sucesso no tratamento de infecções causadas por micobactérias.

Bibliografia

Appelberg R. Pathogenesis of Mycobacterium avium infection. *Immunol Res*. 2006;35:179-190.

Bottasso O, et al. The immuno-endocrine component in the pathogenesis of tuberculosis. *Scan J Immunol*. 2007;66:166-175.

Centers for Disease Control and Prevention: Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons—2002 recommendations of the U.S. Public Health Service and the Infectious Diseases Society of America. Morb Mortal Wkly Rep (MMWR) 51 No. RR-8):1–53, 2002.

De Groote M, Huitt G. Infections due to rapidly growing mycobacteria. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1756-1763.

Drobniewski F, et al. Antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:1144-1156.

Flynn JL, Chan J. Immune evasion by Mycobacterium tuberculosis: Living with the enemy. *Curr Opin Immunol*. 2003;15:450-455.

Griffith D, et al. An official ATS/IDSA statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:367-416.

Jacobson K, et al. Mycobacterium kansasii infections in patients with cancer. *Clin Infect Dis*. 2000;30:965-969.

Karakousis PC, Bishai WR, Dorman S, Microreview E. Mycobacterium tuberculosis cell envelope lipids and the host immune response. *Cell Microbiol*. 2004;6:105-116.

Shah MK, et al. Mycobacterium haemophilum in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis*. 2001;33:330-337.
Smith I. Mycobacterium tuberculosis pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:463-496.
Turenne C, et al. Mycobacterium avium in the postgenomic era. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:205-229.
Ulrichs T, Kaufmann S. New insights into the function of granulomas in human tuberculosis. *J Pathol*. 2006;208:261-269.
Wells C, et al. HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis — the perfect storm. *J Infect Dis*. 2007;196:S86-S107.
Yew W, Leung C. Update in tuberculosis 2006. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:541-546.

29 Neisseria e Bactérias Relacionadas

Os três gêneros de bactérias de importância médica na família Neisseriaceae são ***Neisseria, Eikenella*** e ***Kingella*** (Quadro 29-1). Outros gêneros da família são raramente associados à doença humana e não serão discutidos neste capítulo. O gênero *Neisseria* consiste de 10 espécies encontradas em humanos, sendo duas delas, ***Neisseria gonorrhoeae*** e ***Neisseria meningitidis***, patógenos estritos de humanos. As demais espécies são comuns na superfície de mucosas da orofaringe e nasofaringe e ocasionalmente colonizam as mucosas anogenitais. Embora as doenças causadas por *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* sejam bem conhecidas, as outras espécies de *Neisseria* têm virulência limitada e geralmente causam doença somente em pacientes comprometidos. ***Eikenella corrodens*** e ***Kingella kingae*** colonizam a orofaringe humana e são patógenos oportunistas.

Quadro 29-1 *Neisseriaceae* Importantes

Microrganismo	Origem Histórica
Neisseria	Nomeada em homenagem ao médico alemão Albert *Neisser*, que foi o primeiro a descrever o microrganismo responsável pela gonorreia
N. gonorrhoeae	*gone*, “semente”; *rhoia*, “fluxo” (um fluxo de sementes; referência à doença gonorreia)
N. meningitidis	meninges, membrana que reveste o cérebro; *itis*, “inflamação” (inflamação das meninges, como ocorre na meningite)
Eikenella	Nomeada em homenagem a M. *Eiken*, o primeiro a nomear as espécies do gênero
E. corrodens	*corrodens*, “roendo” ou “comendo” (colônias desta espécie comem o agar)
Kingella	Nomeada em homenagem à bacteriologista americana Elizabeth *King*

Neisseria gonorrhoeae e *Neisseria meningitidis* (Quadros 29-2 e 29-3)

A infecção causada por *N. gonorrhoeae* é conhecida há séculos. Apesar da antibioticoterapia eficaz, a gonorreia é uma das doenças sexualmente transmitidas mais comuns nos Estados Unidos. *N. gonorrhoeae* é sempre considerada um patógeno. *N. meningitidis* é um paradoxo que, frequentemente, coloniza a nasofaringe de pessoas saudáveis. Porém, constitui a segunda causa mais comum de meningite em adultos, adquirida em comunidades. Pode causar sepse fatal e de evolução muito rápida, e também broncopneumonia em pacientes com doença pulmonar de base. A rápida transição entre saúde e doença fatal pode causar medo e pânico em uma comunidade, diferente da reação a qualquer outro patógeno.

Quadro 29-2 Resumo: *Neisseria gonorrhoeae*

Biologia, Virulência e Doença

Diplococo Gram negativo, fastidioso

Cresce melhor a 35°C–37°C, em atmosfera úmida suplementada com CO_2

Oxidase e catalase positivas; produz ácido de glicose por via oxidativa

Superfície externa com múltiplos antígenos: pili, proteínas Por, proteínas Opa, Rmp e proteínas receptoras de transferrina, lactoferrina e hemoglobina; lipo-oligossacáride; proteasesimunoglobulina, β-lactamase

Veja na Tabela 29-1 um resumo dos fatores de virulência

Veja no Quadro 29-4 um resumo das doenças clínicas

Epidemiologia

Humanos são os únicos hospedeiros naturais

Portadores podem ser assintomáticos, particularmente mulheres

Transmissão é basicamente por contato sexual

Quase 360 mil casos relatados nos Estados Unidos em 2006 (acredita-se que a verdadeira incidência da doença seja no mínimo duas vezes maior)

Doença mais comum em negros, pessoas com idade entre 15 e 24 anos, residentes no sudeste dos Estados Unidos, pessoas com variedade de parceiros sexuais

Maior risco de doença disseminada em pacientes com deficiências dos componentes finais do complemento

Diagnóstico

Coloração de Gram de espécimes uretrais é adequada somente para homens sintomáticos

A cultura é sensível e específica, mas tem sido substituída por ensaios de amplificação de ácidos nucleicos na maioria dos laboratórios

Tratamento, Prevenção e Controle

Atualmente, ceftriaxona é o tratamento de escolha

Doxicilina ou azitromicina devem ser acrescentadas para infecções complicadas por *Chlamydia*

Para recém-nascidos, profilaxia com nitrato de prata a 1%; oftalmia neonatal é tratada com ceftriaxona

A prevenção consiste na educação dos pacientes, uso de preservativos ou espermicidas com nonoxinol-9 (parcialmente eficaz), e acompanhamento dos parceiros do paciente infectado

Vacinas eficazes não estão disponíveis

Quadro 29-4 Neisseriaceae: Resumos Clínicos

Neisseria gonorrhoeae

Gonorreia: caracterizada por corrimento purulento na região acometida (p. ex., uretra, cervix, epidídimo, próstata, ânus), após 2 a 5 dias do período de incubação

Infecções Disseminadas: disseminação da infecção a partir do trato geniturinário, pelo sangue, para a pele ou articulações; caracterizada por pústulas na pele com base eritematosa e artrite supurativa nas articulações envolvidas

Oftalmia neonatal: infecção ocular purulenta adquirida pelo neonato durante o nascimento

Neisseria meningitidis

Meningite: inflamação purulenta das meninges associada à dor de cabeça, sinais meningeanos e febre; alta taxa de mortalidade a menos que tratada imediatamente com antibióticos eficazes

Meningococcemia: infecção disseminada caracterizada por trombose de pequenos vasos sanguíneos e envolvimento de múltiplos órgãos; pequenas petéquias na pele se coalescem em lesões hemorrágicas maiores

Pneumonia: manifestação menos grave da doença meningocócica, caracterizada por broncopneumonia em pacientes com doença pulmonar de base

Eikenella corrodens

Feridas por mordidas humanas: infecção associada com introdução traumática (p. ex., mordida, machucados causados por brigas) de microrganismos orais em tecidos profundos.

Endocardite subaguda: infecção do endocárdio caracterizada por início gradual de febres baixas, suor noturno e arrepios

Kingella kingae

Endocardite subaguda: veja *E. corrodens*

Quadro 29-3 Resumo: *Neisseria meningitidis*

Biologia, Virulência e Doença

Diplococos Gram negativos, fastidiosos

Cresce melhor a 35°C–37°C, em atmosfera úmida

Oxidase e catalase positivas; produz ácido de glicose e maltose por via oxidativa

Antígenos da superfície externa incluem cápsula polissacarídica, pili e lipo-oligossacarídeo (LOS)

A cápsula protege a bactéria da fagocitose mediada por anticorpos

Receptores específicos para a pili do meningococo permitem a colonização da nasofaringe

A bactéria pode sobreviver à morte intracelular na ausência de imunidade humoral

A endotoxina medeia a maioria das manifestações clínicas

Veja no Quadro 29-4 um resumo das doenças clínicas

Epidemiologia

Humanos são os únicos hospedeiros naturais

A transmissão pessoa-pessoa ocorre via aerossóis das secreções do trato respiratório

A maior incidência da doença é em crianças com idade inferior a 5 anos, em pessoas que vivem em instituições e em pacientes com deficiências dos componentes finais do complemento

Meningite e meningococcemia são causadas principalmente pelos sorogrupos B, C e Y; pneumonia é causada principalmente pelos sorogrupos Y e W135; os sorogrupos A e W135 estão associados à doença em países subdesenvolvidos

A doença ocorre em todo o mundo, mais comum nos meses mais frios e secos do ano

Diagnóstico

A coloração de Gram do líquido cefalorraquidiano é sensível e específica, mas de valor limitado para espécimes sanguíneos (poucos organismos estão presentes, exceto em sepse fulminante)

A cultura é definitiva, mas o microrganismo é fastidioso e morre rapidamente quando exposto ao frio e ao ressecamento.

Os testes para detectar antígenos do meningococo são insensíveis e inespecíficos

Tratamento, Prevenção e Controle

Crianças amamentadas no peito têm imunidade passiva (primeiros 6 meses)

Tratamento é com penicilina (fármaco de escolha)

A quimioprofilaxia para pessoas que tiveram contato com a doença é feita com rifampicina, ciprofloxacina ou ceftriaxona

Para a imunoprofilaxia, a vacinação é um adjuvante da quimioprofilaxia; é utilizada para os sorogrupos A, C, Y e W135; não há vacina eficaz para o sorogrupo B

Tabela 29-1 Fatores de Virulência em *Neisseria gonorrhoeae*

Fator de Virulência	Efeito Biológico
Pilina	Proteína que medeia a aderência inicial às células humanas não ciliadas (p. ex., epitélio da vagina, trompas de falópio e cavidade bucal); interfere na morte dos fagócitos
Proteína Por (proteína I)	Porina: promove a sobrevivência intracelular ao prevenir a fusão fagolisossoma nos neutrófilos
Proteína Opa (proteína II)	Proteína da opacidade: medeia a aderência firme às células eucarióticas
Proteína Rmp (proteína III)	Proteína modificada por redução: protege outros antígenos de superfície (proteína Por, LOS) da ligação dos anticorpos bactericidas
Proteínas de	

ligação à transferrina	Medeia a aquisição de ferro para o metabolismo bacteriano
Proteínas de ligação à lactoferrina	Medeia a aquisição de ferro para o metabolismo bacteriano
Proteínas de ligação à hemoglobina	Medeia a aquisição de ferro para o metabolismo bacteriano
LOS	Lipo-oligossacarideo: tem atividade endotóxica
IgA1 protease	Destrói a imunoglobulina A1 (papel na virulência é desconhecido)
β-lactamase	Hidrolisa o anel β-lactâmico da penicilina

Fisiologia e Estrutura

As espécies de *Neisseria* são bactérias **Gram negativas**, aeróbias, tipicamente na forma de cocos (0,6 a 1,0µm de diâmetro) e dispostas em pares (**diplococos)** com os lados adjacentes achatados (lembrando grãos de café; Fig. 29-1). São móveis e não formam endoesporos. Todas as espécies são positivas para oxidase e a maioria produz catalase, propriedades que combinadas com a coloração de Gram e a morfologia permitem a identificação rápida e presuntiva de um isolado clínico. A oxidação (não a fermentação) de carboidratos induz à produção de ácidos. As cepas de *N. gonorrhoeae* produzem ácido através da oxidação da glicose e *N. meningitidis* oxida glicose e maltose. Outros carboidratos não são oxidados. Este perfil de utilização de carboidrato é útil para diferenciar estes patógenos das outras espécies de *Neisseria*.

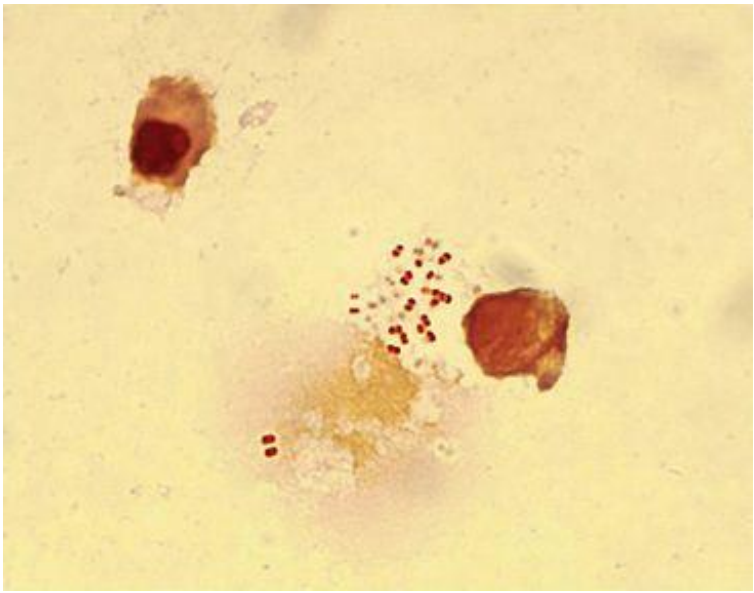


Figura 29-1 *Neisseria gonorrhoeae* em exsudato uretral. Notar o arranjo espacial dos cocos aos pares, com os lados adjacentes pressionados juntos, característico deste gênero.

As espécies não patogênicas podem crescer em agar nutriente a 35°C–37°C. Ao contrário, o crescimento de *N. meningitidis* em agar nutriente é variável. *N. gonorrhoeae* é um microrganismo fastidioso, que **exige meios complexos** para o crescimento, sendo prejudicado pela exposição à baixa umidade ou aos ácidos graxos. Todas as cepas de *N. gonorrhoeae* necessitam de cistina e fonte de energia (p. ex, glicose, piruvato e lactato) para o crescimento, e muitas cepas necessitam da adição de suplementos como aminoácidos, purinas, pirimidinas e vitaminas. Amido solúvel é adicionado ao meio para neutralizar o efeito tóxico dos ácidos graxos. Portanto, *N. gonorrhoeae* não cresce em agar sangue, mas cresce em **agar chocolate** e outros meios enriquecidos. A temperatura ótima de crescimento é de **35°C a 37°C**, uma vez que o microrganismo é sensível a temperaturas mais baixas. *N. gonorrhoeae* requer ou se beneficia de uma atmosfera úmida com **5% de dióxido de carbono (CO_2)** para seu crescimento. A natureza fastidiosa deste microrganismo torna difícil o seu isolamento em espécimes clínicos; no entanto, a bactéria é facilmente transmitida pelo contato sexual.

A estrutura de *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* é típica de uma bactéria Gram negativa, com uma fina camada de peptideoglicano localizada entre a membrana citoplasmática e a membrana externa. O principal fator de virulência de *N. meningitidis* é a cápsula polissacarídica. *N. gonorrhoeae* não possui uma cápsula verdadeira na sua superfície, mas possui uma estrutura semelhante à cápsula com carga negativa. Diferenças antigênicas no **polissacarídeo capsular de *N. meningitidis*** é a base para a sorogrupagem desta bactéria. Atualmente são conhecidos 13 sorogrupos (A, B, C, D, H, I, K, L, W-135, X, Y, Z, 29E), sendo a maioria das infecções causada pelos sorogrupos A, B, C, Y e W135.

As cepas de *Neisseria* patogênicas ou não patogênicas possuem **pili** que se estendem da membrana citoplasmática e atravessam a membrana externa. As pilis possuem várias funções, incluindo aderência às células do hospedeiro, transferência de material genético, motilidade e no caso das espécies patogênicas, têm papel importante na patogênese. As pilis são compostas por subunidades proteicas repetitivas (**pilinas**), cuja expressão é controlada por um complexo gênico denominado *pil*. A expressão de pili é associada com virulência, em parte porque esse apêndice permite a adesão às células epiteliais não ciliadas, conferindo resistência à morte causada pelos neutrófilos. As pilinas têm uma região conservada na porção aminoterminal e uma região altamente variável na porção carboxiterminal, exposta na superfície. Esta porção da pilina pode ser fosforilada, glicosilada e associada a uma segunda proteína, **PilC**, que contribui para a diversidade antigênica. A ausência de imunidade para reinfecção causada por *N. gonorrhoeae* é parcialmente explicada pela variação antigênica da pilina e pela variação de fase da expressão desta proteína. Esses fatores complicam o desenvolvimento de vacinas para gonorreia.

Outras famílias proeminentes de proteínas estão presentes na membrana externa. As **porinas** são proteínas integrais da membrana externa que formam poros ou canais para a passagem de nutrientes para dentro da célula ou para a saída de produtos indesejáveis. *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* têm dois genes que codificam as porinas, denominados *por*A e *por*B. As duas proteínas codificadas por esses genes, **PorA e PorB**, são expressas por *N. meningitidis. N. gonorrhoeae* não expressa PorA, porém, PorB além de ser a principal proteína da membrana externa de *N. gonorrhoeae* (aproximadamente 60% da membrana externa é composta por esta proteína) funciona ativamente para garantir a sobrevivência da bactéria. PorB é expressa em duas classes antigenicamente distintas, PIA e PIB, cada uma com diferentes sorotipos. As diferenças antigênicas de PorB são determinadas por diferenças na parte proteica exposta na superfície. Assim, embora PorB seja expressa em todas as cepas de gonococo, a variação antigênica desta proteína faz com que ela seja um **alvo fraco para o desenvolvimento de vacinas**.

PorB é importante para a virulência de *N. gonorrhoeae*. A proteína purificada pode **interferir com a degranulação de neutrófilos** (*i.e.*, fusão do fagolisossomo que levaria à morte da bactéria intracelular) e presumivelmente protege a bactéria da resposta inflamatória do hospedeiro. Além disso, PorB em conjunto com outras adesinas **facilita a invasão de células epiteliais pela bactéria**. Finalmente, a expressão de antígenos PorB-PIA torna a bactéria **resistente à morte mediada pelo complemento sérico**.

As proteínas Opa (proteínas de opacidade) são uma família de proteínas de membrana que medeiam a ligação íntima ao epitélio e aos fagócitos, e são importantes para a sinalização célula-célula. Múltiplos alelos dessas proteínas podem ser expressos por um isolado individual. Cepas de *N. gonorrhoeae* que expressam essas proteínas são opacas (não transparentes) quando crescidas em cultura. A expressão dessas proteínas é **associada à doença clínica**. É comum o isolamento de colônias opacas em amostras de pacientes com doença localizada (p. ex., endocervicite, uretrite, faringite, prostatite), e as colônias transparentes estão mais associadas à doença inflamatória pélvica e infecções disseminadas.

O terceiro grupo de proteínas da membrana externa é o das **proteínas Rmp** (proteínas modificadas por redução), altamente conservadas. Essas proteínas estimulam anticorpos que **bloqueiam a atividade bactericida do soro** contra neisserias patogênicas.

O ferro é essencial para o crescimento e metabolismo de *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*. Essas neisserias patogênicas são capazes de competir pelo ferro com o hospedeiro humano, pela **ligação da transferrina da célula do hospedeiro** aos receptores específicos da superfície bacteriana. Provavelmente, a especificidade dessa ligação à transferrina humana seja a razão de essa bactéria ser um patógeno estritamente humano. A presença desse receptor é completamente diferente dos sideróforos produzidos pela maioria das bactérias para capturar o ferro. O gonococo também possui vários receptores adicionais para formar complexos com outras moléculas do hospedeiro como as lactoferrina e hemoglobina.

Outro importante antígeno da parede celular é o **lipo-oligossacarídeo (LOS)**. Este antígeno é composto pelo lipídio A e um núcleo de oligossacarídeo, e não expressa o antígeno-O polissacarídico da molécula de lipopolissacarídeo (LPS) presente na maioria dos

bacilos Gram negativos. A molécula de lipídio A tem atividade endotóxica. *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* **liberam vesículas da membrana externa (*blebs*)**, espontaneamente, durante o crescimento rápido da célula. Essas vesículas contêm LOS e proteínas da superfície, e podem agir de duas formas: aumentando a toxicidade mediada pela endotoxina e protegendo a replicação bacteriana pela ligação direta da proteína aos anticorpos.

N. gonorrhoeae e *N. meningitidis* produzem **protease** que reconhece a **imunoglobulina (Ig) A1** e cliva a região do anel de IgA1, inativando imunologicamente os fragmentos Fc e Fab. Algumas cepas de *N. gonorrhoeae* produzem β-lactamases que podem degradar a penicilina.

Patogênese e Imunidade (Tab. 29-1)

Os gonococos aderem às mucosas celulares, penetram nas células, se multiplicam e passam através das células para o espaço subepitelial, onde a infecção se estabelece. As proteínas da Pili, PorB e Opa medeiam à aderência e invasão nas células do hospedeiro. O LOS de gonococo estimula a liberação da citocina pró-inflamatória, **fator de necrose tumoral-α (TNF-α)**, que causa a maioria dos sintomas associados à doença gonocócica.

IgG_3 é a subclasse de IgG predominante na resposta à infecção gonocócica. Embora a resposta de anticorpos à PorB seja mínima, pilina, Opa e LOS induzem uma resposta de anticorpos significativa. Anticorpos anti-LOS podem ativar o sistema complemento, liberando C5a que tem função quimiotática sobre os neutrófilos. No entanto, IgG e IgA1 secretória específicas para a proteína Rmp podem bloquear a atividade bactericida dos anticorpos anti-LOS. Experimentos com cultura de tecidos da nasofaringe mostraram que o meningococo adere-se seletivamente aos receptores específicos para a pilina, presentes nas células colunares não ciliadas da nasofaringe. Meningococo sem pili não são tão hábeis para se ligarem às células.

A doença meningocócica ocorre na ausência de anticorpos específicos contra a cápsula polissacarídica e outros antígenos de superfície da bactéria. Os recém-nascidos são protegidos pela transferência passiva de anticorpos maternos. No entanto, aos 6 meses de idade, esta imunidade protetora desaparece, fato consistente com a observação que a maior incidência da doença ocorre em crianças menores de 2 anos de idade. A imunidade pode ser estimulada pela colonização com *N. meningitidis* ou outra bactéria com antígenos de reatividade cruzada (p. ex., colonização com espécies de *Neisseria* não encapsuladas; exposição a *E. coli* K1 que apresenta reatividade cruzada com o polissacarídeo do grupo B). A atividade bactericida requer a presença de proteínas do sistema complemento. Estima-se que pacientes com **deficiências de C5, C6, C7 ou C8 do sistema complemento** são cerca de 6 mil vezes mais suscetíveis à doença meningocócica. Embora a imunidade seja mediada basicamente pela resposta imune humoral, a resposta de linfócitos aos antígenos meningocócicos é menor nos pacientes com doença aguda.

Semelhante à *N. gonorrhoeae*, os meningococos são internalizados dentro do vacúolo fagocítico e são capazes de evitar a morte intracelular, replicar e migrar para o espaço subepitelial. As propriedades antifagocíticas da cápsula polissacarídica protege *N. meningitidis* da fagocitose. Os danos vasculares disseminados associados às infecções meningocócicas (p. ex., danos endoteliais, inflamação das paredes dos vasos, trombose e coagulação intravascular disseminada) são largamente atribuídos à ação da **endotoxina ou LOS** presentes na membrana externa.

Epidemiologia

A gonorreia ocorre naturalmente somente em humanos; a doença não tem outro reservatório conhecido. Após clamídia, *N. gonorrhoeae* é a segunda causa de doenças sexualmente transmitidas nos Estados Unidos. A incidência da infecção é a mesma em homens e mulheres, é desproporcionalmente maior em negros que em hispano-americanos e brancos, e é maior no sudeste dos Estados Unidos. O pico da incidência da doença ocorre na faixa etária entre 15 e 24 anos. A incidência da doença diminuiu no período de 1978 a 1997; no entanto, entre 1998 e 2006 a incidência de gonorreia permaneceu constante. Em 2006, quase 360 mil novas infecções foram relatadas nos Estados Unidos. Porém, esse alto número de novos casos esta subestimando a verdadeira incidência da doença, uma vez que o diagnóstico e a notificação dos casos são deficientes. Segundo os órgãos de saúde pública, pelo menos metade dos novos casos não é notificada.

N. gonorrhoeae é **transmitida primariamente por contato sexual**. As mulheres têm 50% de chances de adquirir a infecção após um único contato com um homem infectado, enquanto para o homem o risco é de aproximadamente 20%. O risco da infecção aumenta à medida que aumentam os encontros sexuais com parceiros infectados.

O principal reservatório do gonococo é a pessoa infectada e assintomática. **Portadores assintomáticos são mais comuns entre mulheres que em homens**. Cerca de 50% das mulheres são assintomáticas ou apresentam infecções brandas, enquanto na maioria dos homens é sintomática no início da infecção. Geralmente, os sintomas desaparecem em poucas semanas em pessoas não tratadas e então se estabelece o estado de portador assintomático. O sítio da infecção também determina a ocorrência do estado de portador. Infecções retais e faringianas são mais comumente associadas com o estado de portador do que as infecções genitais.

A doença meningocócica endêmica ocorre em todo o mundo, e epidemias são comuns em países em desenvolvimento. A expansão epidêmica da doença resulta da introdução de uma nova cepa virulenta em uma população imunologicamente desprotegida. Pandemia da doença não é comum em países desenvolvidos desde a segunda guerra mundial. Embora sejam 13 sorogrupos, quase todas as infecções são causadas pelos sorogrupos A, B, C, Y e W135. Na Europa e nas Américas, os sorogrupos B, C e Y predominam nos casos de meningite ou meningococcemia; sorogrupos A e W135 predominam em países em desenvolvimento. Os sorogrupos Y e W135 são mais comuns na pneumonia meningocócica. *N. meningitidis* é **transmitida por aerossóis respiratórios** entre pessoas com contato prolongado, como membros da família que vivem na mesma casa e militares que compartilham o mesmo alojamento. Colegas de sala da escola e funcionários de hospitais não são considerados contatos próximos e não têm altos riscos de adquirir a infecção, a menos que tenham contato direto com secreções respiratórias da pessoa infectada.

Os humanos são os únicos portadores naturais de *N. meningitidis*. Estudos da prevalência de portadores assintomáticos de *N. meningitidis* mostraram uma tremenda variação; de menos de 1% a quase 40%. A prevalência de portadores de *N. meningitidis* na via oral ou na nasofaringe é mais alta em crianças em idade escolar e em adultos jovens; é mais alta em populações de baixo nível socioeconômico (por causa das aglomerações e maior transmissão pessoa-pessoa), e não varia com as estações, embora a **doença seja mais comum nas estações frias e secas**. O estado de portador é tipicamente transitório, terminando após o desenvolvimento de anticorpos específicos. A doença endêmica é mais comum em crianças com idade inferior a 5 anos, particularmente lactentes, adolescentes e adultos jovens. Pessoas imunocomprometidas, idosas ou que vivem em ambientes fechados (p. ex., alojamentos militares, presídios) estão propensas à infecção durante as epidemias.

Neisseria gonorrhoeae

Doenças Clínicas (Quadro 29-4)

Gonorreia

A infecção genital em homens é primariamente restrita à **uretra**. Após período de incubação de 2 a 5 dias, ocorre um corrimento uretral purulento (Fig. 29-2) e disúria. Aproximadamente 95% dos homens infectados apresentam sintomas agudos. Embora as complicações sejam raras, podem ocorrer epididimite, prostatite e abscesso periuretral. O sítio primário de infecção em mulheres é o cérvix (colo uterino), pois a bactéria **infecta as células do epitélio colunar do endocervix**. A bactéria não pode infectar as células do epitélio escamoso da vagina de mulheres pós-puberais. Pacientes sintomáticas geralmente experimentam corrimento vaginal, disúria e dor abdominal. Infecções genitais ascendentes, incluindo salpingites, abscessos tuboovarianos e doença inflamatória pélvica, são observadas em 10% a 20% das mulheres.

Figura 29-2 Corrimento uretral purulento em homem com uretrite.

(De Morse S et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS, 3rd Ed. St Louis, Mosby, 2003.)

Gonococcemia (Caso Cínico 29-1)

Infecções disseminadas com **septicemia e infecção da pele e articulações** ocorrem em 1% a 3% das mulheres infectadas e em muito menor proporção nos homens infectados. A maior proporção de doenças disseminadas em mulheres é causada pelo grande número de infecções assintomáticas não tratadas nesta população. As manifestações clínicas de doenças disseminadas incluem febre, artralgia migratória, artrite supurativa nos punhos, joelhos e tornozelos e exantema pustular numa base eritematosa (Fig. 29-3) sobre os membros, preservando a cabeça e o tronco. *N. gonorrhoeae* é a **principal causa de artrite purulenta em adultos**.

Caso Clínico 29-1 Artrite gonocócica

Artrite gonocócica é uma apresentação comum de infecção disseminada por *N. gonorrhoeae*. Fam et al. (Can Med Assoc J 108:319-325, 1973) descreveram seis pacientes com esta doença, incluindo o descrito a seguir, que teve uma apresentação típica. Uma garota

com 17 anos de idade foi admitida no hospital com história de febre há 4 dias, tinha arrepios, mal-estar, dor de garganta, erupção (*rash*) cutânea e poliartralgia. A paciente relatou ser sexualmente ativa, com uma história de corrimento vaginal amarelado não tratado por um período de 5 semanas. No momento da consulta, a paciente apresentava lesões eritematosas e maculopapulares na pele do antebraço, coxa e tornozelo, bem como articulações metacarpofalangianas, punho, joelho, tornozelo e articulações mediotársicas com inflamação aguda. A contagem de leucócitos e a sedimentação de eritrócitos tiveram resultados elevados e as culturas do cérvix foram positivas para *N. gonorrhoeae*. As hemoculturas e as culturas de exudato das lesões de pele e líquido sinovial foram negativas. Foi feito o diagnóstico de gonorreia disseminada com poliartrite. O tratamento com penicilina G por 2 semanas foi bem-sucedido. Esse caso ilustra as limitações da cultura em infecções disseminadas e o valor da história detalhada do paciente.

Figura 29-3 Lesões na pele de infecção gonocócica disseminada. Lesões clássicas grandes, com necrose central acinzentada, em base eritematosa.

(De Morse S et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS, 3rd Ed. St Louis, Mosby, 2003.)

Outras Síndromes Causadas por *N. gonorrhoeae*

Outras doenças associadas à *N. gonorrhoeae* são peri-hepatite (**síndrome de Fitz-Hugh-Curtis**); conjuntivite purulenta (Fig. 29-4), particularmente em recém-nascidos infectados durante o parto vaginal (oftalmia neonatal); gonorreia anorretal em homens homossexuais e faringite.

Figura 29-4 Oftalmia neonatal por gonococo. Observa-se edema da pálpebra, eritema e exudato purulento. A coloração de Gram da secreção revelou organismos em abundância e células inflamatórias.

(De Morse S et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS, 3rd Ed. St Louis, Mosby, 2003.)

Neisseria meningitidis

Doenças Clínicas (Quadro 29-4)

Meningite

Em 2005 foram relatados nos Estados Unidos 1.245 casos de doença meningocócica (aproximadamente 0,4 caso por 100 mil habitantes). A maioria das infecções era meningite. Geralmente, a doença começa abruptamente com dor de cabeça, sinais meníngeos e febre. Porém, crianças menores podem apresentar sintomas não específicos como febre e vômitos. A taxa de mortalidade nos pacientes não tratados se aproxima de 100%, mas é menor que 10% entre os pacientes cuja antibioticoterapia apropriada é prontamente instituída. A incidência de sequelas neurológicas é baixa, sendo que as mais comumente relatadas são deficiências auditivas e artrites.

Meningococcemia (Caso Clínico 29-2)

Septicemia (meningococcemia) com ou sem meningite é uma doença potencialmente fatal. As manifestações clínicas características são **trombose de pequenos vasos sanguíneos** e o comprometimento de diversos órgãos. É comum a ocorrência de petéquias no tronco e nos membros inferiores, que podem coalescer, formando lesões hemorrágicas maiores (Fig. 29-5). Pode ocorrer coagulação intravascular disseminada com choque e destruição bilateral das glândulas suprarrenais (**síndrome de Waterhouse-Friderichsen**). Também se pode observar septicemia crônica, mais branda. Bacteremia pode persistir por dias ou semanas e os únicos sintomas da infecção são febre baixa, artrite e petéquias. Nesses pacientes, a resposta à antibioticoterapia é normalmente excelente.

Caso Clínico 29-2 Doença Meningocócica

Gardner (N Engl J Med 355:1466-1473, 2006) descreveu o caso de um rapaz de 18 anos, previamente sadio, que se apresentou ao departamento de emergência local com início de febre e dor de cabeça aguda. Apresentava temperatura elevada (40° C), estava taquicardíaco (pulso de 140 por minuto), hipotenso (pressão sanguínea de 70/40 mm Hg) e com petéquias no tronco. Não houve registros dos resultados de cultura do LCR, mas *Neisseria meningitidis* foi isolada do sangue do paciente. Apesar da imediata administração de antibióticos e outros suportes médicos, as condições do paciente pioraram rapidamente e ele faleceu 12 horas após a entrada no hospital. Este paciente ilustra a progressão rápida da doença meningocócica, mesmo em adultos jovens sadios.

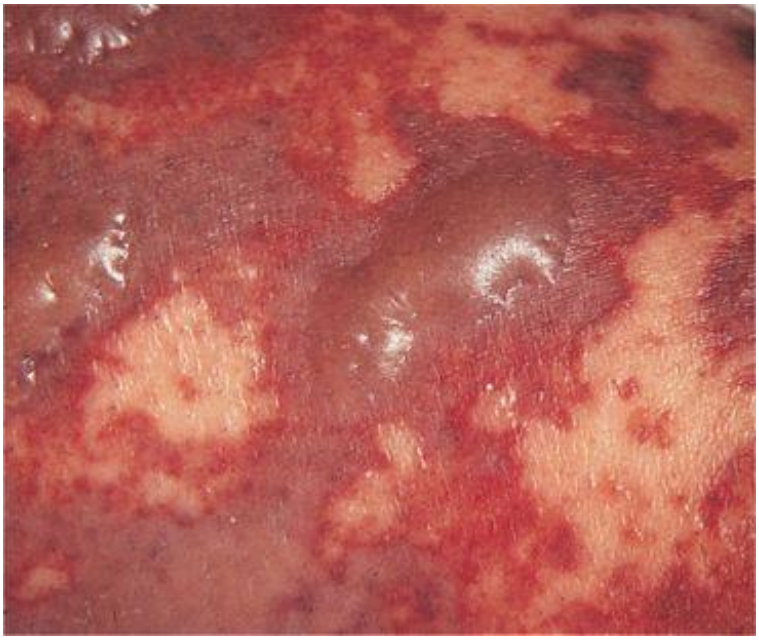


Figura 29-5 Lesões na pele de um paciente com meningococcemia. Observe que as petéquias se coalesceram e formaram uma bolha hemorrágica.

Outras Síndromes Causadas por *N. meningitidis*

Infecções adicionais causadas por *N. meningitidis* são pneumonia, artrite e uretrite. A pneumonia meningocócica é comumente precedida por uma infecção do trato respiratório. Os sintomas incluem tosse, dor torácica, estertores, febre e calafrios. A maioria dos pacientes apresenta sintomas de faringite. O prognóstico com pneumonia meningocócica é bom.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

A **coloração de Gram** é muito sensível (acima de 90%) e específica (98%) para a detecção de infecção gonocócica em homens com uretrite purulenta (Fig. 29-1). Porém, a sensibilidade deste método para detectar a infecção em homens assintomáticos é de 60% ou menos. Esse teste também é relativamente de baixa sensibilidade para detectar cervicite gonocócica em mulheres sintomáticas ou não. No entanto, um resultado positivo é considerado confiável quando um microscopista experiente detecta diplococos Gram negativos no interior de leucócitos polimorfonucleares. Desta forma, a coloração de Gram pode ser utilizada com segurança para diagnosticar infecções em homens com uretrite purulenta e mulheres com cervicite, mas todos os resultados negativos em mulheres e em homens assintomáticos devem ser confirmados por cultura.

A coloração de Gram também é útil para o diagnóstico precoce de artrite purulenta, mas sem sensibilidade e especificidade para a detecção de *N. gonorrhoeae* em pacientes com lesões cutâneas, infecções anorretais ou faringite. Espécies comensais de *Neisseria* na orofaringe e bactérias morfologicamente similares no trato gastrintestinal podem ser confundidos com *N. gonorrhoeae*.

N. meningitidis pode ser facilmente visualizada no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com meningite (Fig. 29-6), a menos que o paciente tenha sido previamente tratado com antibióticos. A maioria dos pacientes com bacteremia causada por outros microrganismos possui poucos organismos no sangue e a coloração de Gram não tem valor diagnóstico. Ao contrário, pacientes com doença meningocócica grave, normalmente possuem um grande número de microrganismos no sangue e estes podem ser visualizados pela coloração de Gram.

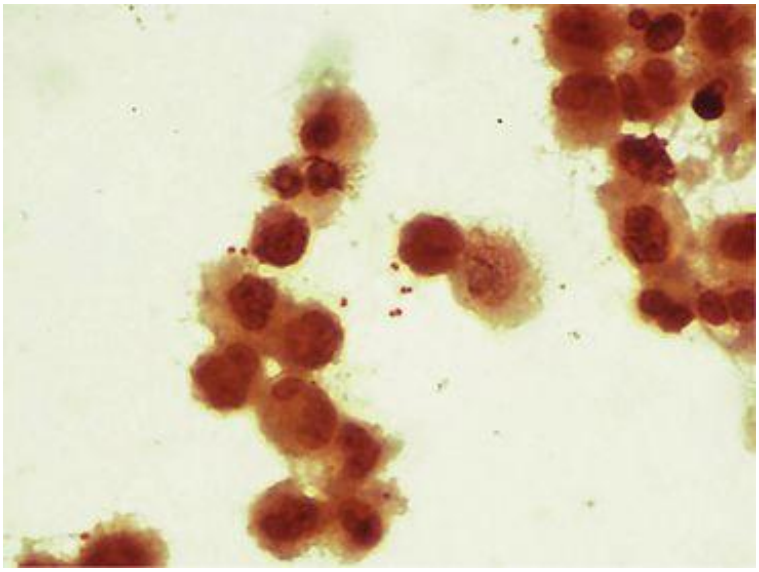


Figura 29-6 Coloração de Gram de líquido cefalorraquidiano mostrando *Neisseria meningitidis*.

Detecção de Antígeno

Os testes para detecção de antígenos de *N. gonorrhoeae* são menos sensíveis que a cultura ou testes de amplificação de ácidos nucleicos, e não são recomendados, a menos que

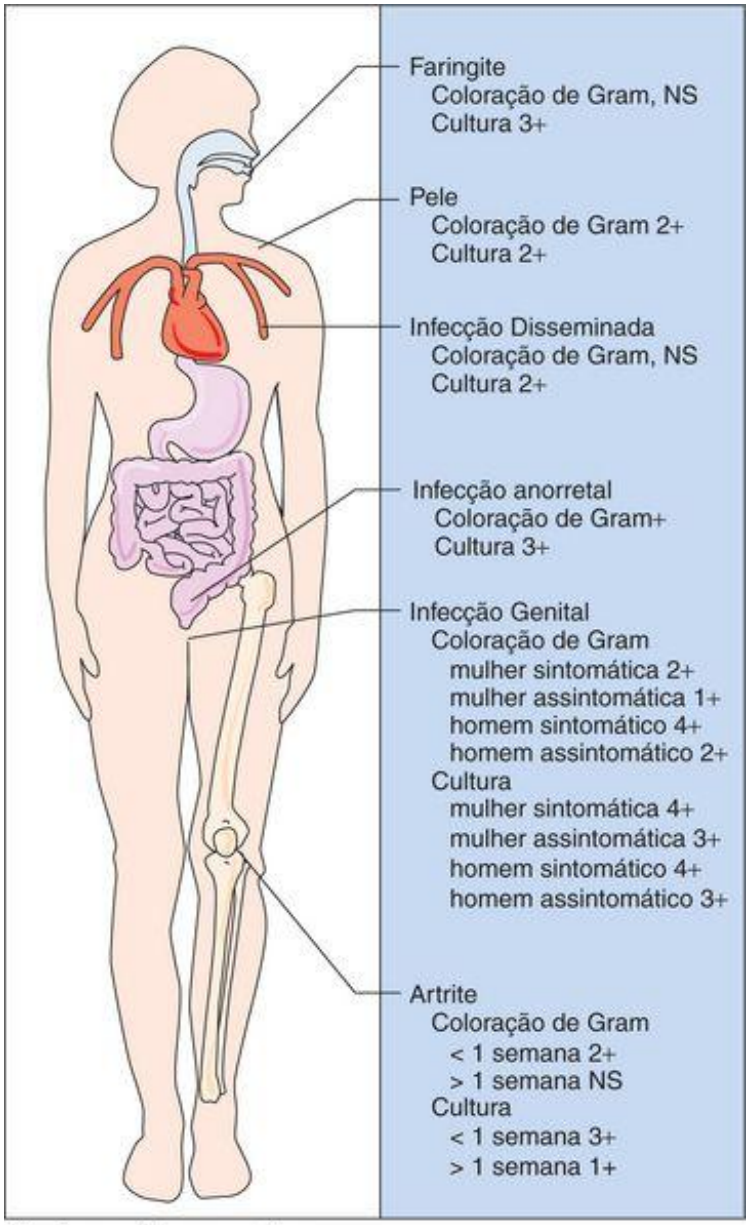
testes confirmatórios sejam realizados em espécimes negativos. Testes comerciais para detectar antígenos capsulares de *N. meningitidis* no LCR, sangue e urina (onde os antígenos são excretados) foram amplamente utilizados no passado, mas recentemente caíram em desuso nos Estados Unidos porque estes testes são menos sensíveis que a coloração de Gram, e podem ocorrer reações falso-positivas, particularmente na urina.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes de amplificação de ácido nucleico (NAA) específicos para *N. gonorrhoeae* têm sido desenvolvidos para a detecção direta da bactéria em espécimes clínicos. Estes testes são sensíveis, específicos e rápidos (resultados viáveis em 4 horas). Estão disponíveis combinações destes testes para a detecção de *N. gonorrhoeae* e *Chlamydia*, e os mesmos estão substituindo a cultura na maioria dos laboratórios. O problema básico desta estratégia é que estes testes não podem ser usados para monitorar a resistência aos antibióticos dos patógenos identificados.

Cultura

N. gonorrhoeae pode ser facilmente isolada de espécimes genitais se forem tomados os cuidados adequados durante a coleta e o processamento do espécime (Fig. 29-7). Todos os espécimes genitais, retais e da faringe devem ser inoculados em meios **não seletivos** (p. ex., agar chocolate) e **meios seletivos** (p. ex., meio Thayer-Martin modificado) que inibem o crescimento de microrganismos contaminantes, como organismos comensais que colonizam a superfície dessas mucosas. O meio não seletivo deverá ser usado porque algumas cepas de gonococo são inibidas pela vancomicina presente na maioria dos meios seletivos. Estes microrganismos também são inibidos por ácidos graxos e traços de metais presentes nos hidrolisados de peptona e agar utilizados comumente nos laboratórios (agar sangue, agar nutriente). Os gonococos morrem rapidamente se os espécimes secarem. Portanto, o ressecamento e as temperaturas frias devem ser evitados e os espécimes devem ser inoculados em meios pré-aquecidos no momento da coleta.



NS, não sensível ou específico.

Figura 29-7 Detecção Laboratorial de *Neisseria gonorrhoeae*.

O endocérvix deve ser adequadamente exposto para garantir a coleta de uma amostra adequada. Embora o endocérvix seja o local de infecção mais comum na mulher, o espécime retal poderá ser o único material positivo para gonococo em mulheres com infecção assintomática, como em homens homossexuais ou bissexuais. Geralmente, a hemocultura é positiva para gonococo somente na primeira semana de infecção em pacientes com doença disseminada. É necessário um manuseio cuidadoso das amostras de sangue para garantir o isolamento adequado dos gonococos, uma vez que os suplementos presentes nos meios de hemocultura podem ser tóxicos para *N. gonorrhoeae*. As culturas de amostras de articulações infectadas são positivas para o microrganismo quando coletadas por ocasião do desenvolvimento de artrite, enquanto que as culturas cutâneas são geralmente mais difíceis de se tornarem positivas.

N. meningitidis geralmente está presente em grande número no LCR, sangue e saliva. Embora a bactéria possa ser inibida por fatores tóxicos do meio e pelo anticoagulante em hemoculturas, *N. meningitidis* não é tão sensível quanto *N. gonorrhoeae*. Devido à virulência das cepas bacterianas responsáveis por infecções disseminadas, os técnicos de laboratório devem ter muito cuidado ao manipular os espécimes de LCR e sangue.

Identificação

Espécies de *Neisseria* patogênicas são, preliminarmente, identificadas por serem oxidase-positiva, diplococos Gram negativos e por crescerem em agar chocolate ou em meios seletivos para espécies patogênicas de *Neisseria*. A identificação definitiva é feita pelo perfil de oxidação de carboidratos e outros testes selecionados.

Tratamento, Prevenção e Controle

Historicamente, a penicilina tem sido o antibiótico de escolha para o tratamento de gonorreias. Porém, atualmente a penicilina não é mais usada, uma vez que a concentração do fármaco exigida para matar as cepas "suscetíveis" tem aumentado gradualmente, por causa da produção de β-lactamases (mediada por plasmídeo) ou por alterações nas proteínas de ligação a penicilina e na permeabilidade celular, mediadas por genes cromossomais. A resistência à penicilina mediada por cromossomo está também associada com a resistência às tetraciclinas, eritromicina e aminoglicosídeos. Na Ásia, Ilhas Pacíficas (incluindo Havaí), Califórnia e na população homossexual masculina em algumas cidades dos Estados Unidos é prevalente a resistência às fluoroquinolonas, como ciprofloxacina.

Atualmente, nos Estados Unidos, o Center for Disease Control and Infection (CDC), recomenda que não se use fluoroquinolona para tratar gonorreia em áreas em que é comum a resistência. Para esses pacientes, deve-se usar **ceftriaxona** para iniciar a terapia empírica. Nos casos em que a infecção por *Chlamydia trachomatis* não foi excluída, o tratamento deve ser combinado com uma única dose de azitromicina ou uma semana de doxiciclina.

N. meningitidis continua suscetível à **penicilina**, embora haja relatos de cepas com baixo nível de resistência. Para pacientes que não podem ser tratados com penicilina, pode-se usar cefalosporina de largo espectro (p. ex., ceftriaxona) ou cloranfenicol.

Embora haja grande interesse em desenvolver uma vacina contra ***N. gonorrhoeae*, ainda não existe uma vacina eficaz contra este patógeno**. A imunidade à infecção por *N. gonorrhoeae* ainda é pouco entendida. Podem-se detectar anticorpos contra antígenos da pili, proteínas Por e LOS. No entanto, infecções múltiplas são comuns em pessoas sexualmente promíscuas. Esta falta de imunidade protetora é parcialmente explicada pela diversidade antigênica das cepas de gonococo. A região variável da porção carboxiterminal da pilina é a porção imunodominante da molécula. Anticorpos específicos para esta região protegem contra a reinfecção contra a cepa homóloga, mas a proteção é incompleta para cepas heterólogas. A diversidade antigênica também explica a ineficácia de vacinas desenvolvidas contra as proteínas da pili.

A quimioprofilaxia também é ineficaz, exceto na proteção de recém-nascidos contra infecções gonocócicas nos olhos (oftalmia neonatal), onde são utilizados rotineiramente nitrato de prata a 1%, tetraciclina 1% ou eritromicina 0,5% na forma de pomadas oftálmicas. O uso profilático de penicilina para prevenir a infecção genital é ineficaz e pode resultar na seleção de cepas resistentes.

Os principais esforços para conter uma epidemia de gonorreia incluem educação, urgência na detecção e acompanhamento dos contatos sexuais. É importante salientar que a gonorreia não é uma doença insignificante. A infecção crônica pode levar à esterilidade e infecções assintomáticas perpetuam o reservatório da doença e culminam com a maior incidência da doença disseminada.

A erradicação dos portadores assintomáticos de *N. meningitidis* é algo improvável. Por esta razão, os esforços têm se concentrado no tratamento profilático de pessoas expostas aos pacientes e ao aumento da imunidade aos sorogrupos mais associados com a doença. As sulfonamidas e as penicilinas não são eficazes em eliminar o estado de portador. Atualmente, a rifampicina, ciprofloxacina ou ceftriaxona são recomendadas para a profilaxia.

Vacinas contra o polissacarídeo capsular, responsável pela classificação em sorogrupo, foram desenvolvidas com o objetivo de mediar a imunoprofilaxia pelo desenvolvimento de anticorpos. Uma **vacina composta por polissacarídeo conjugado a uma proteína carreadora, polivalente**, eficaz contra os sorogrupos A, C, Y e W135 foi licenciada nos Estados Unidos em 2005. Em 2007, o Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) recomendou a vacinação de rotina com uma dose para todas as pessoas com idade entre 11 e 18 anos e para pessoas com maior risco para adquirir a doença meningocócica. Infelizmente, o polissacarídeo B é fracamente imunogênico e não pode induzir uma resposta de anticorpos protetora. Dessa forma, a imunidade à *N. meningitidis* sorogrupo B deve ser desenvolvida naturalmente, após a exposição a antígenos de reatividade cruzada. A vacinação com uma

suspensão contendo o sorogrupo A pode ser utilizada para o controle de surtos epidêmicos em viajantes nas áreas hiperendêmicas e em pessoas com maior risco de adquirir a doença (p. ex., pacientes com deficiência do complemento).

Outras Espécies de *Neisseria*

Espécies de *Neisseria* como *Neisseria sicca* e *Neisseria mucosa* são organismos comensais na orofaringe. Estes microrganismos têm sido responsáveis por casos isolados de meningite, osteomielite, endocardite, infecções broncopulmonares, otite média aguda e sinusite. A incidência real de infecções do trato respiratório causadas por estes microrganismos não é conhecida porque a maioria dos espécimes é contaminada com secreções orais. No entanto, a observação de diplococos Gram negativos associados a células inflamatórias em um espécime respiratório coletado cuidadosamente indica que este microrganismo seja o agente etiológico. A maioria dos isolados de *N. sicca* e *N. mucosa* é suscetível à penicilina, apesar da observação de um baixo nível de resistência causado por alterações nas proteínas de ligação da penicilina (p. ex., PBP2).

Eikenella corrodens

No início da década de 1960, bacilos Gram negativos, pequenos e fastidiosos foram classificados pelo CDC como membros do grupo HB (nome do paciente infectado com o isolado original). Os microrganismos foram subdivididos nos subgrupos HB-1 (agora conhecido como *Eikenella corrodens*), subgrupo HB-2 (*Aggregatibacter* [*Haemophilus*] *aphrophilus*, ver Capítulo 34) e subgrupos HB-3 e HB-4 (*Aggregatibacter* [*Actinobacillus*] *actinomycetemcomitans*, ver Capítulo 34). Estes microrganismos são morfologicamente similares, colonizam a orofaringe humana e, em casos de doenças cardíacas de base, podem causar endocardite subaguda. De fato, o grupo de bacilos Gram negativos, fastidiosos, associados à endocardite subaguda é conhecido de forma taxonomicamente incorreta, pelo nome HACEK (*H. aphrophilus, A. actinomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, E. corrodens* e *K. kingae)*.

E. corrodens é um bacilo Gram negativo de tamanho moderado (0,2 × 2,0μm), imóvel, não forma esporos e é anaeróbio facultativo. O microrganismo foi nomeado em homenagem a Eiken, que caracterizou a bactéria e observou a habilidade da mesma de "corroer" o agar (devido à capacidade de quebrar o ácido poligalacturônico). *E. corrodens* é um habitante normal do trato respiratório superior, mas por ser fastidioso, se torna difícil sua detecção, a menos que meios seletivos específicos sejam utilizados. É um patógeno oportunista que causa infecções em pacientes imunocomprometidos ou em pacientes que tenham doenças ou traumas na cavidade oral. *E. corrodens* é mais frequentemente isolado de feridas provocadas por mordidas humanas ou injúrias no punho. Outras infecções são: endocardite, sinusite, meningite, abscesso cerebral, pneumonia e abscessos pulmonares. A maioria das infecções se origina da orofaringe e, portanto, é comum a presença de bactérias aeróbias e anaeróbias na cultura.

E. corrodens é uma bactéria de crescimento lento e fastidiosa, e requer 5% a 10% de dióxido de carbono para seu crescimento. Colônias pequenas (0,5 a 1,0mm) são observadas após 48 horas de incubação em agar sangue ou agar chocolate, porém, crescem pouco ou não crescem em meios seletivos para bacilos Gram negativos. Fendas ou pequenos buracos no agar é uma característica diferencial útil, mas menos da metade dos isolados possuem esta habilidade. A bactéria também produz um odor característico, similar ao da água sanitária. Portanto, a identificação preliminar desta bactéria pode ser feita ao encontrar um microrganismo de crescimento lento, Gram negativo, que forma fendas no agar sangue e produz um odor de água sanitária. *E. corrodens* é sensível à penicilina, ampicilina, cefalosporina de largo espectro, tetraciclina e fluoroquinolona, mas é resistente à oxacilina, cefalosporina de primeira geração, clindamicina, eritromicina e aos aminoglicosídeos. Assim, *E. corrodens* é resistente a muitos dos antibióticos de escolha aleatória para tratar infecções de mordidas.

Kingella kingae

As espécies de *Kingella* são cocobacilos Gram negativos, pequenos, morfologicamente similares às espécies de *Neisseria* e residem na orofaringe. São anaeróbios facultativos, fermentam carboidratos e são fastidiosas. *K. kingae*, a espécie mais frequentemente isolada, é basicamente responsável por artrite séptica em crianças e endocardite em pacientes de todas as idades. Devido ao crescimento lento da bactéria, um período de incubação de 3 dias ou mais é necessário para a detecção do microrganismo em espécimes clínicos. A maioria das cepas é sensível aos antibióticos β-lactâmicos, incluindo penicilina, tetraciclinas, eritromicina, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos.

Estudo de Caso e Questões

Uma professora com 22 anos de idade chegou à emergência após 2 dias de história de dor de cabeça e febre. Nesse dia a paciente não foi à escola e não atendeu ao telefone. Quando notificada dos fatos, a mãe foi ao apartamento da filha e a encontrou na cama, confusa e muito agitada. A paciente foi levada rapidamente ao hospital local, em que deu entrada já em estado comatoso. Lesões cutâneas purpúreas estavam presentes no tronco e braços. A análise do LCR revelou 380 células/mm^3 (93% de leucócitos polimorfonucleares), concentração proteica de 220mg/dL e de glicose de 32mg/dL. A coloração de Gram do LCR revelou muitos diplococos Gram negativos e o mesmo microrganismo foi isolado do LCR e do sangue. A paciente morreu apesar da terapia com penicilina ter sido iniciada imediatamente.

1. Qual o microrganismo mais provável de ter causado esta doença fulminante? Qual a origem mais provável desse organismo?

1. A abundância de leucócitos no líquido cefalorraquidiano (LCR), a concentração alta de proteínas e os baixos níveis de glicose são consistente com meningite bacteriana. Os agentes causadores mais comuns de meningite em adultos jovens saudáveis são *Streptococcus pneumoniae* (diplococos Gram positivos) e *Neisseria meningitidis* (diplococos Gram negativos). A morfologia observada na lâmina corada pelo método de Gram é consistente com *N. meningitidis*.

2. Quem deveria receber a quimioprofilaxia? Quais os critérios para administrar a quimioprofilaxia?

A exposição de indivíduos saudáveis a pacientes infectados por *N. meningitidis* é um evento médico assustador, uma vez que a progressão da doença é muita rápida. A quimioprofilaxia é recomendada para indivíduos que tiveram contato de perto com o paciente infectado. Isto deve ser restrito a: contatos na mesma casa ou de pessoas que moram no mesmo lugar, particularmente crianças jovens; para crianças que frequentam a mesma creche ou para crianças que são cuidadas pela mesma pessoa ou, ainda, para crianças que brincam junto com outras crianças que foram infectadas; para contatos sociais próximos, indivíduos que foram expostos à secreção oral em até uma semana antes do diagnóstico (exemplos: beijos, uso dos mesmos utensílios de alimentação ou da mesma escova de dente); profissionais médicos que estão mais próximosaos pacientes (exemplos: ressuscitação boca a boca ou exposição a secreções durante a entubação endotraqueal). Os antibióticos atualmente recomendados para quimioprofilaxia são: rifampicina, ciprofloxacina (adultos) ou ceftriaxona.

3. Quais são as outras doenças que este microrganismo pode causar?

3. Outras doenças causadas por *N. meningitidis* incluem: septicemia (meningococcemia), pneumonia, artrite e uretrite. Meningococcemia pode progredir para coagulação intravascular disseminada com choque e destruição bilateral das glândulas suprarrenais (síndrome de Waterhouse-Frederichsen).

4. Quais fatores de virulência estão associados com outras espécies deste gênero?

O gênero *Neisseria* possui dois patógenos muito bem conhecidos – *N. meningitidis* e *N. gonorrhoeae* – e uma variedade de espécies menos patogênicas. Ambas as espécies patogênicas são capazes de aderir e penetrar dentro das células do hospedeiro. Dentro das células elas evitam a morte intracelular, multiplicam-se e então passam através das células para o espaço subepitelial, onde a resposta inflamatória e a subsequente destruição do tecido são iniciadas pela endotoxina bacteriana.

Bibliografia

Centers for Disease Control and Prevention Revised recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices to vaccinate all persons aged 11–18 years with meningococcal conjugate vaccine. *Morb Mortal Wkly Report*. 2007;56:794-795.

Gardner P. Clinical practice: Prevention of meningococcal disease. *N Engl J Med*. 2006;355:1466-1473.

Glikman D, et al. Pneumonia and empyema caused by penicillin-resistant Neisseria meningitidis: A case report and literature review. *Pediatrics*. 2007;117:1061-1066.

Milonovich L. Meningococcemia: Epidemiology, pathophysiology, and management. *J Pediatr Health Care*. 2007;21:75-80.

Newman L, et al. Update on the management of gonorrhea in adults in the United States. *Clin Infect Dis*. 2007;44(Suppl):S84-S101.

Stephens D. Conquering the meningococcus. *FEMS Microbiol Rev*. 2007;31:3-14.

Trotter C, Ramsay M. Vaccination against meningococcal disease in Europe: Review and recommendations for the use of conjugate vaccines. *FEMS Microbiol Rev*. 2007;31:101-107.

Whiley D, et al. Nucleic acid amplification testing for Neisseria gonorrhoeae: An ongoing challenge. *J Mol Diagn*. 2006;8:3-15.

Winstead JM, et al. Meningococcal pneumonia: Characterization and review of cases seen over the past 25 years. *Clin Infect Dis*. 2000;30:87-94.

30 Enterobacteriaceae

A família Enterobacteriaceae é a maior e mais heterogênea coleção de **bacilos Gram negativos** de importância médica. Mais de 40 gêneros e centenas de espécies e subespécies foram descritas. Esse gênero foi classificado com base nas propriedades bioquímicas, estrutura antigênica, hibridização DNA-DNA e sequenciamento do rRNA 16S. Apesar da complexidade dessa família, relativamente poucas espécies são responsáveis pela maioria das infecções em humanos (Quadro 30-1).

Quadro 30-1 Enterobacteriaceae de Importância Médica

Citrobacter freundii, Citrobacter koseri

Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca

Morganella morganii

Proteus mirabilis

Salmonella enterica

Serratia marcescens

Shigella sonnei, Shigella flexneri

Yersinia pestis, Yersinia enterocolitica, Yersinia pseudotuberculosis

As bactérias da família Enterobacteriaceae são microrganismos **ubiquitários**, encontrados em todo o mundo no solo, na água, e na vegetação. Estes microrganismos fazem parte da flora normal da maioria dos animais, incluindo o homem. Estas bactérias causam também uma variedade de doenças em humanos, incluindo 30% a 35% de todas as bacteremias, mais de 70% das infecções do trato urinário (ITUs) e muitas infecções intestinais. Alguns microrganismos (p. ex., *Salmonella* sorotipo Typhi, espécies de *Shigella* e *Yersinia pestis*) estão **sempre associados a doenças em humanos**, enquanto outros (p. ex., *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*) são comensais, membros da flora normal, que podem causar **infecções oportunistas**. Existe um terceiro grupo de Enterobacteriaceae, que normalmente são microrganismos comensais e se tornam patogênicos quando adquirem genes de fatores de virulência localizados em plasmídeos, bacteriófagos ou ilhas de patogenicidade (p. ex., *E. coli* associada à gastroenterite). Infecções causadas por Enterobacteriaceae podem se originar de um reservatório animal (p. ex., a maioria das espécies de *Salmonella*, espécies de *Yersinia*), de um carreador humano (espécies d e *Shigella* e *Salmonella* sorotipo Typhi) ou por meio de transmissão endógena de microrganismos em pacientes suscetíveis (p. ex., *E. coli*), podendo envolver todos os sítios do corpo (Fig. 30-1).

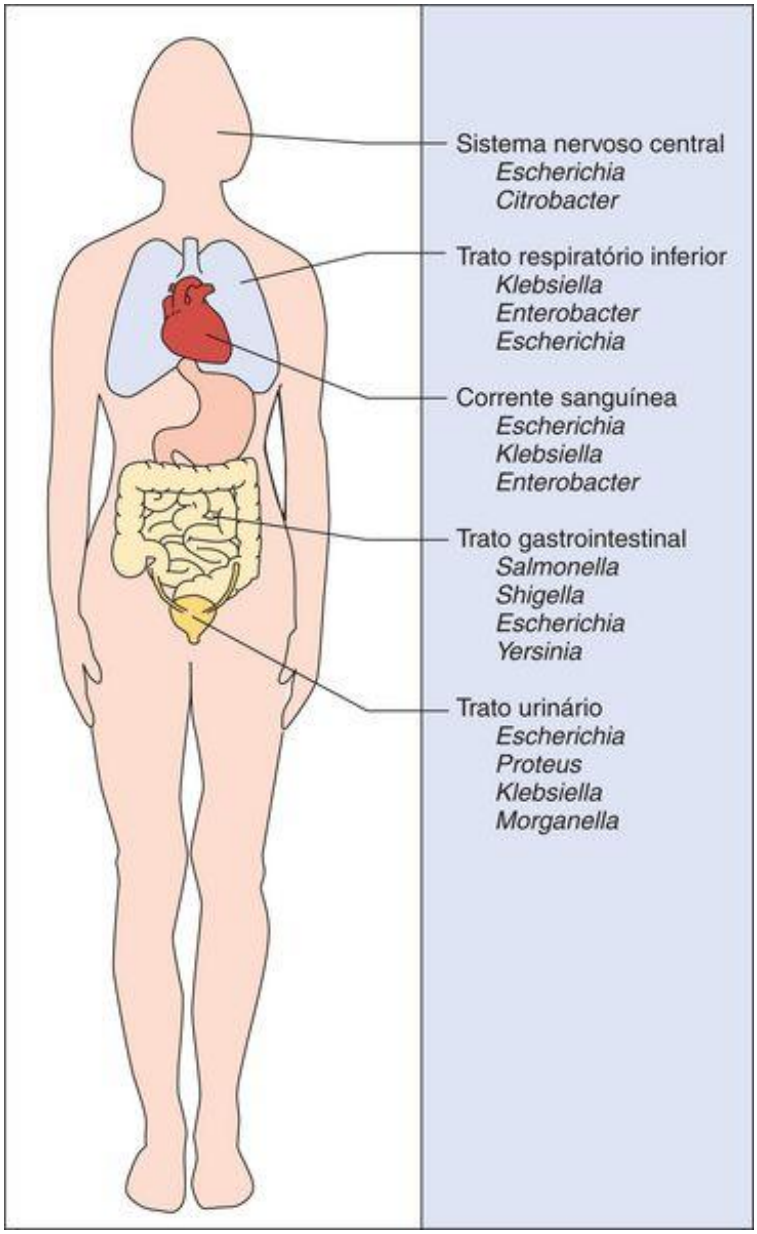


Figura 30-1 Sítios de infecções com membros comuns da família Enterobacteriaceae listados em ordem de prevalência.

Fisiologia e Estrutura

Os membros da família Enterobacteriaceae são bacilos Gram negativos de tamanho moderado (0,3 a 1,0 × 1,0 a 6,0μm) (Fig. 30-2). Eles compartilham um antígeno comum (**antígeno comum de enterobactéria**), são móveis com flagelos peritríqueos (uniformemente distribuídos pela célula) ou não são móveis e nem formam esporos. Todos os membros desta família podem crescer rapidamente, aerobicamente e anaerobicamente (**anaeróbios facultativos**), em uma variedade de meios seletivos (p. ex., agar MacConkey) e não seletivos (p. ex., agar sangue). As Enterobacteriaceae têm necessidades nutricionais simples, **fermentam glicose**, reduzem o nitrato, são catalase positiva e **oxidase negativa**. A ausência de atividade da citocromo oxidase é uma característica importante, podendo ser medida rapidamente com um teste simples e é usada para distinguir Enterobacteriaceae de outros bacilos Gram negativos fermentadores e não fermentadores. Existem poucas exceções a essa regra (p. ex., *Plesiomonas shigelloides* é oxidase positiva; *Klebsiella granulomatis* não pode ser cultivada em meios convencionais).

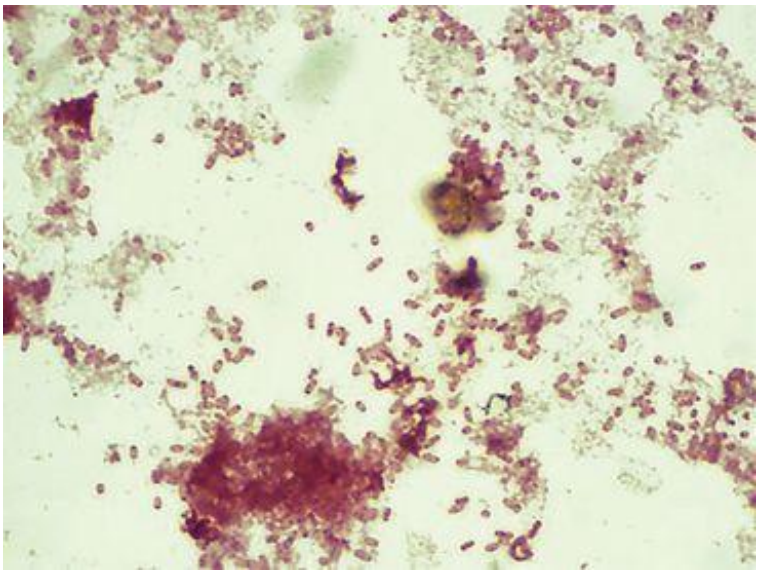


Figura 30-2 Coloração de Gram de *Salmonella* Typhi isolada de uma hemocultura positiva. Observe a intensa coloração nas extremidades da bactéria. A "coloração bipolar" é característica das Enterobacteriaceae.

Características das colônias de microrganismos em diferentes meios são usadas para identificar membros comuns da família Enterobacteriaceae. Por exemplo, a capacidade de **fermentar a lactose** (detectada pela mudança de cor no meio contendo lactose, como, por exemplo, em agar MacConkey) é usada para diferenciar cepas que fermentam lactose (p. ex., *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter* e *Serratia* spp.; colônias rosa-lilás no agar MacConkey) das cepas que não fermentam a lactose ou são lentas na fermentação (p. ex., *Proteus, Salmonella, Shigella* e *Yersinia* spp.; colônias sem cor no agar MacConkey). **Resistência aos sais biliares** em alguns meios seletivos é usada para distinguir patógenos entéricos (p. ex., *Shigella* e *Salmonella*) dos microrganismos comensais que são inibidos pelos sais biliares (bactérias Gram positivas e algumas Gram negativas presentes no trato gastrointestinal). Algumas Enterobacteriaceae têm **cápsulas** (p. ex., a maioria das cepas de *Klebsiella*, alguns *Enterobacter* e cepas de *Escherichia*), enquanto um envoltório viscoso, uma camada limosa difusa envolve outras cepas.

O **lipopolissacarídeo** (**LPS**) termoestável é o principal antígeno da parede celular e consiste de três componentes: o **polissacarídeo somático O** mais externo, um polissacarídeo central comum a todas as Enterobacteriaceae (antígeno comum de

enterobactéria) e o **lipídio A** (Fig. 30-3). O polissacarídeo central é importante para a classificação do microrganismo como um membro da família Enterobacteriaceae; o polissacarídeo O é importante para a classificação epidemiológica das cepas dentro da espécie; e o lipídio A, componente do LPS, é responsável pela atividade endotóxica, um importante fator de virulência.

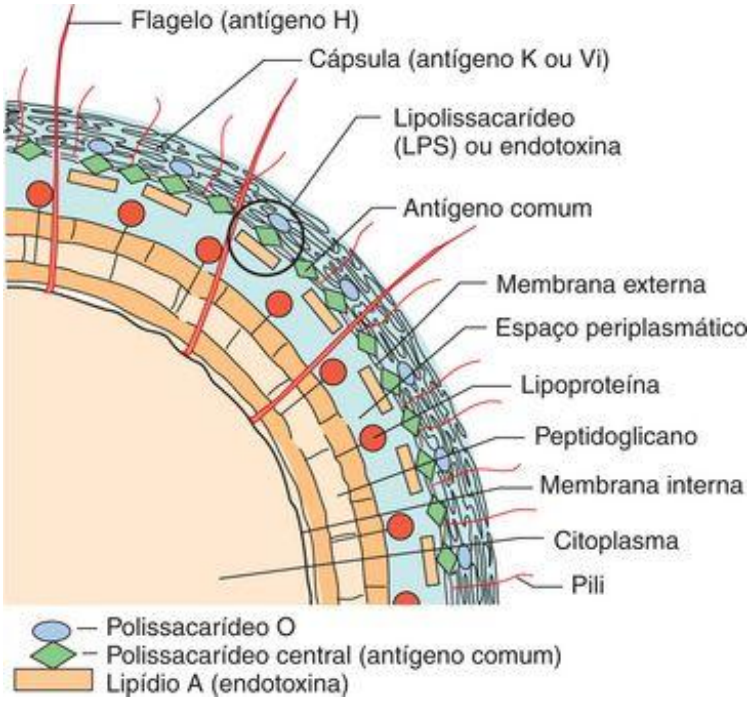


Figura 30-3 Estrutura antigênica das Enterobacteriaceae.

A classificação epidemiológica (sorológica) das Enterobacteriaceae se baseia em três principais grupos de antígenos: o **polissacarídeo somático** (**O**), o **antígeno capsular** (**K**) (polissacarídeos tipo específicos) e as **proteínas flagelares** (**H**). Os antígenos O específicos estão presentes em cada gênero, embora reações cruzadas entre gêneros relacionados sejam comuns (p. ex., *Salmonella* com *Citrobacter, Escherichia* com *Shigella*). Os antígenos são detectados por aglutinação com anticorpos específicos. Os antígenos K termolábeis não são comumente usados para tipagem das cepas, mas são importantes, pois podem interferir com a detecção dos antígenos O (*i.e.*, um problema que ocorre com algumas cepas de *Salmonella*). A fervura dos microrganismos para remover o antígeno K termolábil e expor o antígeno O termoestável resolve esse problema. Os antígenos H são proteínas conhecidas, como a flagelina e são termolábeis. Estas proteínas podem estar ausentes na célula bacteriana ou sofrer variação antigênica, podendo estar presentes em duas fases.

A maioria das Enterobacteriaceae é móvel, com a exceção dos isolados comuns de *Klebsiella, Shigella* e *Yersinia*. As cepas móveis possuem **flagelos** peritríqueos. Muitas Enterobacteriaceae possuem fímbrias (também conhecidas como *pili*), que são subdivididas em 2 classes: fímbrias comuns codificadas por genes cromossomais e a pili sexual que é codificada por genes localizados em plasmídeos conjugativos. As **fímbrias comuns** são importantes para a aderência bacteriana aos receptores específicos das células do hospedeiro, enquanto a **pili conjugativa ou sexual** facilita a transferência genética entre bactérias.

Patogênese e Imunidade

Numerosos fatores de virulência foram identificados nos membros da família Enterobacteriaceae. Alguns são comuns para todos os gêneros (Quadro 30-2) e outros específicos para cepas virulentas.

Endotoxina

A **endotoxina** é um fator de virulência encontrado em bactérias Gram negativas aeróbias e algumas anaeróbias. A atividade dessa toxina depende do **lipídio A,** componente do LPS, que é liberado após a lise celular. Muitas manifestações sistêmicas das infecções por bactérias Gram negativas são iniciadas pela endotoxina que ativa o complemento, causa liberação de citocinas, leucocitose, trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada, febre, diminuição da circulação periférica, choque e morte.

Cápsula

As Enterobacteriaceae encapsuladas são protegidas da fagocitose pelos antígenos capsulares hidrofílicos, que repelem a superfície hidrofóbica da célula fagocítica. Estes antígenos interferem com a ligação dos anticorpos na bactéria, são pouco imunogênicos e incapazes de ativar o complemento. O papel protetor da cápsula diminui, se o paciente desenvolve anticorpos específicos contra a cápsula.

Variação de Fase Antigênica

As expressões dos antígenos capsular K e flagelar H estão sob controle genético do microrganismo. Cada um desses antígenos pode ser alternadamente expresso ou não (variação de fase), uma característica que protege a bactéria da morte mediada pelo anticorpo.

Sistemas de Secreção Tipo III

Uma variedade de bactérias (p. ex., *Yersinia, Salmonella, Shigella, Escherichia* enteropatogenica, *Pseudomonas* e *Chlamydia*) tem um sistema efetor comum para entregar seus fatores de virulência nas células eucarióticas alvo. O **sistema de secreção tipo III** pode ser visualizado como uma seringa molecular que consiste de aproximadamente 20 proteínas, que facilitam a secreção de fatores de virulência bacterianos quando a bactéria entra em contato com as células hospedeiras. Embora os fatores de virulência e seus efeitos sejam diferentes entre os vários bacilos Gram negativos, o mecanismo pelo qual os fatores de virulência são introduzidos é o mesmo. Na ausência do sistema de secreção tipo III, a bactéria perde sua virulência.

Sequestração de Fatores de Crescimento

Os nutrientes são fornecidos ao microrganismo no meio de cultura enriquecido, mas quando a bactéria cresce *in vivo* deve se tornar um predador para obter nutrientes. O ferro é um importante fator de crescimento necessário para a bactéria, mas está associado às **proteínas heme** (p. ex., hemoglobina, mioglobina) ou em **proteínas queladoras de ferro** (p. ex., transferrina, lactoferrina). A bactéria contra-ataca produzindo seus próprios sideróforos ou compostos queladores de ferro **enterobactina, aerobactina**. O ferro pode também ser liberado das células hospedeiras pelas hemolisinas produzidas pelas bactérias.

Resistência aos Efeitos Bactericidas do Soro

Enquanto muitas bactérias podem ser rapidamente eliminadas do sangue, microrganismos virulentos são capazes de produzir infecções sistêmicas e frequentemente resistem à morte mediada pelo soro. Embora as cápsulas bacterianas possam proteger o microrganismo da morte no soro, outros fatores impedem a ligação do complemento à bactéria e, subsequentemente, a eliminação da bactéria mediada pelo complemento.

Resistência aos Antimicrobianos

Tão rapidamente quanto novos antibióticos são introduzidos, os microrganismos podem desenvolver resistência a eles. Esta resistência pode ser codificada por plasmídeos transferíveis e trocada entre as espécies, gêneros e mesmo famílias de bactérias.

Escherichia coli (Quadro 30-3)

Escherichia coli é o mais comum e mais importante membro do gênero *Escherichia*. Este microrganismo está associado a uma variedade de doenças, incluindo gastroenterite e infecções extraintestinais como infecções do trato urinário (ITUs), meningites e sepses. Uma variedade de cepas pode causar doenças, sendo alguns sorotipos associados à virulência (p. ex., *E. coli* O157 é a causa mais comum de colite hemorrágica).

Quadro 30-3 Resumo: *Escherichia coli*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos

Fermentadores, oxidase negativos

Lipopolissacarídeo consiste do polissacarídeo externo do antígeno somático O, o polissacarídeo central (antígeno comum) e o lipídio A (endotoxina)

Virulência — consultar o Quadro 30-2; Tab. 30-1

Pelo menos 5 grupos patogênicos diferentes causam gastroenterite (EPEC, ETEC, EHEC, EIEC, EAEC); a maioria causa doenças em países em desenvolvimento, embora EHEC seja uma causa importante de colite hemorrágica (HC) e síndrome urêmica hemolítica (HUS) nos Estados Unidos.

Doenças extraintestinais incluem bacteremia, meningite neonatal, infecções do trato urinário e infecções intra-abdominais

Tabela 30-1 Fatores de Virulência Especializados Associados à *Escherichia coli*

Bactéria	Adesinas	Exotoxinas
ETEC	Antígeno do fator de colonização (CFA/I, CFA/II, CFA/III)	Toxina termolábil (LT-1); toxina termoestável (STa)
EPEC	Pili BFP (“Proteína formadora de feixe”); intimina	
EAEC	Fímbria de aderência agregativa (AAF/I, AAF/II, AAF/III)	Toxina termoestável enteroagregativa (EAST); toxina codificada pelo plasmídeo (Pet)
EHEC	BFP, intimina	Toxinas shiga (Stx-1, Stx-2)

EIEC	Antígeno do plasmídeo de invasão (Ipa)	Hemolisina (HlyA)
Uropatógenos	Pili P; fímbria Dr	

Epidemiologia

Aeróbio mais comum, bacilo Gram negativo no trato gastrointestinal

Maioria das infecções é endógena (flora microbiana do paciente), embora as cepas que causam gastroenterite são geralmente adquiridas exogenamente

Diagnóstico

Microrganismos crescem rapidamente na maioria dos meios de cultura

Patógenos entéricos, com exceção de EHEC, são detectados somente em laboratórios de referência ou de pesquisa

Tratamento, Prevenção e Controle

Patógenos entéricos são tratados sintomaticamente a menos que ocorra a disseminação da doença

Terapia com antimicrobianos é orientada pelos testes de suscetibilidade *in vitro*

Práticas adequadas de controle de infecção são usadas para reduzir o risco de infecção nosocomial (p. ex., restrição ao uso de antibióticos e de cateteres urinários desnecessários)

Manutenção dos altos padrões de higiene para reduzir o risco de exposição às cepas gastrointestinais

Cozimento adequado dos produtos de carne bovina para reduzir o risco de infecções por EHEC

Quadro 30-2 Fatores de Virulência Geralmente Associados à Enterobacteriaceae

Endotoxina

Cápsula

Variação de fase antigênica

Sistemas de secreção tipo III

Sequestração de fatores de crescimento

Resistência aos efeitos bactericidas do soro

Resistência aos antimicrobianos

Patogênese e Imunidade

E. coli possui uma variedade de fatores de virulência (Tab. 30-1). Além de todos os fatores comuns a todos os membros da família Enterobacteriaceae, as cepas de *E. coli* possuem fatores de virulência específicos, que podem ser organizados em duas categorias principais: adesinas e exotoxinas. A função desses fatores será discutida em detalhes nas seções seguintes.

Epidemiologia

Um grande número de *E. coli* está presente no trato gastrointestinal. Embora este microrganismo possa ser oportunista quando os intestinos são perfurados e a bactéria entra no peritônio, a maioria das cepas de *E. coli* causa doenças gastrointestinais e extraintestinais porque adquiriram fatores de virulência específicos, codificados nos plasmídeos, nas ilhas de patogenicidade ou no DNA de bacteriófagos. A eficiência de *E. coli* como um patógeno se deve ao fato da bactéria ser: (1) o bacilo Gram negativo mais comum isolado de pacientes com sepse (Fig. 30-4); (2) responsável por causar mais de 80% de todas as ITUs adquiridas na comunidade, bem como muitas infecções hospitalares; e (3) uma causa relevante de gastroenterite em países em desenvolvimento. A maioria das infecções (com exceção da meningite neonatal e gastroenterite) é endógena; ou seja, *E. coli* que faz parte da flora normal do paciente é capaz de estabelecer a infecção quando as defesas do paciente estão comprometidas.

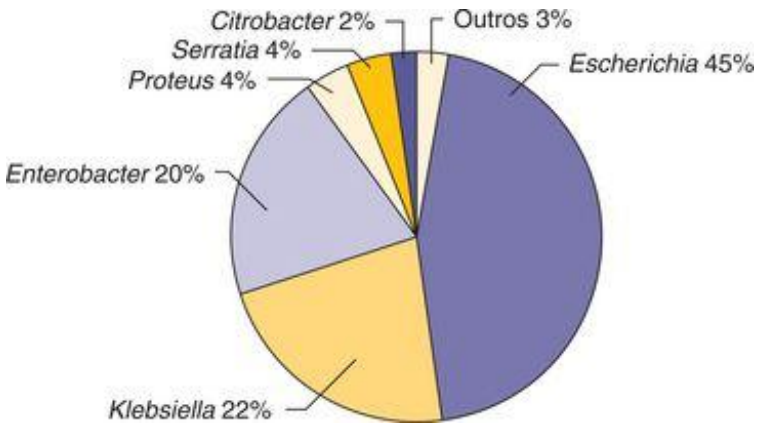


Figura 30-4 Incidência de Enterobacteriaceae associada à bacteremia.

(Cortesia de Barnes-Jewish Hospital, St. Louis, Missouri.)

Gastroenterite

As cepas de *E. coli* que causam gastroenterite são subdivididas em cinco grupos principais: enterotoxigênica (ETEC), enteropatogênica (EPEC), enteroagregativa (EAEC), enterohemorrágica (EHEC) e enteroinvasiva (EIEC) (Tab. 30-2). Os três primeiros grupos causam uma diarreia secretora envolvendo o intestino delgado, enquanto nos dois últimos grupos a infecção envolve o intestino grosso.

Tabela 30-2 Gastroenterite Causada por *Escherichia coli*

Tabela 30-2. Gastroenterite Causada por *Escherichia coli*

Microrganismo	Sítio de Ação	Doença	Patogênese
E. coli enterotoxigênica (ETEC)	Intestino delgado	Diarreia dos viajantes, diarreia infantil em países em desenvolvimento, diarreia aquosa, vômito, cólicas, náusea, febre baixa	Mediada por plasmídeo, enterotoxinas termoestável e/ou termolábil que estimulam a hipersecreção de fluidos e eletrólitos
E. coli enteropatogênica (EPEC)	Intestino delgado	Diarreia infantil em países subdesenvolvidos, diarreia aquosa e vômito, fezes sem sangue	Mediada por plasmídeo, lesão A/E com destruição das estruturas normais das microvilosidades, causando má absorção e diarreia
E. coli enteroagregativa (EAEC)	Intestino delgado	Diarreia infantil em países subdesenvolvidos, diarreia dos viajantes, diarreia aquosa persistente com vômito, desidratação e febre baixa	Aderência agregativa mediada por plasmídeo (aspecto de tijolos empilhados) com encurtamento das microvilosidades, infiltração de mononucleares e hemorragia; diminuição da absorção de fluido
E. coli enterohemorrágica (EHEC)	Intestino grosso	Diarreia aquosa inicial seguida de diarreia sanguinolenta (colite hemorrágica) com cólicas abdominais, pouca ou nenhuma febre, pode progredir para a síndrome urêmica hemolítica (HUS)	Mediada pelas toxinas Shiga citotóxicas (Stx-1, Stx-2), que inibem a síntese de proteínas; lesões A/E com destruição das microvilosidades intestinais, resultando em diminuição da absorção
E. coli enteroinvasiva (EIEC)	Intestino grosso	Doença ocorre em países em desenvolvimento; febre, cólicas, diarreia aquosa, pode progredir para disenteria, fezes sanguinolentas	Invasão mediada por plasmídeo e destruição das células epiteliais que revestem o cólon

A/E: lesão A/E ("attachment/effacement" - adesão/obliteração ou destruição).

ETEC

A doença causada pela ***E. coli*** enterotoxigênica é encontrada principalmente em países em desenvolvimento (estimada em 650 milhões de casos por ano), entretanto, acredita-se que aproximadamente 80 mil casos ocorram anualmente em viajantes dos Estados Unidos. A doença é endêmica em populações nativas americanas. As infecções são frequentemente observadas em crianças pequenas de países em desenvolvimento ou viajantes que vão para essas áreas. O inóculo para a doença é alto, assim as infecções são basicamente **adquiridas pelo consumo de água e alimentos contaminados com fezes**. A transmissão pessoa a pessoa não ocorre. A **diarreia secretora** causada pela ETEC ocorre após 1 ou 2 dias de incubação e persiste em média por 3 a 5 dias. Os sintomas (diarreia aquosa e cólica abdominal; náusea e vômito raramente são observados) são similares àqueles observados nos casos de

cólera, mas geralmente são mais brandos, particularmente em adultos. Nenhuma alteração histológica ou inflamação da mucosa intestinal é observada.

As cepas de ETEC produzem duas classes de enterotoxinas: **toxinas termolábeis** (LT-I, LT-II) e **toxinas termoestáveis** (STa e STb). LT-I é funcional e estruturalmente similar à toxina colérica (Cap. 31) e está relacionada com doenças em humanos, enquanto LT-II não está relacionada. A toxina consiste de uma subunidade A e 5 subunidades B idênticas. As subunidades B se ligam ao mesmo receptor da toxina colérica (gangliosídeos GM_1), bem como a outras glicoproteínas de superfície das células do epitélio no intestino delgado.

Após endocitose, a subunidade A de LT-I sofre translocação através da membrana do vacúolo. A subunidade A tem atividade adenosina difosfato (ADP)-ribosiltransferase e interage com uma proteína de membrana (Gs) que regula a adenilciclase. O efeito net dessa interação é um **aumento dos níveis de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP)**, aumento da secreção de cloro e diminuição da absorção de sódio e cloro. Essas alterações ocorrem na diarreia aquosa. A exposição da toxina também estimula a secreção de prostaglandina e produção de citocinas inflamatórias, resultando em perda de fluido.

STa, mas não STb, está associada às doenças em humanos. STa é um peptídeo monomérico pequeno que se liga ao receptor transmembrana guanilato ciclase, resultando no **aumento de monofosfato de guanosina cíclica (cGMP)** e subsequente hiperssecreção de fluidos. Os genes para LT-I e STa estão presentes em um **plasmídeo transferível**, que pode também carrear genes para as **adesinas conhecidas como fatores de colonização (CFA/I, CFA/II, CFA/III)**. Os fatores de colonização são fimbrias que reconhecem receptores específicos de glicoproteínas no hospedeiro (define a especificidade do hospedeiro). Tanto a toxina como os fatores de colonização são necessários para o desenvolvimento da doença. A doença mediada pela toxina termoestável não se distingue daquela mediada pela toxina termolábil.

EPEC

***E. coli* enteropatogênica** foi a primeira *E. coli* associada à doença diarreica e permanece a **principal causa de diarreia infantil em países pobres**. A doença é rara em países desenvolvidos, exceto em creches onde ocorrem surtos raros. Esta doença também é rara em crianças mais velhas e em adultos, provavelmente porque nestes grupos etários os indivíduos já desenvolveram imunidade protetora. Em contraste com a doença causada por ETEC, a **transmissão pessoa a pessoa** ocorre na doença causada por EPEC. Assim, é provável que a dose infectante necessária seja mais baixa. A doença é caracterizada pela **diarreia aquosa** que pode ser grave e prolongada. Também podem ocorrer febre e vômito.

A infecção começa com a ligação da bactéria às células do epitélio do intestino delgado, com subsequente destruição das microvilosidades (**lesão A/E** [**"attachment/effacement"** – **adesão/obliteração ou destruição**]). A agregação inicial da bactéria leva à formação de microcolônias na superfície celular do epitélio mediada pela **pili BFP ("Proteína formadora de feixes")** codificada pelo plasmídeo. As etapas que ocorrem após a ligação da bactéria são reguladas pelos genes codificados pela **ilha de patogenicidade LEE ("locus of enterocyte effacement" - locus de obliteração de enterócitos)**. Essa ilha de patogenicidade possui mais de 40 genes responsáveis pela ligação da bactéria e destruição da superfície da célula hospedeira. Após a aderência frouxa mediada pela pili BFP, ocorre secreção ativa de proteínas bacterianas dentro da célula epitelial hospedeira, por meio do sistema de secreção tipo III. A proteína **Tir ("receptor de translocação da intimina")** é inserida na membrana da célula epitelial e atua como receptor para a adesina de membrana externa, a **intimina**. A ligação da intimina à proteína Tir resulta na polimerização da actina e no acúmulo dos elementos do citoesqueleto, situados abaixo do sítio de adesão da bactéria. Ocorre ainda perda da integridade da superfície celular e morte celular.

EAEC

As cepas de ***E. coli* enteroagregativa** estão envolvidas nos casos de diarreia aquosa persistente com desidratação em crianças de países em desenvolvimento e em viajantes que visitam estes países. Os surtos de gastroenterite causados pela EAEC foram descritos nos Estados Unidos, Europa e Japão. O microrganismo é provavelmente uma causa relevante de diarreia infantil em países desenvolvidos. Esta é uma das poucas bactérias associadas com **diarreia crônica e crescimento retardado** em crianças.

As bactérias são caracterizadas pela autoaglutinação, como em um arranjo de "tijolos empilhados". Este processo é mediado pela **fímbria de aderência agregativa I (AAF/I)**, adesinas similares à BFP e responsáveis pela formação de microcolônias de EPEC. Outras fimbrias de aderência agregativa (AAF/II, AAF/III) também foram descritas. Após aderência de EAEC à superfície do intestino, a secreção de muco é estimulada, levando à formação de um biofilme espesso. Este processo protege a bactéria agregada dos antibióticos e células fagocíticas. Além disso, dois grupos de toxinas estão associados com EAEC: a **toxina termoestável enteroagregativa** (**EAST**) e a **toxina codificada por plasmídeo** (**PET**). EAST induz secreção de fluidos e é antigenicamente relacionada à toxina termoestável de ETEC. A toxina PET também induz secreção de fluidos.

EHEC (Caso Clínico 30-1)

As cepas de ***E. coli* entero-hemorrágica** frequentemente causam doenças em países desenvolvidos. A estimativa é de que essa bactéria cause 73 mil infecções e 60 mortes por ano nos Estados Unidos. A doença causada por EHEC ocorre com mais frequência nos meses quentes e apresenta alta incidência em crianças com menos de 5 anos de idade. A maioria das infecções é atribuída ao consumo de carne moída malcozida ou outros produtos derivados da carne, água, leite não pasteurizado, suco de frutas (p. ex., cidra feita com maçãs contaminadas com fezes de bovinos), vegetais malcozidos, como espinafre e frutas. A **ingestão de menos de 100 bactérias pode causar a doença**, e a transmissão cruzada entre as pessoas também ocorre.

Caso Clínico 30-1 Surto Multiestadual de Infecções Causadas por EHEC

Em 2006, a *Escherichia coli* O157 foi responsável por um grande surto multiestadual de gastroenterite. O surto foi associado à contaminação do espinafre, com um total de 173 casos descritos em 25 estados, durante um período de 18 dias. O surto resultou na hospitalização de mais de 50% dos pacientes com doença documentada, uma taxa de 16% de síndrome urêmica hemolítica e uma morte. Apesar da ampla distribuição do espinafre contaminado, a divulgação do surto e a rápida determinação da fonte responsável pelo surto, prontamente resultou na remoção do espinafre dos estoques dos supermercados e no final do surto. Isto ilustra como a contaminação de um produto alimentar, mesmo com pequeno número de microrganismos, pode levar a um surto disseminado com um microrganismo particularmente virulento como as cepas de EHEC.

A doença causada por EHEC pode variar de uma diarreia branda sem complicações até uma **colite hemorrágica,** com dores abdominais e diarreia com sangue. Inicialmente, a diarreia com dor abdominal se desenvolve em pacientes após 3 a 4 dias de incubação. Em aproximadamente metade dos pacientes se observa vômito, mas geralmente não ocorre febre alta. Após um período de 2 dias de latência, em 30% a 65% dos pacientes, a doença progride para uma diarreia sanguinolenta com dores abdominais intensas. Na maioria dos pacientes não tratados, os sintomas desaparecem completamente entre 4 a 10 dias. A **síndrome urêmica hemolítica** (**HUS**), uma desordem caracterizada pela falha renal aguda, trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática, é uma complicação que ocorre em 5% a 10% das crianças menores de 10 anos infectadas por EHEC. Os sintomas desaparecem entre 4 a 10 dias na maioria dos pacientes não tratados. Porém, o óbito pode ocorrer em 3% a 5% dos pacientes com HUS e sequelas graves (p. ex., insuficiência renal, hipertensão,

manifestações do sistema nervoso central) podem ocorrer em até 30% dos pacientes com HUS.

A cepa mais conhecida de EHEC é o sorotipo O157: H7. Esta cepa representa um clone que evoluiu de EPEC e que expressa **atividade A/E** (***attaching and effacing*** – **adesão/obliteração ou destruição**). Além disso, essas cepas adquiriram a **toxina Shiga** (Stx-1, Stx-2 ou ambas). A Stx-1 é idêntica à toxina Shiga produzida pela *Shigella dysenteriae* (daí a origem do nome) e a Stx-2 tem 60% de homologia. Ambas as toxinas são adquiridas pelos bacteriófagos lisogênicos. Essas toxinas apresentam uma subunidade A e cinco subunidades B que se ligam ao glicolipídeo específico na célula hospedeira (globotriaosilceramida, Gb_3). Uma elevada concentração de receptores Gb_3 é encontrada nas vilosidades intestinais e nas células endoteliais renais. Após internalização, a subunidade A é clivada em duas moléculas, produzindo o fragmento A1 que se liga ao ácido ribonucleico ribossomal 28S (rRNA) e causa o bloqueio da síntese de proteínas. As cepas EHEC que produzem as duas toxinas Shiga e atividade A/E são mais patogênicas que as cepas que produzem apenas uma toxina Shiga.

A HUS foi associada com a produção de Stx-2, que é capaz de destruir as células endoteliais do glomérulo. Os danos às células endoteliais levam a ativação de plaquetas e deposição de trombina, que por sua vez resulta na diminuição da filtração glomerular e falha renal aguda. As toxinas Shiga também estimulam a expressão de citocinas inflamatórias (p. ex., fator de necrose tumoral [TNF] – γ, interleucina [IL] – 6), que entre outros efeitos aumentam a expressão de Gb_3.

EIEC

As cepas de ***E. coli*** **enteroinvasora** são raras nos Estados Unidos e pouco frequentes nos países em desenvolvimento. As cepas patogênicas são primariamente associadas com poucos sorotipos O: O124, O143 e O164. As cepas são relacionadas à *Shigella* devido às suas propriedades fenotípicas e patogênicas. As bactérias são capazes de invadir e destruir o epitélio do cólon, produzindo uma doença caracterizada inicialmente pela **diarreia aquosa**. Em uma minoria de pacientes, a doença progride para uma forma de disenteria, consistindo de febre, dores abdominais, sangue e leucócitos nos espécimes fecais.

Vários genes plasmidiais (**genes *pInv***) estão envolvidos na invasão da bactéria ao epitélio do cólon. As bactérias lisam os vacúolos fagocíticos e se multiplicam no citoplasma da célula. O movimento dentro do citoplasma em direção às células epiteliais adjacentes é regulado pela formação de filamentos de actina (similares àqueles observados em *Listeria*). Este processo de destruição de células epiteliais com infiltração inflamatória pode avançar causando ulceração do cólon.

Infecções Extraintestinais

INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO (ITU)

A maioria dos bacilos Gram negativos que produz ITUs é proveniente do cólon, contamina a uretra, ascende até a bexiga e pode migrar até o rim ou próstata. A maioria das cepas de *E. coli* pode produzir ITUs, entretanto a doença é mais comum em alguns sorogrupos específicos. Estas bactérias são particularmente virulentas, pois possuem a capacidade de produzir **adesinas** (basicamente, a pili P, AAF/I, AAF/III e Dr), que se ligam às células que revestem a bexiga e o trato urinário superior (a aderência impede a eliminação da bactéria durante a micção) e produzem a **hemolisina HlyA**, que lisa os eritrócitos e outros tipos celulares (levando à liberação de citocina e estimulando uma resposta inflamatória).

MENINGITE NEONATAL

As cepas de *E. coli* e estreptococos do grupo B causam a maioria das infecções do sistema nervoso central (SNC) em crianças com menos de 1 mês de idade. Aproximadamente 75% das cepas de *E. coli* possuem o **antígeno capsular K1**. Este sorogrupo também está presente no trato gastrointestinal de mulheres grávidas e crianças recém-nascidas. Entretanto, o motivo de este sorogrupo ter uma predileção para causar doenças em recém-nascidos não é compreendido.

SEPTICEMIA

Tipicamente, a septicemia causada pelos bacilos Gram negativos, como *E. coli,* tem como origem as infecções do trato urinário e gastrointestinal (p. ex., a perfuração do intestino leva a uma infecção intra-abdominal). A mortalidade associada à septicemia causada por *E. coli* é alta em pacientes cuja imunidade está comprometida ou quando a infecção primária está no abdômen ou no sistema nervoso central (SNC)

Salmonella (Quadro 30-4)

A classificação taxonômica do gênero *Salmonella* é problemática. Estudos de homologia de DNA revelam que a maioria das cepas isoladas clinicamente pertence à espécie de *Salmonella enterica*. Já foram descritos mais de 2.500 sorotipos para esta única espécie; entretanto, estes sorotipos geralmente são descritos como espécies individuais (p. ex., *Salmonella typhi, Salmonella choleraesuis, "Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis*). Estas designações não estão corretas. Por exemplo, a nomenclatura correta é *Salmonella enterica*, sorovar. Typhi". Num esforço para evitar essa confusão e ainda manter os termos históricos, os sorotipos individuais agora são escritos com a inicial do nome do sorotipo em letra maiúscula e não em itálico. Por exemplo, *Salmonella enterica*, sorovar. Typhi é designada como *Salmonella* Typhi".

Quadro 30-4 Resumo: *Salmonella*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos

Fermentadores, oxidase negativos

Lipopolissacarídeo consiste do polissacarídeo externo do antígeno somático O, o polissacarídeo central (antígeno comum) e o lipídio A (endotoxina)

Mais de 2.500 sorotipos O

Virulência — consultar o Quadro 30-2; tolerante aos ácidos nas vesículas fagocíticas

Pode sobreviver no macrófago e se espalhar a partir do intestino para outros sítios do corpo

Doenças: enterite (febre, náusea, vômito, diarreia com ou sem sangue, cólicas abdominais) febre entérica (febre tifoide, febre paratifoide); bacteremia (geralmente causada por *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Choleraesuis); colonização assintomática (principalmente por *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi)

Epidemiologia

A maioria das infecções é adquirida pelo consumo de alimentos contaminados (aves, ovos e laticínios são as fontes mais comuns de infecção)

Transmissão direta orofecal em crianças

Salmonella Typhi e *Salmonella* Paratyphi são patógenos humanos estritos (nenhum outro reservatório); estas infecções são transmitidas pessoa a pessoa; colonização assintomática prolongada ocorre com frequência

Indivíduos com risco de infecção são aqueles que consomem aves ou ovos mal-cozidos, pacientes com níveis reduzidos de ácido gástrico e os imunocomprometidos

As infecções ocorrem no mundo inteiro, particularmente nos meses quentes do ano

Diagnóstico

Isolamento dos espécimes de fezes requer uso de meio seletivo

Tratamento, Prevenção e Controle

Terapia com antimicrobianos não é recomendada para enterite, pois pode prolongar a duração da doença

Infecções causadas por *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi ou infecções disseminadas, causadas por outros microrganismos, devem ser tratadas com um antibiótico efetivo (selecionado em testes de suscetibilidade *in vitro*); fluoroquinolonas (p. ex., ciprofloxacina), cloranfenicol, sulfametoxazol-trimetoprim ou uma cefalosporina de amplo espectro podem ser usados

A maioria das infecções pode ser controlada pela preparação adequada de aves e ovos (completamente cozidos), evitando a contaminação de outros alimentos com produtos avícolas não cozidos

Carreadores de *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi devem ser identificados e tratados

Vacinação contra *Salmonella* Typhi pode reduzir o risco de doenças em viajantes nas áreas endêmicas

Patogênese e Imunidade

Após a ingestão e passagem pelo estômago, a *Salmonella* adere à mucosa do **intestino delgado** e invade as **células M** (micropregas) localizadas nas placas de Peyer, bem como os enterócitos. As bactérias permanecem em um vacúolo endocítico, onde se multiplicam e podem ser transportadas através do citoplasma, sendo liberadas na circulação sanguínea ou linfática. A regulação da aderência, engolfamento pela membrana e multiplicação é controlada basicamente por dois grandes grupos de genes (**ilhas de patogenicidade, PAI**) no cromossoma bacteriano. A **ilha de patogenicidade I** (**PAI I**) codifica as proteínas de invasão secretadas por *Salmonella* (Ssps) e um sistema de secreção tipo III que injeta as proteínas na célula hospedeira. A **ilha de patogenicidade II** (**PAI II**) contém os genes que permitem que a bactéria escape da resposta imune do hospedeiro e um segundo sistema de secreção tipo III para esta função. Como na maioria das infecções, a resposta inflamatória se restringe à infecção no trato gastrointestinal, se envolve na liberação de prostaglandinas, estimula o cAMP e ativa a secreção de fluidos.

Epidemiologia

Salmonella pode colonizar praticamente todos os animais, incluindo aves domésticas, répteis, gado, roedores, animais domésticos, pássaros e humanos. A transmissão de um animal para o outro e o uso de rações contaminadas com *Salmonella* mantêm um **reservatório animal**. Os sorotipos como *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi são altamente **adaptados aos humanos** e não causam doença em hospedeiros não humanos. Outros sorotipos de *Salmonella* (p. ex., *Salmonella* Choleraesuis) são adaptados em animais e podem causar doença grave quando infectam humanos. Além disso, em contraste com outros sorotipos de *Salmonella*, as cepas que são altamente adaptadas aos humanos (i.e. *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi) podem sobreviver na vesícula biliar e estabelecer o estado de carreador crônico. Muitas cepas de *Salmonella* não têm especificidade ao hospedeiro e causam doenças tanto em humanos com em hospedeiros não humanos.

A maioria das infecções resulta da **ingestão** de produtos alimentares contaminados e da transmissão orofecal. A incidência da doença é maior em crianças com menos de 5 anos e em adultos acima de 60 anos, que são comumente infectados durante os meses de verão e outono quando os alimentos contaminados são consumidos em eventos sociais ao ar livre. As fontes mais comuns de infecções humanas são **aves domésticas, ovos, laticínios** e alimentos preparados em superfícies contaminadas (tábuas de corte onde aves domésticas cruas foram preparadas). Aproximadamente 45.000 casos de infecções por *Salmonella* não tifoide foram descritos nos Estados Unidos em 2005, entretanto foi estimado que mais de 1,4 milhão de infecções e 600 mortes ocorrem a cada ano. As infecções por *Salmonella* Typhi ocorrem quando são ingeridos alimentos ou água contaminados por pessoas que manuseiam alimentos contaminados. Não há reservatório animal. Em média, 350 infecções por *Salmonella* Typhi são descritas anualmente nos Estados Unidos, a maioria adquirida durante viagens ao exterior. Em contraste, foi estimado que 21 milhões de infecções por *Salmonella* Typhi e 200.000 mortes ocorrem a cada ano em todo o mundo. O risco da doença é alto em crianças que vivem na pobreza, em países em desenvolvimento.

A dose infectante para infecções por *Salmonella* Typhi é baixa, assim a transmissão pessoa a pessoa é comum. Em contraste, um grande inóculo (p. ex., 10^6 a 10^8 bactérias) é necessário para o desenvolvimento de doença sintomática com a maioria dos outros sorotipos de *Salmonella*. Estes microrganismos podem se multiplicar até alta quantidade, se produtos de alimentos contaminados são inadequadamente estocados (p. ex., se deixados à temperatura ambiente). A dose infectante é baixa para pessoas com alto risco adquirirem doenças relacionadas à idade, imunossupressão, doença subjacente (leucemia, linfoma, doença da célula falciforme) ou acidez gástrica reduzida.

Doenças Clínicas

Existem quatro formas de infecção por *Salmonella*: gastroenterite, septicemia, febre entérica e colonização assintomática.

Gastroenterite

A gastroenterite é a **forma mais comum de salmonelose** nos Estados Unidos. Os sintomas geralmente aparecem de 6 a 48 horas após o consumo de alimento ou água contaminados, com uma apresentação inicial consistindo de **náusea, vômito** e **diarreia sem sangue**. Também são comuns febre, cólica abdominal, mialgia e dor de cabeça. O envolvimento do cólon pode ser demonstrado na forma aguda da doença. Os sintomas podem persistir por 2 dias a 1 semana antes da resolução espontânea.

Septicemia

Todas as espécies de *Salmonella* podem causar bacteremia, entretanto infecções causadas por *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi e *Salmonella* Choleraesuis geralmente levam a uma fase de bacteremia. O risco de bacteremia por *Salmonella* é elevado em pacientes pediátricos, geriátricos e em imunocomprometidos (infecções causadas por HIV, doença da célula falciforme e imunodeficiências congênitas). A apresentação clínica da bacteremia causada por *Salmonella* é parecida com as bacteremias causadas por outras bactérias Gram negativas, entretanto as infecções supurativas localizadas (p. ex., osteomielite, endocardite, artrite) podem ocorrer em até 10% dos pacientes.

Febre Entérica (Caso clínico 30-2)

Salmonella Typhi produz uma doença febril chamada **febre tifoide**. Uma forma branda da doença, descrita como **febre paratifoide** é causada pela *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Schottmuelleri (antiga *Salmonella* Paratyphi B) e *Salmonella* Hirschfeldii (antiga *Salmonella* Paratyphi C). Outros sorotipos de *Salmonella* raramente produzem uma síndrome similar. As bactérias responsáveis pela febre entérica atravessam as células que revestem o intestino e são engolfadas pelos macrófagos. Elas se multiplicam depois de transportadas para o fígado, baço e para a medula óssea. Dez a 14 dias após a ingestão das bactérias, os pacientes gradualmente experimentam febre crescente com complicações não específicas de dores de cabeça, mialgias, mal-estar e anorexia. Esses sintomas persistem por 1 semana ou mais e são acompanhados de sintomas de gastroenterite. Este ciclo corresponde a uma fase inicial de bacteremia que é acompanhada pela colonização da vesícula biliar e reinfecção dos intestinos. A febre entérica é uma doença clínica séria e deve ser suspeita em pacientes febris que viajaram recentemente para países em desenvolvimento onde a doença é endêmica.

Caso Clínico 30-2 Infecção Causada por *Salmonella* Typhi

Foi descrito por Scully et al. (N Engl J Med 345:201-205, 2007) um caso no qual uma mulher de 25 anos de idade foi admitida no hospital de Boston com uma história de febre persistente, que não respondeu à amoxicilina, acetaminofeno ou ibuprofeno. Esta paciente residia nas Filipinas e estava viajando pelos Estados Unidos durante os 11 dias anteriores. O exame físico revelou febre, aumento do fígado, dor abdominal e urinálise anormal. Culturas de sangue obtidas após a admissão no hospital foram positivas para *Salmonella* Typhi. A terapia antimicrobiana foi escolhida, considerando a suscetibilidade do microrganismo isolado às

fluoroquinolonas. Após 4 dias, a paciente se recuperou da febre e foi liberada do hospital para voltar para as Filipinas. Embora a febre tifoide possa ser uma séria ameaça à vida, ela pode inicialmente se apresentar com sintomas não específicos, como visto neste caso.

Colonização Assintomática

As cepas de *Salmonella* responsáveis pela febre tifoide e paratifoide são mantidas por colonização em humanos. A **colonização crônica** por mais de 1 ano após a doença sintomática se desenvolve em 1% a 5% dos pacientes e a vesícula biliar é o principal reservatório na maioria dos pacientes. A colonização crônica com outras espécies de *Salmonella* ocorre em menos de 1% dos pacientes e não representa uma fonte importante de infecção humana.

Shigella (Quadro 30-5)

A classificação taxonômica usada para *Shigella* é simples, entretanto é tecnicamente incorreta. Quatro espécies consistindo de mais de 45 sorogrupos baseados nos antígenos O foram descritas: *S. dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii e Shigella sonnei*. Entretanto, a análise do DNA determinou que estas quatro espécies são realmente biogrupos de *E. coli*. Como ficaria confuso se referir a esta bactéria como *E. coli*, o nome histórico foi mantido.

Quadro 30-5 Resumo: *Shigella*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos

Fermentadores, oxidase negativos

Lipopolissacarídeo consiste do polissacarídeo do antígeno somático O, o polissacarídeo central (antígeno comum) e o lipídeo A (endotoxina)

Quatro espécies reconhecidas: *S. sonnei* responsável pela maioria das infecções em países desenvolvidos; *S. flexneri* responsável pelas infecções em países em desenvolvimento; *S. dysenteriae* responsável pelas infecções mais graves; *S. boydii* que raramente é isolada

Virulência — consultar o Quadro 30-2; exotoxina (toxina Shiga) produzida por *S. dysenteriae* inibe a síntese de proteína e produz danos endoteliais

Doença — a forma mais comum da doença é a gastroenterite (shigellose), uma diarreia aquosa inicial progride dentro de 1 a 2 dias para dores abdominais e tenesmo (fezes com ou sem sangue); a forma grave da doença é causada por *S. dysenteriae* (disenteria bacteriana); um pequeno número de pacientes se torna carreador assintomático (reservatório para futuras infecções)

Epidemiologia

Humanos são o único reservatório dessa bactéria

Transmissão da doença ocorre pessoa a pessoa por via orofecal

Pacientes com alto risco para a doença são crianças pequenas em creches e instituições de custódia; irmãos e parentes dessas crianças; homossexuais do sexo masculino

Relativamente poucos microrganismos podem causar a doença (altamente infeccioso)

A doença ocorre no mundo inteiro sem incidência sazonal (consistente com a transmissão pessoa a pessoa envolvendo um inóculo baixo)

Diagnóstico

Isolamento dos espécimes de fezes requer uso de meio seletivo

Tratamento, Prevenção e Controle

Terapia com antimicrobianos diminui o curso da doença sintomática e a eliminação nas fezes.

Tratamento deve ser orientado pelos testes de suscetibilidade *in vitro*

Terapia empírica pode ser iniciada com uma fluoroquinolona ou sulfametoxazol-trimetoprim

Controle apropriado da infecção deve ser instituído para prevenir disseminação do microrganismo, incluindo lavagem das mãos e descarte adequado da roupa suja

Patogênese e Imunidade

Shigella causa doença invadindo e se multiplicando nas células que revestem o **cólon**. Os genes estruturais codificam proteínas envolvidas na aderência dos microrganismos às células hospedeiras, como na invasão, multiplicação intracelular e transmissão célula a célula. Estes genes são encontrados em um grande plasmídeo de virulência, mas são regulados por genes cromossomais. Assim, a presença do plasmídeo não assegura atividade do gene funcional.

As espécies de *Shigella* parecem incapazes de se ligarem às células diferenciadas da mucosa; ao invés disso, elas inicialmente aderem e invadem as células M localizadas nas placas de Peyer. O **sistema de secreção tipo III** secreta quatro proteínas (**IpaA, IpaB, IpaC** e **IpaD**) dentro das células epiteliais e dos macrófagos. Estas proteínas induzem ondulações da membrana das células-alvo, levando ao engolfamento da bactéria. *Shigella* lisa o vacúolo do fagócito e se multiplica no citoplasma da célula hospedeira (diferindo de *Salmonella*, que se multiplica no vacúolo). Com o rearranjo dos filamentos de actina na célula hospedeira, as bactérias são impulsionadas do citoplasma para as células adjacentes ocorrendo a **passagem de** uma célula para outra. Deste modo, os microrganismos de *Shigella* são protegidos da remoção mediada pelo sistema imune. Amostras de *Shigella* sobrevivem à fagocitose, induzindo a morte programada da célula (apoptose). Este processo também leva à liberação da IL-1 β, resultando na atração dos leucócitos polimorfonucleares pelos tecidos infectados. Este processo desestabiliza a integridade da parede intestinal e permite que a bactéria alcance as células epiteliais mais profundas.

As cepas de *S. dysenteriae* produzem uma exotoxina chamada **toxina Shiga**. Da mesma forma que a toxina Shiga produzida pela EHEC, esta toxina tem uma subunidade A e cinco subunidades B. As subunidades B se ligam ao glicolipídio (Gb_3) da célula hospedeira e facilitam a transferência da subunidade A para dentro da célula. A subunidade A cliva o rRNA 28S na subunidade ribossomal 60S, impedindo a ligação do aminoacil-tRNA e bloqueando a síntese de proteína. A manifestação primária da atividade tóxica é o dano à célula epitelial do intestino, entretanto, em um pequeno subconjunto de pacientes, a toxina Shiga pode causar danos às células do endotélio glomerular, levando à falha renal (HUS).

Epidemiologia

O s **humanos são o único reservatório** para *Shigella*. As estimativas indicam que aproximadamente 450.000 casos de infecções por *Shigella* ocorrem a cada ano nos Estados Unidos. Este número tem pouca relevância quando comparado com uma estimativa de 150 milhões de casos que ocorrem anualmente no mundo inteiro. As cepas de ***S. sonnei*** são responsáveis por quase 85% das infecções nos Estados Unidos, enquanto ***S. flexneri*** predomina em países em desenvolvimento. Epidemias de ***S. dysenteriae***, uma espécie particularmente virulenta, ocorrem na África e na América Central com índices de 5% a 15% de casos fatais.

A shigellose é basicamente uma doença pediátrica, sendo 60% de todas as infecções causadas em crianças menores de 10 anos. A doença endêmica em adulto é comum em homossexuais do sexo masculino e em contatos domésticos de crianças infectadas. Os surtos epidêmicos da doença ocorrem em creches e instituições de custódia. A shigellose é **transmitida pessoa a pessoa** pela via orofecal, geralmente por pessoas com mãos contaminadas e menos comumente em água ou alimento. Devido ao fato de que apenas 100 a 200 amostras bacterianas podem estabelecer a doença, a shigellose é transmitida rapidamente em comunidades onde as condições sanitárias e os níveis de higiene pessoal são baixos.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 30-3)

A shigellose é caracterizada por **dores abdominais, diarreia, febre** e **fezes sanguinolentas**. Os sinais clínicos e os sintomas da doença aparecem entre 1 a 3 dias após ingestão da bactéria. *Shigella* inicialmente coloniza o intestino delgado e começa a se multiplicar dentro das primeiras 12 horas. O primeiro sinal da infecção (diarreia aquosa profusa, sem evidência histológica de invasão da mucosa) é mediado por uma enterotoxina. Contudo, uma característica importante da shigellose é a cólica abdominal baixa e o tenesmo (esforço para defecar), com pus e sangue em abundância nas fezes, como resultado da invasão da mucosa do cólon pela bactéria. Grande quantidade de neutrófilos, eritrócitos e muco é encontrada nas fezes. A infecção é geralmente autolimitada, embora o tratamento com antibiótico seja recomendado para reduzir o risco de transmissão secundária aos membros da família e outros contatos. A colonização assintomática dos microrganismos no cólon que ocorre em um pequeno número de pacientes representa um reservatório persistente para a infecção.

Caso Clínico 30-3 Infecção Causada por *Shigella* em Creches

Em 2005, três estados relataram surtos de infecções causados por *Shigella* multirresistentes, em creches nos Estados Unidos. Um total de 532 infecções foi descrito na área de Kansas City, em pacientes com média de idade de 6 anos (MMWR 55:1068-1071, 2006). O patógeno predominante foi uma cepa multirresistente de *Shigella sonnei*, com 89% dos isolados resistentes a ampicilina e sulfametoxazol-trimetoprim. A shigellose é facilmente transmitida nas creches devido ao elevado risco de contaminação fecal e à baixa dose infectante da doença. Os pais e professores, como os colegas de turma, estavam sob significativo risco de adquirir a doença.

Yersinia (Quadro 30-6)

Os patógenos humanos mais conhecidos dentro do gênero *Yersinia* são: ***Yersinia pestis, Yersinia enterocolitica*** e ***Yersinia pseudotuberculosis***. *Y. pestis* é um patógeno altamente virulento que causa doença sistêmica fatal conhecida como peste; *Y. enterocolitica* **e** *Y. pseudotuberculosis* são basicamente patógenos entéricos que raramente são encontrados em culturas de sangue.

Quadro 30-6 Resumo: *Yersinia*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos

Fermentadores, oxidase negativos

Lipopolissacarídeo consiste do polissacarídeo do antígeno somático O, o polissacarídeo central (antígeno comum) e o lipídio A (endotoxina)

Y. pestis possui uma cápsula proteica

Algumas espécies de *Y. enterocolitica* podem crescer em temperaturas frias (grande quantidade de bactérias pode crescer em alimentos contaminados refrigerados ou produtos sanguíneos)

Virulência — consultar o Quadro 30-2; cápsula de *Y. pestis* é antifagocítica, *Y. pestis* é resistente aos efeitos bactericidas do soro; *Yersinia* possui genes para aderência, atividade citotóxica, inibição da migração fagocítica e engolfamento e inibição da agregação plaquetária

Doença — *Y. pestis* causa a peste bubônica (mais comum) e a peste pulmonar, ambas com alta taxa de mortalidade, outras espécies de *Yersinia* causam gastroenterite (diarreia aquosa aguda ou diarreia crônica) e sepse relacionada à transfusão; doença entérica em crianças pode se manifestar com nódulos linfáticos mesentéricos aumentados e doença parecida com a apendicite aguda

Epidemiologia

Y. pestis é uma infecção zoonótica, humanos são hospedeiros acidentais; reservatórios naturais incluem ratos, esquilos, coelhos e animais domésticos

Doença é transmitida por mordidas de pulga, contato direto com tecidos infectados ou pessoa a pessoa, por inalação de aerossóis infectados de um paciente com doença pulmonar

Outras infecções causadas por *Yersinia* são transmitidas por exposição a produtos alimentares contaminados ou produtos sanguíneos (*Y. enterocolitica*)

Colonização por outras espécies de *Yersinia* pode ocorrer

Diagnóstico

Microrganismos crescem na maioria dos meios de cultura; estocagem prolongada a 4°C pode favorecer o isolamento seletivo

Tratamento, Prevenção e Controle

Infecções causadas por *Y. pestis* são tratadas com estreptomicina; como terapia alternativa pode ser administrado tetraciclina, cloranfenicol ou sulfametoxazol-trimetoprim

Infecções entéricas causadas por outras espécies de *Yersinia* geralmente são autolimitadas. Se o tratamento com antibióticos for indicado, a maioria dos microrganismos é suscetível às cefalosporinas de amplo espectro, aminoglicosídeos, cloranfenicol, tetraciclinas e sulfametoxazol-trimetoprim

A peste pode ser controlada pela redução da população de roedores e vacinação de indivíduos com risco

Outras infecções causadas por *Yersinia* são controladas na preparação adequada de produtos alimentares

Patogênese e Imunidade

Uma característica comum das espécies patogênicas de *Yersinia* é a capacidade de **resistir à morte pelo fagócito**. O sistema de secreção tipo III está envolvido nesta propriedade. Durante o contato com as células fagocíticas, as bactérias secretam proteínas para dentro do fagócito que defosforilam várias proteínas necessárias para a fagocitose (o produto do gene *Yop*H) induzem citotoxicidade causando desarranjo dos filamentos de actina (o produto do gene *Yop*E) e a apoptose inicial em macrófagos (o produto do gene *Yop*J/P). O sistema de secreção tipo III também inibe a produção de citocina, que por sua vez diminui a resposta imune inflamatória para a infecção.

Y. pestis tem dois plasmídeos que codificam os genes de virulência: (1) o gene F1 (fração 1); que codifica uma **cápsula proteica** antifagocítica; e (2) o gene da **protease ativadora de plasminogênio** (**Pla**), que degrada os componentes do complemento C3b e C5a, impedindo a opsonização e a migração fagocítica, respectivamente. O gene da protease Pla também degrada os coágulos de fibrina, permitindo que *Y. pestis* se dissemine rapidamente. Outros fatores de virulência especificamente associados com *Y. pestis* são a resistência ao soro e a capacidade do microrganismo de absorver ferro orgânico como resultado de um mecanismo independente de sideróforo.

Epidemiologia

Todas as infecções por *Yersinia* **são** zoonóticas, com hospedeiros humanos acidentalmente. Existem duas formas de infecção por *Y. pestis*: a **peste urbana**, para a qual o rato é o reservatório natural e a **peste silvestre**, que causa infecções em esquilos, coelhos, ratos do campo e gatos domésticos. Os porcos, roedores, animais domésticos e coelhos são os reservatórios naturais de *Y. enterocolitica*, enquanto roedores, animais selvagens e aves de caça são os reservatórios animais para *Y. pseudotuberculosis*.

A peste causada por *Y. pestis* foi uma das doenças mais devastadoras da história. As epidemias de peste foram registradas no antigo testamento. A primeira das três principais pandemias (peste urbana) iniciou-se no Egito em 541 d.C. e se espalhou pelo norte da África, Europa, Ásia Central, Ásia Meridional e Arábia. Quando a pandemia teve um fim nos meados dos anos 700, uma grande proporção da população desses países estava morta devido à peste. A segunda pandemia, que começou em 1320, resultou (em um período de 5 anos) em mais de 25 milhões de mortes apenas na Europa (30% a 40% da população). A terceira pandemia começou na China em meados de 1860 e se espalhou pela África, Europa e Américas. As epidemias e os casos esporádicos da doença continuam até hoje. Na última década, uma média de 10 casos anuais foi descrita nos Estados Unidos, com **doença (peste silvestre), basicamente, no oeste dos Estados Unidos**.

A **peste urbana** permanece nas populações de ratos e é transmitida entre **eles**, ou entre ratos e humanos pelas **pulgas** infectadas. As pulgas se infectam quando se alimentam de sangue no rato com bacteremia. Após a multiplicação bacteriana no intestino da pulga, os microrganismos podem ser transferidos para outros roedores ou para os humanos. A peste urbana foi eliminada da maioria das comunidades pelo controle efetivo de ratos e pela melhora das condições de higiene. Em contraste, a peste silvestre é difícil ou impossível de ser eliminada por causa do reservatório de mamíferos e vetores de pulgas que estão disseminados. Assim, os padrões cíclicos de doenças em humanos ocorrem à medida que as oportunidades para contato com populações reservatório aumenta m ou diminuem. As infecções também podem ser adquiridas por meio da ingestão de animais contaminados ou manuseio de tecidos animais contaminados. Apesar do microrganismo ser altamente infeccioso, a transmissão humano a humano não é comum, a menos que o paciente tenha envolvimento pulmonar.

Y. enterocolitica é uma causa comum de enterocolite na Escandinávia, em outros países da Europa e nas regiões frias da América do Norte. Nos Estados Unidos, aproximadamente uma infecção confirmada por cultura ocorre a cada 100.000 pessoas por ano, sendo 90% das infecções associadas ao consumo de carne, leite ou água contaminada. A maioria dos estudos mostra que as infecções são mais comuns durante os meses frios. A virulência com este microrganismo está associada a sorogrupos específicos. Os sorogrupos mais comuns encontrados na Europa, África, Japão e Canadá são: O3 e O9. O sorogrupo O8 foi identificado nos Estados Unidos. *Y. pseudotuberculosis* é relativamente uma causa incomum de doença humana.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 30-4)

As duas manifestações clínicas de infecção por *Y. pestis* são a peste bubônica e a peste pneumônica. A **peste bubônica** é caracterizada por um período de incubação de aproximadamente 7 dias depois de a pessoa ter sido mordida por uma pulga infectada. Os pacientes têm febre alta e um **bubo** doloroso (inflamação e inchaço do nódulo linfático) na virilha ou axila. A bacteremia rapidamente ocorre se os pacientes não são tratados e pelo menos 75% morrem. O período de incubação (2 a 3 dias) é reduzido em pacientes com **peste pneumônica**. Inicialmente, esses pacientes apresentam febre e mal-estar, os sinais pulmonares se desenvolvem dentro de um dia. Os pacientes são altamente infecciosos, a transmissão pessoa a pessoa ocorre por meio de aerossóis. A taxa de mortalidade em pacientes não tratados com peste pneumônica é acima de 90%.

Caso Clínico 30-4 Peste Humana nos Estados Unidos

Em 2006, um total de 13 casos de peste humana foi descrito nos Estados Unidos — 7 no Novo México, 3 no Colorado, 2 na Califórnia e 1 no Texas (Morb Mortal Wkly Rev [MMWR] 55:940-943, 2006). O que se segue é a descrição de uma apresentação clássica de peste bubônica em um homem de 30 anos de idade. Em 9 de julho, o homem se apresentou no hospital local com uma história de febre, náuseas e vômito durante 3 dias, além de linfadenopatia inguinal do lado direito. O paciente foi liberado sem tratamento. Três dias depois, este paciente voltou ao hospital e foi admitido com diagnóstico de sepse e infiltrados pulmonares bilaterais. O mesmo foi isolado e tratado com gentamicina, que respondeu bem ao tratamento. As culturas do sangue e dos nódulos linfáticos aumentados foram positivas para *Yersinia pestis*. A bactéria também foi isolada em pulgas coletadas próximo à casa do paciente. Tipicamente, os reservatórios para a peste silvestre são pequenos mamíferos e os vetores são as pulgas. Quando os mamíferos morrem, as pulgas procuram hospedeiros humanos. Nesse exemplo, um total de cinco casos humanos de peste foi descrito na região, durante 1 ano.

Aproximadamente dois terços de todas as infecções causadas por *Y. enterocolitica* **são** enterocolites, como o nome já sugere. A gastroenterite é tipicamente associada com a ingestão de água ou alimentos contaminados. Após um período de incubação entre 1 a 10 dias (média de 4 a 6 dias), o paciente apresenta doença caracterizada por diarreia, febre e dores abdominais que duram 1 ou 2 semanas. Uma forma crônica da doença pode também se desenvolver e persistir durante meses. A doença envolve o íleo terminal e caso os nódulos linfáticos mesentéricos aumentem de tamanho, a doença pode ficar parecida com uma apendicite aguda. A infecção enterocolítica é mais comum em crianças com **pseudoapendicite**, representando um problema, particularmente, neste grupo etário. *Y. pseudotuberculosis* pode também produzir doença entérica com as mesmas características clínicas. Outras manifestações observadas em adultos são a septicemia, a artrite, os abscessos intra-abdominais, a hepatite e a osteomielite.

Em 1987, *Y. enterocolitica* foi descrita pela primeira vez como causa de **bacteremia relacionada à transfusão sanguínea** e ao choque endotóxico. Como amostras de *Yersinia* **podem crescer a 4°C**, este microrganismo pode se multiplicar atingindo concentrações elevadas em produtos contendo sangue e nutricionalmente ricos, que são estocados na geladeira.

Outras Enterobacteriaceae

Klebsiella

Os membros do gênero *Klebsiella* têm uma cápsula proeminente que é responsável pela aparência mucoide das colônias isoladas e pelo aumento da virulência dos microrganismos *in vivo*. ***Klebsiella pneumoniae*** e ***Klebsiella oxytoca*** são frequentemente isoladas e podem causar **pneumonia lobar** adquirida na comunidade ou no hospital. A pneumonia causada pelas espécies de *Klebsiella* frequentemente envolve a destruição necrótica dos espaços alveolares, a formação de cavidades e a produção de escarro com sangue. Esta bactéria também causa feridas, infecções dos tecidos moles e infecções do trato urinário.

O microrganismo previamente conhecido como *Donovania granulomatis* e posteriormente como *Calymmatobacterium granulomatis* foi reclassificado como ***Klebsiella granulomatis***. *K. granulomatis* é o agente etiológico do **granuloma inguinal**, uma doença granulomatosa que afeta a genitália e a área inguinal (Figs. 30-5 e 30-6). Infelizmente, esta doença ficou conhecida como **donovanose,** em referência à origem histórica do nome do gênero. O granuloma inguinal é uma doença rara nos Estados Unidos, mas é endêmica em regiões da Papua-Nova Guiné, Caribe, América do Sul, Índia, África Austral, Vietnam e Austrália. A doença pode ser transmitida depois de repetidas exposições por intercurso sexual ou trauma não sexual na genitália. Após um longo período de incubação, semanas ou meses, aparecem os nódulos subcutâneos na genitália ou na área inguinal. Os nódulos posteriormente arrebentam, revelando uma ou mais lesões granulomatosas indolores que podem se expandir e coalescer.

Figura 30-5 Úlcera em pênis causada por *K. granulomatis*. Pode ser parecida e confundida com o cancro da sífilis.

(Morse SA et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases, 3rd. ed. St. Louis, Mosby, 2003.)

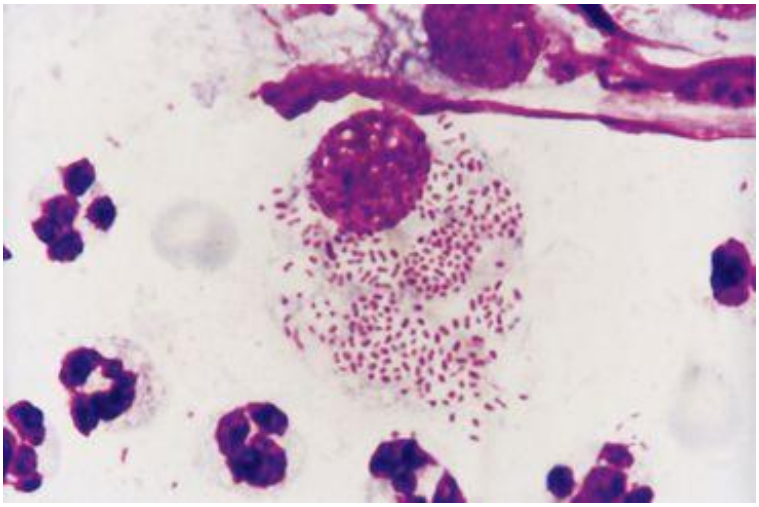


Figura 30-6 Microscopia ótica do esfregaço de um tecido de granulação de lesão genital em paciente infectado por *K. granulomatis*. Observe a enorme quantidade de bactérias no vacúolo citoplasmático das células mononucleares; coloração Giemsa modificada.

(Morse SA et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases, 3rd. ed. St. Louis, Mosby, 2003.)

As duas outras espécies de *Klebsiella* de importância clínica são ***Klebsiella rhinoscleromatis***, que causa uma doença granulomatosa no nariz, e ***Klebsiella ozaenae***, que causa rinite atrófica crônica. Ambas as doenças são relativamente comuns nos Estados Unidos.

Proteus

A s **infecções do trato urinário** causadas por ***Proteus mirabilis*** são doenças muito comuns do gênero. *P. mirabilis* produz grande quantidade de urease, que quebra a ureia em dióxido de carbono e amônia. Este processo aumenta o pH da urina, precipitando o magnésio e o cálcio na forma de cristais de estruvita e apatita, respectivamente, resultando na formação d e **cálculos renais (rim)**. O aumento da alcalinidade da urina é tóxico para o uroepitélio. *Proteus* também produz mais de seis tipos diferentes de fímbrias, algumas são importantes para a aderência ao uroepitélio.

Enterobacter, Citrobacter, Morganella e *Serratia*

As infecções primárias causadas por *Enterobacter, Citrobacter, Morganella* e *Serratia* são raras em pacientes imunocompetentes. Elas são mais comuns em infecções adquiridas no hospital, em pacientes neonatos e imunocomprometidos. Por exemplo, ***Citrobacter koseri*** foi reconhecido por causar, preferencialmente, meningite e abscessos cerebrais em neonatos. A terapia de antibiótico para este gênero pode não ser efetiva, pois os microrganismos frequentemente são resistentes a vários antibióticos. A resistência é particularmente um problema sério com as espécies de ***Enterobacter***.

Diagnóstico Laboratorial

Cultura

Os membros da família Enterobacteriaceae crescem prontamente em meio de cultura. Os espécimes de material normalmente estéril, como fluido espinhal e tecido coletado de cirurgia, podem ser inoculados em meio de agar sangue não seletivo. Os meios seletivos (p. ex., agar MacConkey ou agar eosina azul de metileno [EMB]) são usados para a cultura de espécimes normalmente contaminados com outros microrganismos como escarro e fezes. O uso de agar diferencial seletivo permite a separação das Enterobacteriaceae fermentadoras de lactose das cepas não fermentadoras, fornecendo informação que pode ser usada para orientar empiricamente a terapia com antimicrobianos.

O diagnóstico das cepas de *E. coli* responsáveis pela gastroenterite é comumente feito em laboratórios de referência. A exceção é a detecção de EHEC. Duas abordagens têm sido usadas: cultura e detecção da toxina. Em contraste com a maioria das *E. coli*, muitas cepas de EHEC não fermentam sorbitol. Então, o **agar MacConkey contendo sorbitol** (S-MAC) é usado para avaliar espécimes fecais sorbitol-negativas (incolor), bactérias Gram negativas que são confirmadas por sorogrupo e testes bioquímicos, como *E. coli* O157, que é o sorotipo de EHEC mais comum. A limitação dessa abordagem é que algumas cepas de O157 e muitos outros sorotipos de EHEC fermentam sorbitol e poderão ficar esquecidos por essa abordagem de seleção. O método preferencial para detectar EHEC é a cultura dos espécimes fecais em agar MacConkey não seletivo e análise das colônias isoladas para a produção de toxina, por meio de imunoensaios comercialmente disponíveis. Infelizmente, este procedimento é demorado e trabalhoso.

Meios altamente seletivos ou microrganismo específicos são usados para a recuperação de microrganismos como *Salmonella* e *Shigella* dos espécimes fecais, onde uma abundância da flora normal pode obscurecer a presença desses patógenos importantes.

É difícil recuperar *Y. enterocolitica*, uma vez que esse microrganismo cresce vagarosamente em temperaturas de incubação tradicionais e prefere temperaturas mais frias, que são metabolicamente mais ativos. Os laboratórios clínicos têm explorado essa propriedade, misturando os espécimes fecais com salina e estocando os mesmos a 4°C por duas semanas ou mais, antes de subcultivar em meio de agar. Este **enriquecimento a frio** permite o crescimento de *Yersinia*, mas inibe ou mata outros microrganismos presentes na amostra. O uso do método de enriquecimento a frio não ajuda no tratamento inicial do paciente com gastroenterite causada por *Yersinia*, porém, tem auxiliado a esclarecer o papel desse microrganismo na doença intestinal crônica.

Identificação Bioquímica

Existem diversas espécies da família Enterobacteriaceae. As referências bibliográficas no final do capítulo oferecem informação adicional sobre a identificação bioquímica destas bactérias. Os sistemas de testes bioquímicos se tornaram mais sofisticados e, atualmente, o membro mais comum da família Enterobacteriaceae pode ser precisamente identificado em menos de 24 horas, por um dos muitos sistemas comercialmente disponíveis. O sequenciamento dos genes espécie-específicos é usado para identificar as espécies menos comuns.

Classificação Sorológica

Os testes sorológicos são muito úteis para determinar a importância clínica de um isolado (p. ex., cepas patogênicas sorotipo específico, como *E. coli* O157 ou *Y. enterocolitica* O8) e para classificação de isolados com finalidades epidemiológicas. A utilidade desse procedimento é limitada, pois pode ocorrer reação cruzada com Enterobacteriaceae antigenicamente relacionada e com microrganismos de outras famílias bacterianas.

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia de antibiótico para infecções causadas por Enterobacteriaceae deve ser orientada pelos resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* e pela experiência clínica. Enquanto alguns microrganismos como *E. coli* e *P. mirabilis* são suscetíveis a muitos antibióticos, outros podem ser altamente resistentes. Dessa forma, microrganismos suscetíveis expostos a concentrações subterapêuticas de antibióticos no ambiente hospitalar podem rapidamente desenvolver resistência. Em geral, **resistência a antibióticos** é mais comum em infecções adquiridas no hospital que em infecções adquiridas na comunidade. A terapia com antibióticos não é recomendada para algumas infecções. Por exemplo, o alívio sintomático, mas não tratamento com antibiótico geralmente é recomendado para pacientes com *E. coli* enterohemorrágica e gastroenterite causada por *Salmonella*. Nestes casos, os antibióticos podem prolongar o estado de carreador fecal desses microrganismos ou aumentar o risco de complicações secundárias (p. ex., HUS causadas por infecções de EHEC em crianças). O tratamento das infecções causadas por *Salmonella* Typhi ou outras infecções sistêmicas de *Salmonella* é indicado; entretanto, o aumento da resistência aos antibióticos, como fluoroquinolona, tem complicado a terapia.

É difícil prevenir as infecções causadas por Enterobacteriaceae, pois esses microrganismos são os principais componentes da população microbiana endógena. Entretanto, alguns fatores de risco para as infecções devem ser evitados. Isto inclui o uso sem restrições de antibióticos que podem selecionar bactérias resistentes, a realização de procedimentos que traumatizam as barreiras da mucosa sem a cobertura de antibióticos profiláticos e o uso de cateteres urinários. Infelizmente, muitos desses fatores estão presentes em pacientes com grande risco de infecção (p. ex., os pacientes imunocomprometidos confinados no hospital por longos períodos).

As infecções exógenas causadas por Enterobacteriaceae, teoricamente, são fáceis de controlar. Por exemplo, a fonte de infecção de microrganismos como *Salmonella* é bem definida. Entretanto, essa bactéria é ubiquitária em aves domésticas e ovos. A menos que cuidados sejam tomados na preparação e refrigeração de tais alimentos, pouco pode ser feito para controlar essas infecções. Os microrganismos do gênero *Shigella* são predominantemente transmitidos em crianças jovens, porém é difícil interromper a transmissão orofecal (via mãos contaminadas) responsável pela disseminação da infecção nesta população. Os surtos dessas infecções podem ser evitados e controlados por meio de educação e pela introdução de procedimentos adequados de controle de infecção (p. ex., lavagem das mãos, eliminação adequada de fraldas e roupas sujas) nos locais onde essas infecções geralmente ocorrem.

A vacina para *Y. pestis* não está mais disponível, embora essa situação provavelmente mude em função da preocupação de que este microrganismo possa ser usado pelos bioterroristas. Duas vacinas para *Salmonella* Typhi estão disponíveis: uma vacina oral viva, atenuada e uma vacina com base no polissacarídeo da cápsula Vi. Ambas vacinas protegem 50% a 80% dos vacinados, são administradas em várias doses e necessitam de doses de reforço para a imunização, pois a imunidade é de curta duração. Para recomendações atualizadas, acesse o site do CDC (www.cdc.gov).

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site www.StudentConsult.com e assista à animação com as funções da enterotoxina termolábil de *E. coli*, da toxina Shiga de *E. coli*, da toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* e da toxina Shiga de *Shigella* com a toxina Shiga de *E. coli*.

Estudo de Caso e Questões

Uma mulher previamente saudável de 25 anos de idade chegou à sala de emergência com

quadro de diarreia sanguinolenta e dor abdominal difusa com duração de 24 horas. A paciente reclamou de náusea e relatou dois episódios de vômito. A mesma não descreveu história de doença intestinal inflamatória, diarreia prévia ou contato com outras pessoas com diarreia. Os sintomas começaram 24 horas após ela ter comido um hambúrguer malcozido num restaurante de "fastfood" local. O exame retal revelou fezes aquosas com sangue. A sigmoidoscopia mostrou eritema difuso da mucosa e petéquias com uma exsudação moderada, mas nenhuma ulceração ou pseudomembrana.

1. Indique quatro gêneros de Enterobacteriaceae que podem causar doença gastrointestinal. Indique os dois gêneros que podem causar colite hemorrágica.

1. As infecções gastrointestinais são associadas à *Escherichia, Salmonella, Shigella* e *Yersinia*. Ambas *Escherichia* e *Shigella* podem causar colites hemorrágicas.

2. Qual fator de virulência está envolvido com esta doença?

2.*E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e *Shigella dysenteriae* produzem a toxina Shiga, que é uma exotoxina A/B. As cinco subunidades B da molécula de toxina se ligam ao glicolipídio (GB_3) da célula hospedeira e facilitam a transferência da subunidade A para dentro da célula. Uma elevada concentração de receptores GB_3 é encontrada nas vilosidades intestinais e nas células endoteliais renais. Após internalização, a subunidade A é clivada em duas moléculas, produzindo o fragmento A1 que se liga ao ácido ribonucleico ribossomal 28S rRNA e causa o bloqueio da síntese de proteínas. Uma complicação séria da doença é a síndrome urêmica hemolítica (HUS). Nesta situação as células glomerulares endoteliais são destruídas. Danos às células endoteliais levam à ativação de plaquetas e deposição de trombina, que por sua vez resulta na diminuição da filtração glomerular e falha renal aguda.

3. Indique os cinco grupos de *Escherichia coli* que causam gastroenterite. Qual é a característica de cada um destes grupos de microrganismo?

3.*E. coli* pode causar gastroenteritis em uma variedade de formas. As características das cepas de EHEC estão descritas anteriormente. As cepas de *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) produzem duas classes de enterotoxinas: toxinas termo-lábeis (LT-I, LT-II) e toxinas termo-estáveis (STa e STb). Estas toxinas produzem níveis elevados de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) ou monofosfato de guanosina cíclica (cGMP) com subsequente hipersecreção de fluidos (diarreia aquosa). A infecção causada por *E. coli* enteropatogênica (EPEC) começa com a ligação da bactéria às células do epitélio do intestino delgado, com subsequente destruição das microvilosidades [lesão A/E ("attachment/effacement" – adesão/obliteração ou destruição)]. As cepas de *E. coli* enteroagregativa (EAEC) também causam diarreia aquosa devido à autoaglutinação destas bactérias no epitélio do intestino delgado. As cepas de *E. coli* enteroinvasora (EIEC) são capazes de invadir e destruir o epitélio do cólon, produzindo uma doença caracterizada inicialmente pela diarreia aquosa. A doença pode progredir para uma forma de disenteria, consistindo de febre, cólicas abdominais, sangue e leucócitos nos espécimes fecais.

4. Quais são as quatro formas de infecção por *Salmonella*?

4. As infecções causadas por *Salmonella* podem resultar em colonização assintomática, gastroenterite, septicemia e febre entérica (febre tifoide ou paratifoide).

5. Diferencie a doença causada por *Salmonella* Typhi da doença causada por *Shigella sonnei*.

5. Doenças causadas por *Salmonella typhi* começam pela ingestão do organismo. Depois, as bactérias atravessam as células que revestem o intestino e são engolfadas pelos macrófagos. Dentro dos macrófagos as células são transportadas para o fígado, baço e medula óssea, onde elas se multiplicam, ainda dentro dos macrófagos. Duas semanas após a ingestão das bactérias, os pacientes gradualmente experimentam febre crescente com reclamações não específicas de dores de cabeça, mialgias, mal-estar e anorexia. A partir do fígado, a bactéria consegue se disseminar pela vesícula biliar e volta ao intestino, onde a doença diarreica é desenvolvida. Infecções causadas por *Shigella sonnei* são tipicamente restritas ao intestino, onde a bactéria adere-se e invade as células M localizadas nas placas de Peyer. Neste momento, a bactéria inicia a multiplicação intracelular e dissemina-se diretamente de célula a célula. Com a morte das células infectadas do hospedeiro, a integridade da parede intestinal é desestabilizada levando a destruição do tecido localizado e a colites hemorrágicas.

6. Descreva a epidemiologia das duas formas de doença causadas por *Yersinia pestis*.

6. Existem duas formas de infecção por *Y. pestis*: a peste urbana, para a qual o rato é o reservatório natural, e a peste silvestre, que causa infecções em esquilos, coelhos, ratos do campo e gatos domésticos. A peste silvestre é difícil ou impossível de ser eliminada por causa do reservatório de mamíferos e vetores de pulgas que estão disseminados. Assim, os padrões cíclicos de doenças em humanos ocorrem à medida que as oportunidades para contato com populações reservatório aumentam ou diminuem. A peste urbana permanece nas populações de ratos e é transmitida entre os ratos, ou entre ratos e humanos pelas pulgas infectadas. A peste urbana pode ser eliminada das comunidades pelo controle efetivo de ratos e pela melhora das condições de higiene.

Bibliografia

Abbott S, et al. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Ackers ML, et al. Laboratory-based surveillance of Salmonella serotype Typhi infections in the United States: Antimicrobial resistance on the rise. *J Am Med Assoc*. 2000;283:2668-2673.

Farmer JJ, et al. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In Murray PR, et al, editors: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Nataro J, et al. Escherichia, Shigella, and Salmonella. In Murray PR, et al, editors: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Qadri F, et al. Enterotoxigenic Escherichia coli in developing countries: Epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:465-483.

Wanger A, et al. Yersinia. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASMPress, 2007.

Wong CS, et al. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7 infections. *N Engl J Med*. 2000;342:1930-1936.

Zaharik ML, et al. Delivery of dangerous goods: Type III secretion in enteric pathogens. *Int J Med Microbiol*. 2002;291:593-603.

31 Vibrio e Aeromonas

Os gêneros *Vibrio* e *Aeromonas* formam o segundo principal grupo de **bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos, fermentadores**. Estes microrganismos foram classificados juntos na família Vibrionaceae e foram separados das Enterobacteriaceae baseado na **reação positiva para oxidase** e na presença de **flagelo polar**. Esses microrganismos também foram classificados juntos, não só por serem encontrados principalmente na água, mas também por serem capazes de causar doença gastrointestinal. Entretanto, as técnicas de biologia molecular estabeleceram que esses gêneros possuem uma relação distante e, portanto, pertencem a famílias distintas. *Vibrio* e *Aeromonas* são agora classificados nas famílias Vibrionaceae e Aeromonadaceae, respectivamente (Quadro 31-1). Apesar desta reorganização taxonômica, é apropriado considerar estas bactérias juntas, pois a epidemiologia e a variedade de doenças que causam são similares.

Quadro 31-1 Espécies Importantes de *Vibrio* e *Aeromonas*

Microrganismo	Origem Histórica
Vibrio	*vibrio*, “move rapidamente” ou “vibra” (movimento rápido causado pelo flagelo polar)
V. cholerae	*cholera*, “cólera” ou uma doença intestinal
V. parahaemolyticus	*para*, “pelo lado de”; *haema*, “sangue”; *lyticus*, “dissolve” (sangue dissolvido; cepas toxina Kanagawa positivas são hemolíticas)
V. vulnificus	*vulnificus*, “infligir feridas” (associada com infecções em feridas proeminentes)
Aeromonas	*aero*, “gás” ou “ar”; *monas*, “unidade” (bactéria produtora de gás)
A. caviae	*cavia*, “porquinho-da-índia” (isolada pela primeira vez em porquinho-da-índia)
A. hydrophila	*hydro*, “água”; *phila*, “afeição” (afinidade pela água)
A. veronii	*veron*, nome em homenagem ao bacteriologista *Veron*

Vibrio

O gênero *Vibrio* tem passado por numerosas mudanças nos anos recentes, com um número menor de espécies descritas ou reclassificadas. Atualmente, o gênero é composto de 76 espécies de **bacilos curvos**. Algumas espécies estão associadas a doenças em humanos, porém três espécies são patógenos humanos particularmente importantes (Tab. 31-1): ***Vibrio cholerae*** (Quadro 31-2), ***Vibrio parahaemolyticus*** (Quadro 31-3) e ***Vibrio vulnificus*** (Quadro 31-4).

Tabela 31-1 Espécies de *Vibrio* Geralmente Associadas a Doenças em Humanos

Espécie	Fonte da Infecção	Doença Clínica
V. cholerae	Água, alimento	Gastroenterite, bacteremia
V. parahaemolyticus	Frutos do mar, água do mar	Gastroenterite, infecções em feridas, bacteremia
V. vulnificus	Frutos do mar, água do mar	Bacteremia, infecções em feridas

Quadro 31-2 Resumo: *Vibrio cholerae*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, curvos

Fermentadores, anaeróbios facultativos, necessitam de sal para seu crescimento

Cepas subdivididas em 140 sorogrupos (antígenos O da parede celular)

V. cholerae sorogrupo O1 é subdividido em sorotipos (Inaba, Ogawa, Hikojima) e biotipos (Clássico, El Tor)

Doença mediada pela toxina colérica (complexo de toxina do tipo A-B) e pilus corregulado com a toxina

Infecção pode variar de uma colonização assintomática ou diarreia branda a uma diarreia grave, evoluindo rapidamente para uma diarreia fatal

Epidemiologia

Sorotipo O1 é responsável pelas grandes pandemias (epidemias mundiais) com mortalidade significativa em países em desenvolvimento; O139 pode causar doenças similares

Microrganismo é encontrado em ambientes marinhos e estuários ao redor do mundo (incluindo toda a costa dos Estados Unidos); associado com crustáceos quitinosos

Microrganismo pode se multiplicar livremente na água

Níveis bacterianos em águas contaminadas aumentam durante os meses quentes

Disseminação ocorre pelo consumo de água e alimento contaminados

Disseminação direta pessoa a pessoa é rara, pois a dose infectante necessária é alta, uma vez que o microrganismo é sensível à acidez do estômago

Diagnóstico

Exame microscópico das fezes geralmente é desnecessário, pois o microrganismo é diluído devido ao grande volume de diarreia aquosa

Cultura deve ser realizada no início da doença com espécimes fecais frescos mantidos em pH neutro ou alcalino

Tratamento, Prevenção e Controle

Reposição de fluidos e eletrólitos é essencial

Antibióticos (p. ex., azitromicina) reduzem a carga bacteriana e a produção de exotoxina, bem como a duração da diarreia

Melhoramento das condições de higiene é fundamental para o controle

Vacina baseada na combinação de células inteiras inativas e subunidades B da toxina. As vacinas oferecem proteção limitada e imunidade coletiva ou de grupo

Quadro 31-3 Resumo: *Vibrio parahaemolyticus*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, curvos

Fermentadores, anaeróbios facultativos, necessitam de sal para seu crescimento

Produção de hemolisina direta termostável (TDH; hemolisina Kanagawa) associada a cepas patogênicas

A maioria das infecções sintomáticas é uma diarreia autolimitada

Epidemiologia

Microrganismo é encontrado em ambientes marinhos e estuários ao redor do mundo. Associada ao consumo de frutos do mar contaminados e crus

Causa mais comum de gastroenterite bacteriana no Japão e no sudeste da Ásia

Causa mais comum de gastroenterite associada aos frutos do mar nos Estados Unidos

Diagnóstico

Cultura deve ser realizada como na pesquisa de *V. cholerae*

Tratamento, Prevenção e Controle

Doença autolimitada, embora os antibióticos possam diminuir os sintomas e a perda de fluido

Cozimento adequado de frutos do mar pode prevenir a doença

Nenhuma vacina está disponível

Quadro 31-4 Resumo: *Vibrio vulnificus*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, curvos

Fermentadores, anaeróbios facultativos, necessitam de sal para seu crescimento

Virulência associada à presença de cápsulas polissacarídicas e enzimas hidrolíticas

Alta mortalidade associada à septicemia primária e infecções em feridas, particularmente em pacientes com doença hepática subjacente

Epidemiologia

Infecção associada com a exposição de ferida à água salgada contaminada ou com a ingestão de frutos do mar malcozidos

Diagnóstico

Cultura de feridas e sangue

Tratamento, Prevenção e Controle

Doença que ameaça a vida deve ser imediatamente tratada com antibióticos

Minociclina combinada com uma fluoroquinolona ou cefotaxima é o tratamento de escolha

Nenhuma vacina está disponível

Fisiologia e Estrutura

As espécies de *Vibrio* podem crescer em uma variedade de meios simples, numa ampla faixa de temperatura (14°C a 40°C). Quase todas as espécies de ***Vibrio* necessitam de sal** para crescimento. *V. cholerae* pode crescer na maioria dos meios sem adição de sal, mas várias outras espécies (espécies halofílicas) necessitam da adição de NaCl. Vibrios toleram uma larga faixa de pH (p, ex., pH 6,5 a pH 9,0), mas são **suscetíveis aos ácidos do estômago**. Os pacientes são mais suscetíveis às infecções por *Vibrio* em casos onde a produção de ácido gástrico é reduzida ou neutralizada.

A maioria dos vibrios posseum **flagelo polar** (importante para a motilidade), como várias fimbrias (ou pili) importantes para a virulência. As cepas epidêmicas de *V. cholerae*, o agente etiológico da cólera, têm o **pilus corregulado com a toxina** (veja a próxima seção). A estrutura da parede celular dos vibrios também é importante. Todas as cepas possuem **lipopolissacarídeos** compostos de lipídio A (endotoxina), o polissacarídeo central e as cadeias laterais do polissacarídeo O. O polissacarídeo O é usado para subdividir as espécies d e *Vibrio* em **sorogrupos**: existem 140 sorogrupos de *V. cholerae* (O1-O140), sete sorogrupos O de *V. vulnificus* e 13 sorogrupos O de *V. parahaemolyticus*. O interesse neste esquema de classificação é mais do que acadêmico: ***V. cholerae* O1 e O139** produzem a **toxina colérica** e estão associados a epidemias de cólera. Outras cepas de *V. cholerae* geralmente não produzem a toxina colérica e não causam doença epidêmica. *V. cholerae* sorogrupo O1 é subdividido em sorotipos e biotipos. Três **sorotipos** são reconhecidos: **Inaba, Ogawa** e **Hikojima**. As cepas podem alternar entre os sorotipos Inaba e Ogawa, sendo Hikojima um estado de transição, no qual ambos os antígenos Inaba e Ogawa são expressos. Dois **biotipos** de *V. cholerae* O1 são reconhecidos: **Clássico** e **El Tor**. Estes biotipos são subdivididos pelas diferenças no fenótipo e propriedades morfológicas. Foram documentadas sete pandemias de infecções por *V. cholerae* no mundo. As cepas de *V. cholerae* responsáveis pela sexta pandemia de cólera pertenciam ao biotipo Clássico, enquanto a maioria das cepas responsáveis pela sétima pandemia pertencia ao biotipo El Tor.

V. vulnificus e *V. cholerae* não O1 produzem **cápsulas polissacarídicas** que são importantes para a disseminação das infecções. *V. cholerae* O1 não produz cápsula, assim as infecções causadas por esse microrganismo não se espalham além dos confins do intestino.

V. cholerae e *V. parahaemolyticus* possuem dois cromossomos circulares, cada um contendo genes essenciais para a bactéria. Ainda não há conhecimento se as outras espécies de *Vibrio* têm uma estrutura genômica similar. Os plasmídeos, incluindo aqueles codificando resistência a antimicrobianos, também são facilmente encontrados em espécies de *Vibrio*.

Patogênese e Imunidade (Tab. 31-2)

No **bacteriófago CTXφ** encontramos os genes que codificam as duas subunidades da **toxina colérica** (*ctx*A e *ctx*B). Este bacteriófago se liga ao **pilus corregulado com a toxina** (*tcp*) e entra na célula bacteriana, onde se integra ao genoma do *V. cholerae*. O *locus* cromossomal do bacteriófago lisogênico também contém outros fatores de virulência: o gene *ace* para a **enterotoxina acessória da cólera**, o gene *zot* para a **toxina da zonula occludens** e o gene *cep* para **proteínas envolvidas na quimiotaxia**. Estes genes são encontrados em múltiplas cópias em isolados de *V. cholerae* O1 e O139 e as expressões são coordenadas por genes regulatórios.

Tabela 31-2 Fatores de Virulência das Espécies de *Vibrio*

Espécie	Fator de Virulência	Efeito Biológico
V. cholerae	Toxina colérica	Hipersecreção de eletrólitos e água
	Pilus coeregulado com a toxina	Sítio de ligação para CTXΦ, medeia a aderência às células da mucosa intestinal
	Proteína envolvida com quimiotaxia	Fator de aderência
	Enterotoxina acessória da cólera	Aumenta a secreção de fluido intestinal

	Toxina da zonula occludens	Aumenta a permeabilidade intestinal
	Neuraminidase	Modifica a superfície da célula para aumentar os sítios de ligação GM_1 para a toxina colérica
V. parahaemolyticus	Hemolisina Kanagawa	Enterotoxina que induz secreção de íons cloro (diarreia aquosa)
V. vulnificus	Cápsula polissacarídica	Antifagocítica
	Citolisinas, proteases, colagenase	Medeia a destruição do tecido

A toxina colérica é um **complexo de toxina do tipo A-B** que é estrutural e funcionalmente similar à enterotoxina termolábil de *Escherichia coli*. Um anel de cinco subunidades B idênticas da toxina colérica se liga ao gangliosídeo GM_1, um receptor localizado nas células do epitélio intestinal. A porção ativa da subunidade A é internalizada e interage com as proteínas G que controlam a adenilato ciclase, levando à conversão catabólica do trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (cAMP). O resultado é uma hipersecreção de água e eletrólitos. Pacientes gravemente infectados podem perder mais de um litro de fluido por hora no auge da doença. Essa perda de fluido normalmente poderia varrer o microrganismo do trato gastrointestinal; entretanto, *V. cholerae* é capaz de **aderir à parede da mucosa intestinal** por meio da: (1) **pili corregulada com a toxina** que é codificada pelo complexo de genes *tcp*; e (2) **proteínas envolvidas na quimiotaxia** codificadas pelos genes *cep*. Assim sendo, o pilus corregulado com a toxina é importante tanto como receptor do fago que carrega o gene da toxina colérica, como para a aderência da mucosa intestinal. As cepas não aderentes são incapazes de estabelecer uma infecção.

Na ausência da toxina colérica, *V. cholerae* O1 pode ainda produzir um significante quadro de diarreia por meio da ação da **toxina da zonula occludens** e da **enterotoxina acessória da cólera**. A toxina da zonula occludens, como o nome sugere, alarga as junções estreitas (zonula occludens) da mucosa do intestino delgado, aumentando a permeabilidade intestinal, enquanto a enterotoxina produz aumento da secreção de fluidos.

V. cholerae O139, ao contrário dos outros sorotipos não O1, possui o mesmo complexo de virulência das cepas O1. Portanto, as cepas O139 produzem o mesmo quadro de diarreia aquosa da cólera, uma vez que apresentam a capacidade de aderir à mucosa intestinal e produzir a toxina colérica.

O mecanismo pelo qual as outras espécies de *Vibrio* causam doença não é bem entendido, embora uma variedade de fatores de virulência em potencial tenha sido identificada. A maioria das cepas virulentas de *V. parahaemolyticus* produz uma hemolisina direta termoestável (TDH; também conhecida como **hemolisina Kanagawa**). TDH é uma enterotoxina que induz secreção de íons cloro nas células epiteliais devido ao aumento de cálcio intracelular. Um importante método para classificação de cepas virulentas de *V. parahaemolyticus* é a detecção desta hemolisina, que produz colônias β–hemolíticas em meio de agar com sangue humano, mas não em meio com sangue de carneiro. Essas cepas virulentas são denominadas como **Kanagawa positivas**. A produção de **cápsula** em *V. vulnificus* é importante para o microrganismo produzir infecções graves disseminadas.

Epidemiologia

As espécies de *Vibrio*, incluindo *V. cholerae*, crescem naturalmente em **ambientes marinhos e em estuários** no mundo inteiro. Todas as espécies de *Vibrio* são capazes de sobreviver e crescer em águas contaminadas e com salinidade elevada. Os vibrios patogênicos também podem proliferar em águas onde encontramos **moluscos** com casca (p. ex., ostras, mariscos e mexilhões), daí a associação entre as infecções causadas por *Vibrio* e o consumo de frutos do mar. Os humanos assintomaticamente infectados também podem ser uma reserva importante deste microrganismo em áreas onde ocorre doença endêmica causada por *V. cholerae*.

Desde 1816, já ocorreram sete grandes pandemias de cólera, resultando em milhares de mortes e grandes mudanças socioeconômicas. As doenças esporádicas e as epidêmicas começaram a ocorrer antes desse período, mas a disseminação da doença no mundo só foi possível com as viagens intercontinentais, que ocorreram devido ao aumento do comércio e das guerras.

A sétima pandemias, causadas por ***V. cholerae* O1 biotipo El Tor**, começaram na Ásia em 1961 e se espalharam pela África, Europa e Oceania nos anos 1970 e 1980. Em 1991, a cepa pandêmica se espalhou pelo Peru e, subsequentemente, causou doença em vários países da América Central e do Sul, bem como nos Estados Unidos e Canadá. Uma segunda cepa epidêmica surgiu em 1992 na Índia e rapidamente se espalhou pela Ásia. Esta cepa, ***V. cholerae* O139 Bengal**, produz a toxina colérica e compartilha outras características com *V. cholerae* O1. Esta é a primeira cepa não O1 capaz de causar doença epidêmica e produzir a doença em adultos, que foram previamente infectados com a cepa O1 (mostrando que nenhuma imunidade protetora foi desenvolvida).

A cólera é transmitida pelo consumo de **água e alimentos contaminados**, em vez de contato direto pessoa a pessoa, por causa do inóculo elevado (mais de 10^8 microrganismos) que é necessário para estabelecer a infecção em uma pessoa com acidez gástrica normal. Em uma pessoa com acloridria ou hipocloridria, a dose infectante pode ser mais baixa como 10^3 a 10^5 microrganismos. A cólera geralmente ocorre em comunidades com **más condições sanitárias**. O papel da água contaminada na transmissão da doença foi reconhecido em surtos de cólera pandêmica, como a necessidade de melhorias nas condições sanitárias da comunidade, para controle da doença.

As infecções causadas por *V. parahaemolyticus, V. vulnificus* e outros vibrios patogênicos se devem ao consumo de frutos do mar malcozidos, particularmente ostras, ou a exposição à água do mar contaminada. ***V. parahaemolyticus*** é a causa mais comum de gastroenterite bacteriana no Japão e no sudeste da Ásia, sendo também a espécie de *Vibrio* mais comum responsável por gastroenterites nos Estados Unidos. ***V vulnificus***, embora não seja frequentemente isolado, é responsável por infecções graves em feridas e apresenta alta incidência em surtos fatais. *V. vulnificus* é a causa mais comum de septicemia por vibrio. A gastroenterite causada por vibrios geralmente ocorre ao longo do ano, uma vez que ostras contaminadas com grande quantidade de microrganismos são comuns o ano inteiro. Em contraste, a septicemia e as infecções em feridas causadas por *Vibrio* ocorrem nos meses quentes, quando os microrganismos se multiplicam na água do mar.

Doenças Clínicas (Quadro 31-5)

Vibrio cholerae (Caso Clínico 31-1)

A maioria dos indivíduos expostos ao ***V. cholerae* O1** toxigênico tem infecções assintomáticas ou diarreia autolimitada; entretanto, alguns indivíduos rapidamente desenvolvem diarreia grave e fatal. As manifestações clínicas da cólera começam em torno de 2 a 3 dias após a ingestão da bactéria, com um início abrupto de diarreia aquosa e vômito. À medida que ocorre perda de fluido, os **espécimes** fecais se tornam sem cor, sem odor, sem proteínas e com muco (**fezes de "água de arroz"**;). A grave perda de eletrólitos e fluidos pode levar à desidratação, dolorosas câimbras musculares, acidose metabólica (perda de bicarbonato), hipocalemia e choque hipovolêmico (perda de potássio), com arritmia cardíaca e falha renal. A taxa de mortalidade é de 60% em pacientes não tratados, mas menos de 1% em pacientes que são imediatamente tratados com reposição dos fluidos e eletrólitos perdidos. A doença causada por ***V. cholerae* O139** pode ser tão grave quanto a causada por *V. cholerae* O1. Outros sorotipos de *V. cholerae* (comumente chamados ***V. cholerae* não O1**) não produzem a toxina colérica e geralmente são responsáveis por diarreia aquosa leve. Estas cepas podem também causar infecções extraintestinais como septicemia, particularmente em pacientes com doença hepática ou malignidades hematológicas.

Caso Clínico 31-1 Cólera Causada por *Vibrio cholerae*

Embora a cólera seja disseminada na África, Ásia e América Latina, *V. cholerae* O1 toxigênico é também endêmico ao longo da costa do Golfo, nos Estados Unidos. A maioria das doenças descritas nos Estados Unidos ocorre em viajantes para países com um surto ativo de cólera na comunidade; entretanto, após os furacões Katrina e Rita, as condições de insalubridade nas comunidades localizadas na costa ao longo do Golfo nos Estados Unidos aumentaram o risco de cólera, como ilustrado pelo seguinte relato (Morb Mortal Wkly Rep 55: 31-32, 2006). Três semanas depois dos intensos danos a uma comunidade do sudeste da Louisiana causados pelo furacão Rita, um homem de 43 anos de idade e sua mulher de 46 desenvolveram diarreia. Enquanto a mulher teve apenas uma diarreia branda, o homem foi hospitalizado no dia seguinte com febre, dores musculares, náusea, vômito, cólicas abdominais, diarreia grave e desidratação. O paciente rapidamente avançou para perda total da função renal, falha respiratória e cardíaca. Após tratamento com antibióticos e terapia agressiva de reidratação, o paciente recuperou a saúde. *V. cholerae* O1 toxigênico, sorotipo Inaba, biotipo El Tor foi isolado dos espécimes de fezes dos dois pacientes. As cepas isoladas foram idênticas entre si e também idênticas aos outros isolados previamente associados com a Costa do Golfo, quando caracterizadas por eletroforese em campo pulsado.

Quadro 31-5 Resumo dos Aspectos Clínicos

Vibrio cholerae

Cólera: começa com uma diarreia aquosa repentina e vômito e pode progredir para uma grave desidratação, acidose metabólica, hipocalemia e choque hipovolêmico.

Gastroenterite: formas brandas da doença diarreica podem ocorrer devido às cepas toxina negativas de *V. cholerae* sorotipo O1 e não O1.

Vibrio parahaemolyticus

Gastroenterite: geralmente autolimitada com início explosivo de diarreia aquosa e náusea, vômito, cólicas abdominais, dor de cabeça e febre baixa

Infecção em ferida: associada com exposição à água contaminada

Vibrio vulnificus

Infecção em ferida: infecção grave potencialmente fatal caracterizada por eritema, dor, formação de bolha, necrose de tecido e septicemia

Vibrio parahaemolyticus (Caso Clínico 31-2)

A gravidade da gastroenterite causada por *V. parahaemolyticus* pode variar de uma diarreia autolimitada até uma doença parecida com a cólera, porém, mais branda. Em geral, a doença se desenvolve depois de um período de incubação entre 5 e 72 horas (média de 24 horas), com uma explosiva **diarreia aquosa**. Nenhuma evidência grosseira de sangue ou muco é encontrada em **espécimes** fecais, exceto em casos graves. Dores de cabeça, câimbras abdominais, náusea, vômito e febre baixa podem persistir por 72 horas ou mais. O paciente geralmente apresenta uma eventual recuperação. Infecções em feridas causadas por este microrganismo podem ocorrer em pessoas expostas à água do mar contaminada.

Caso Clínico 31-2 Ostras Cruas, Aquecimento Global e *Vibrio parahaemolyticus*

Um dos maiores surtos conhecidos de *V. parahaemolyticus* nos Estados Unidos foi descrito em 2005 (McLaughlin J, et al., N Engl J Med 353:1463-1470, 2005). Em 19 de julho, a Agência Epidemiológica do Estado de Nevada descreveu o isolamento de *V. parahaemolyticus* em uma pessoa que desenvolveu gastroenterite 1 dia após comer ostras cruas servidas em um cruzeiro ao Alasca. As investigações epidemiológicas identificaram 62 indivíduos (taxa de ataque 29%) que desenvolveram gastroenterite após consumo de algumas ostras cruas. Além da diarreia aquosa, os indivíduos doentes relataram dores abdominais (82%), calafrios (44%), mialgias (36%), dores de cabeça (32%), e vômito (29%) com sintomas que duraram em média 5 dias. Nenhum doente necessitou internação hospitalar. Todas as ostras foram obtidas em um único viveiro de ostras, onde a temperatura da água em julho e agosto registrou 16,6°C e 17,4°C. Temperaturas da água acima de 15°C são consideradas favoráveis para o crescimento de *V. parahaemolyticus*. Desde 1997, a temperatura média da água nos viveiros de ostras tem aumentado 0,21°C por ano e agora permanece consistentemente acima de 15°C. Assim sendo, o aquecimento global aumentou a gama de doenças gastrointestinais associadas ao *V. parahaemolyticus*.

Vibrio vulnificus (Caso Clínico 31-3)

V. vulnificus é uma espécie particularmente virulenta de *Vibrio*, responsável por mais de 90% das mortes relacionadas a vibrios nos Estados Unidos. A apresentação mais comum é a **septicemia primária** após consumo de ostras cruas contaminadas, ou infecções rapidamente progressivas em **feridas**, após exposição à água do mar contaminada. Os pacientes com septicemia primária apresentam rápido quadro de febre e calafrios, vômito, diarreia e dor abdominal. Lesões secundárias da pele com necrose de tecido também estão frequentemente presentes. A mortalidade de pacientes com septicemia causada por *V. vulnificus* pode chegar a 50%. As infecções em feridas são caracterizadas por inchaço inicial, eritema e dor no local da ferida. Estas características são acompanhadas pelo aparecimento de vesículas ou bolhas, e eventual necrose de tecido, juntamente com os sinais sistêmicos de febre e calafrios. A mortalidade associada às infecções em feridas varia de 20% a 30%. As infecções causadas por *V. vulnificus* são mais graves em pacientes com doença hepática, ou falha renal crônica, e nos que receberam fármacos imunossupressores.

Caso Clínico 31-3 Septicemia Causada por *Vibrio vulnificus*

Septicemia e infecções em feridas são complicações bem conhecidas que ocorrem após exposição ao *V. vulnificus*. O caso clínico publicado na *Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR 45:621-624, 1996) ilustra as características típicas dessa doença. Um homem de 38 anos de idade com uma história de alcoolismo e diabetes dependente de insulina desenvolveu febre, calafrios, náusea e mialgia 3 dias após comer ostras cruas. Ele foi admitido no hospital local no dia seguinte com febre alta e duas lesões necróticas na perna esquerda. O diagnóstico clínico de sepse foi feito e o paciente transferido para a UTI. A terapia com antibiótico foi iniciada. No segundo dia de hospitalização, *V. vulnificus* foi isolado de espécime sanguíneo coletado no momento da admissão. Apesar do tratamento médico agressivo, o paciente continuou a deteriorar e morreu no terceiro dia de hospitalização. Este caso exemplifica a progressão rápida e fatal da doença e o fator de risco de comer frutos do mar crus, particularmente, em indivíduos com doença hepática.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

As espécies de *Vibrio* são pequenos (0,5 a 1,5 × 3µm) bacilos Gram negativos curvos. O exame microscópico direto de espécimes fecais não é recomendado, pois os microrganismos não podem ser diferenciados de outros microrganismos entéricos. A análise de espécimes de feridas pode ser útil e apoiar as evidências clínicas e epidemiológicas de uma infecção por vibrio.

Cultura

Vibrio **dificilmente sobrevive em um ambiente seco ou ácido**. Os espécimes devem ser coletados logo no início da doença e rapidamente inoculados em meios de cultura. Se a preparação da cultura demorar, o espécime deve ser misturado ao meio de transporte Cary-Blair e mantido sob refrigeração. Os vibrios apresentam baixo índice de sobrevivência em salina-glicerol tamponada, que é o meio de transporte utilizado para a maioria dos patógenos entéricos.

Os vibrios crescem na maioria dos meios usados em laboratórios clínicos para cultura de amostras de fezes e feridas, incluindo agar sangue e agar MacConkey. O agar seletivo especial para vibrios (p. ex., agar tiosulfato-citrato-sacarose-sais biliares [**TCBS**]), como um meio de enriquecimento (**meio de peptona alcalina**, pH 8,6), pode ser usado para recuperar vibrios de espécimes com uma mistura de microrganismos (fezes). Os isolados são identificados com testes bioquímicos seletivos e são sorotipados usando antissoro polivalente. Em testes realizados para identificar vibrios halofílicos, os meios para os testes bioquímicos devem ser suplementados com cloreto de sódio 1%.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com cólera devem ser imediatamente tratados com **reposição de fluidos e eletrólitos**, antes que ocorra intensa perda de fluidos levando ao choque hipovolêmico. A terapia com antibiótico, embora de valor secundário, pode reduzir a produção de toxina e eliminar o microrganismo mais rapidamente. A **azitromicina** é o antimicrobiano de escolha para crianças e adultos. A resistência à ciprofloxacina, furazolidona e sulfametoxazol-trimetoprim (fármacos previamente recomendados) limitou a eficácia desses fármacos.

A gastroenterite causada por *V. parahaemolyticus* geralmente é uma doença autolimitada, embora a terapia com antibióticos e com fluido e eletrólitos pode ser usada em pacientes com infecções graves. As infecções de feridas e septicemia causadas por *V. vulnificus* devem ser imediatamente tratadas com antibióticos. A combinação de minociclina e uma fluoroquinolona ou cefotaxima parece ser o tratamento mais efetivo.

As pessoas infectadas por *V. cholerae* podem eliminar a bactéria nos primeiros dias de doença aguda representando uma importante fonte de novas infecções. Embora não existam carreadores de longa duração, os vibrios são formas livres em reservas marinhas e estuários. **Apenas o melhoramento das condições sanitárias pode levar ao efetivo controle da doença**. Isto envolve tratamento adequado de esgotos, o uso de sistemas de purificação para eliminar contaminações nos suprimentos de água e a implementação de ações apropriadas para evitar a contaminação de alimentos.

Uma variedade de **vacinas contra cólera** foi desenvolvida, nenhuma mostrou proteção duradoura. Testes de campo com uma vacina oral consistindo de uma associação de células inteiras inativadas de *V. cholerae* com subunidades B demonstraram proteção para 62% dos vacinados durante 1 ano. Também foi observado que a incidência de cólera foi reduzida na população inteira (*i.e.*, **imunidade coletiva ou de grupo**) quando uma proporção significativa da população foi vacinada. Infelizmente, são necessárias várias doses para obter imunidade e a proteção se dissipa entre 2 e 3 anos após a imunização. Outras vacinas, incluindo a vacina viva atenuada, estão em desenvolvimento. Não há vacina para as cepas O139. A profilaxia com tetraciclina tem sido usada para reduzir o risco de infecção em viajantes para áreas em que a doença é endêmica, porém, não previne a disseminação da cólera. Como a dose infectante para cólera é alta, a profilaxia com antibióticos geralmente não é necessária em pessoas com cuidados adequados de higiene.

Aeromonas

Aeromonas é um **bacilo Gram negativo, fermentador, anaeróbio facultativo**, que morfologicamente lembra os membros da família Enterobacteriaceae. Da mesma forma que ocorreu com *Vibrio*, também houve uma ampla reorganização taxonômica do gênero *Aeromonas*. Foram descritas 21 espécies de *Aeromonas*, muitas estão associadas a doenças em humanos. Os patógenos mais importantes deste gênero são: ***Aeromonas hydrophila, Aeromonas caviae*** e ***Aeromonas veronii*** biovar *sobria*. Os microrganismos são ubiquitários em água doce e água salobra.

As espécies de *Aeromonas* causam três formas de doença: (1) **doença diarreica** em pessoas saudáveis; (2) **infecções em feridas**; e (3) **doenças sistêmicas oportunistas** em pacientes imunocomprometidos (particularmente aqueles com doença hepatobiliar ou malignidade subjacente). A doença intestinal pode se apresentar como uma diarreia aquosa aguda, disenteria caracterizada por intensas dores abdominais, sangue e leucócitos nas fezes, ou uma doença crônica com diarreia intermitente. Geralmente nos meses quentes se observa que alguns indivíduos se tornam carreadores gastrointestinais. A importância do isolamento de *Aeromonas* em espécimes entéricos deve ser determinada pela apresentação clínica do paciente. A gastroenterite geralmente ocorre após ingestão de água ou alimento contaminado (p. ex., produtos frescos, carnes, produtos lácteos), enquanto as infecções em feridas, geralmente resultam de um machucado traumático associado com exposição à água contaminada. Uma forma pouco comum de infecção em ferida causada por *Aeromonas* está associada ao uso de sanguessugas medicinais, cujo intestino é colonizado por *A. veronii* biovar *sobria* (Caso clínico 31-4).

Caso Clínico 31-4 Sanguessugas Medicinais e Infecções em Feridas Causadas por *Aeromonas*

As sanguessugas medicinais (*Hiruda medicinalis*) são comumente usadas na cirurgia plástica para estimular a corrente sanguínea em enxertos cirúrgicos na pele. As sanguessugas removem o sangue estagnado e estimulam o vazamento de sangue para o enxerto na pele por mais de 48 horas após sua remoção. Este sangramento é mediado por um inibidor de trombina, a hirudina (origem do nome do gênero), que está presente na saliva da sanguessuga. *Aeromonas* está presente no intestino da sanguessuga e produz enzimas proteolíticas usadas pelas sanguessugas para digerir o sangue. Uma complicação causada pelo uso de sanguessugas é a infecção em feridas causadas por *Aeromonas*, como ocorreu no caso descrito por Snower D et al. (J Clin Microbiol 27:1421-1422, 1989). Uma mulher de 62 anos de idade teve epiteliomas de células basais que foram removidos da sua testa e o local da cirurgia foi coberto com enxertos de pele. As sanguessugas medicinais foram usadas para aliviar o inchaço no local do enxerto. As sanguessugas foram removidas de um tanque e aplicadas sobre a ferida por 1 hora em quatro ocasiões diferentes. Onze dias após a cirurgia inicial, o enxerto apareceu infectado e foi removido. As culturas do enxerto, como das sanguessugas e da água do tanque, foram positivas para *Aeromonas*. A paciente foi tratada com antibióticos parenterais, e um novo enxerto, sem o uso de sanguessugas, foi realizado com sucesso.

Numerosos fatores de virulência em potencial (endotoxina, hemolisinas, enterotoxinas termoestável e termolábil) foram identificados em *Aeromonas*, no entanto, o papel dos mesmos na doença ainda não é conhecido.

A doença diarreica aguda é autolimitada e apenas o cuidado de apoio é indicado nos pacientes afetados. A terapia com antimicrobianos é necessária em pacientes com doença diarreica crônica, infecções em feridas ou doença sistêmica. As espécies de *Aeromonas* são resistentes à penicilina, à maioria das cefalosporinas e à eritromicina. A **ciprofloxacina** é consistentemente ativa contra cepas de *Aeromonas* isoladas nos Estados Unidos e na Europa, entretanto, resistência foi descrita em cepas isoladas na Ásia. Assim, a eficácia a longo prazo das fluoroquinolonas ainda deve ser investigada. A gentamicina, a amicacina e o sulfametoxazol-trimetoprim são ativos contra a maioria das espécies de *Aeromonas*.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 57 anos de idade foi hospitalizado em Nova York com histórico de 2 dias de diarreia aquosa grave. A doença começou 1 dia depois de seu retorno do Equador. O paciente estava desidratado e sofria de desequilíbrio de eletrólitos (acidose e hipocalemia). O paciente teve uma recuperação esperada após a reposição de fluidos e eletrólitos, que foi realizada para compensar as perdas resultantes da diarreia aquosa. A cultura de fezes foi positiva para *V. cholerae*.

1. Quais são os sintomas clínicos característicos da cólera?

1. Infecções causadas por *Vibrio cholerae* podem variar de infecções assintomáticas a diarreias graves e fatais. As manifestações clínicas da cólera começam em torno de 2 a 3 dias após a ingestão da bactéria, com um início abrupto de diarreia aquosa e vômito. A grave perda de eletrólitos e fluidos pode levar à desidratação, dolorosas câimbras musculares, acidose metabólica (perda de bicarbonato), hipocalemia e choque hipovolêmico (perda de potássio), com arritmia cardíaca e falha renal. Os sintomas podem ser resolvidos após alguns dias com diarreia.

2. Qual o principal fator de virulência dessa doença? Quais são os outros fatores de virulência descritos? Qual o modo de ação desses fatores de virulência?

2. O fator de virulência mais importante responsável pela cólera é a toxina colérica (toxina A-B). Um anel de cinco subunidades B idênticas as da toxina colérica liga-se ao gangliosídeo GM1, um receptor localizado nas células do epitélio intestinal, formando um poro que facilita o transporte da subunidade A para dentro da célula. A porção ativa da subunidade A é internalizada e interage com as proteínas G que controlam a adenilato ciclase, levando à conversão catabólica do trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). O resultado é uma hipersecreção de água e eletrólitos. Outros fatores de virulência de *V. cholerae* incluem pilus corregulado com a toxina, toxina da zonula occludens, enterotoxina acessória da cólera e fator de colonização.

3. Como o paciente adquiriu essa infecção? Como esta situação difere da aquisição de infecções causadas por *V. parahaemolyticus* ou *V. vulnificus*?

3. O paciente provavelmente adquiriu esta infecção pela ingestão de água ou comida contaminada. Uma alta dose do organismo é necessária para estabelecer a infecção e, por isto, a doença é primariamente restrita a comunidades onde as condições sanitárias são precárias. Infecções causadas por *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* ocorrem primariamente pelo consumo de frutos do mar crus ou mal cozidos, particularmente ostras.

4. Como a cólera pode ser controlada em áreas onde a infecção é endêmica?

4. A cólera pode ser controlada em áreas endêmicas pelo melhoramento das condições sanitárias da comunidade (exemplos: tratamento adequado de esgotos, uso de sistemas de purificação para eliminar contaminações nos suprimentos de água e implementação de ações apropriadas para evitar a contaminação de alimentos).

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site *www.StudentConsult.com* e assista à animação com as funções da toxina colérica e da enterotoxina termolábil de *E. coli*.

Bibliografia

Albert MJ, Nair GB. Vibrio cholerae O139–10 years on. *Rev Med Microbiol*. 2005;16:135-143.

Ali M, et al. Herd immunity conferred by killed oral cholera vaccines in Bangladesh: A reanalysis. *Lancet*. 2005;366:44-48.

Klose KE. Regulation of virulence in Vibrio cholerae. *Int J Med Microbiol*. 2001;291:81-88.

Ko W-C, Chuang Y-C. Aeromonas bacteremia: Review of 59 episodes. *Clin Infect Dis*. 1995;20:1298-1304.

Lacey SW. Cholera: Calamitous past, ominous future. *Clin Infect Dis*. 1995;20:1409-1419.

McLaughlin JB, et al. Outbreak of Vibrio parahaemolyticus gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *N Engl J Med*. 2005;353:1463-1470.

Oliver JD. Wound infections caused by Vibrio vulnificus and other marine bacteria. *Epidemiol Infect*. 2005;133:383-391.

Saha D, et al. Single-dose azithromycin for the treatment of cholera in adults. *N Engl J Med*. 2006;354:2452-2462.

Snower DP, et al. Aeromonas hydrophila infection associated with the use of medicinal leeches. *J Clin Microbiol*. 1989;27:1421-1422.

Yeung PSM, Boor KJ. Epidemiology, pathogenesis, and prevention of foodborne Vibrio parahaemolyticus. *Foodborne Pathog Dis*. 2004;1:74-88.

32 *Campylobacter* e *Helicobacter*

A classificação de *Campylobacter* e *Helicobacter* (Quadro 32-1) tem sofrido muitas modificações desde que estas bactérias foram isoladas pela primeira vez. Entretanto, técnicas de biologia molecular (p. ex., análise de sequência dos genes do rRNA 16S), caracterização das proteínas e lipídios da parede celular, caracterização sorológica e análise das propriedades bioquímicas desses microrganismos têm sido utilizadas para elucidar muitos aspectos da classificação taxonômica. Estes gêneros pertencem à mesma superfamília de rRNA, constituída por bacilos Gram negativos espiralados com: (1) baixa relação de bases guanina/citosina do DNA; (2) incapacidade de fermentar ou oxidar carboidratos; e (3) necessidade de ambiente microaerófilo para crescimento (*i.e.*, crescimento apenas em presença de nível reduzido de oxigênio).

Quadro 32-1 Espécies Importantes de *Campylobacter* e *Helicobacter*

Microrganismo	Origem Histórica
Campylobacter	*kampylos* “curvado”; *bacter*, “bacilo” (bacilo curvado)
C. jejuni	*jejuni*, de jejuno
C. coli	*coli*, de cólon
C. fetus	*fetus*, refere-se à observação inicial de infecção por essa bactéria em fetos
C. upsaliensis	*upsaliensis*, primeira amostra isolada de fezes de cão em uma clínica veterinária em Uppsala, Suécia
Helicobacter	*helix*, “espiral”; *bacter*, “bacilo” (bacilo espiralado)
H. pylori	*pylorus*, parte inferior do estômago
H. cinaedi	*cinaedi*, de “homossexual” (primeira amostra isolada de homossexuais com gastrenterite)
H. fennelliae	*fennelliae*, denominado devido a C. *Fennell*, quem primeiro isolou essa bactéria

Campylobacter (Quadro 32-2)

O gênero *Campylobacter* consiste em pequenos (0,2 a 0,5µm de largura × 0,5 a 5,0µm de comprimento) **bacilos Gram negativos em forma de "vírgula"**; (Fig. 32-1), móveis por meio de um flagelo polar. Muitas espécies são **microaeróbicas**, necessitando de uma atmosfera reduzida de oxigênio e níveis aumentados de hidrogênio e gás carbônico para crescimento aeróbio. Atualmente, um total de 25 espécies e 11 subespécies têm sido reconhecidas e muitas delas estão associadas com doença humana, contudo apenas quatro espécies são patógenos humanos significantes (Tab. 32-1).

Quadro 32-2 Resumo: *Campylobacter*

Biologia, Fatores de Virulência e Doença

Bacilo Gram negativo fino e curvo

Os fatores que regulam a adesão, motilidade e invasão na mucosa intestinal ainda estão pouco definidos

A síndrome de Guillain-Barré é tida como uma doença autoimune causada por reatividade antigênica cruzada entre oligossacarídeos da cápsula bacteriana e glicoesfingolipídeos da superfície dos tecidos neurais

A enterite aguda é a doença mais comum com diarreia, indisposição, febre e dor abdominal

A maioria das infecções é autolimitada, mas pode persistir por uma semana ou mais

C. fetus está associado com septicemia e é disseminado para múltiplos órgãos

Epidemiologia

Infecção zoonótica; preparo inadequado de aves é a principal fonte de infecção para os seres humanos

Infecção adquirida pelo consumo de alimentos, leite não pasteurizado e água contaminados

Não é comum a transmissão pessoa a pessoa

A dose necessária para estabelecer a doença é alta, exceto quando os ácidos gástricos são neutralizados ou estão ausentes

Distribuição mundial, com infecções entéricas observadas ao longo do ano

Diagnóstico

A detecção de bacilos Gram negativos finos em forma de “S” em amostras de fezes é pouco sensível mas específico

A cultura requer uso de meio de cultura seletivo e incubação com redução da atmosfera de oxigênio e aumento de dióxido de carbono, além de uma temperatura elevada (para espécies termófilas); requer incubação por 2 ou mais dias

Detecção de antígenos de bactérias do gênero *Campylobacter* em amostras de fezes moderadamente sensível e muito específico quando comparado com a cultura

Tratamento, Prevenção e Controle

Para a gastrenterite, a infecção é autolimitada e o tratamento consiste em reposição hidroeletrolítica

Gastrenterites e septicemias graves são tratadas com eritromicina ou azitromicina

A gastrenterite é prevenida pelo preparo adequado dos alimentos e pelo consumo de leite pasteurizado; a prevenção da contaminação dos reservatórios de água também controla a infecção

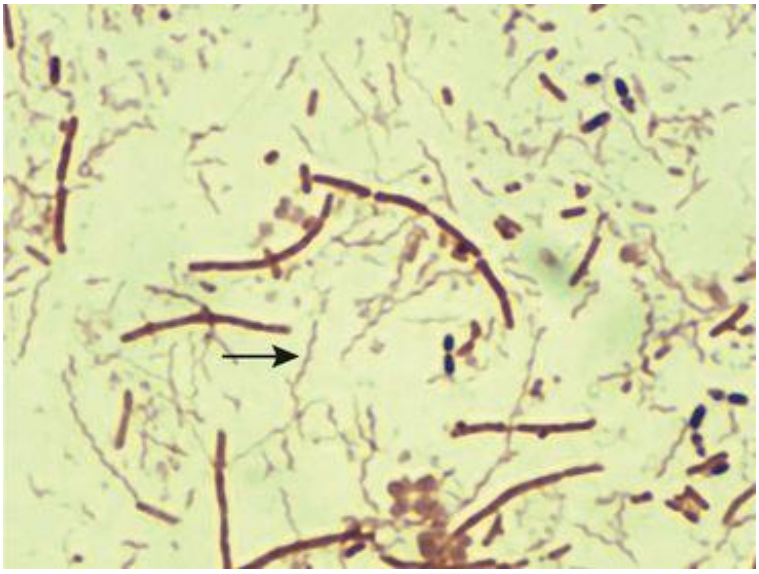


Figura 32-1 Cultura mista de bactérias obtida de material fecal. *Campylobacter jejuni* é o bacilo Gram negativo, fino e curvo (seta).

Tabela 32-1 Espécies de *Campylobacter* Associadas à Doença Humana

Espécies	Hospedeiros Reservatórios Usuais	Doença Humana
C. jejuni	Aves, bovinos e ovinos	Gastrenterite, infecções extraintestinais, síndrome de Guillain-Barré, artrite reativa
C. coli	Porcos, aves, ovinos, pássaros	Gastrenterites, infecções extraintestinais
C. fetus	Bovinos, ovinos	Infecções vasculares, (p. ex., septicemia, tromboflebite séptica, endocardite), meningoencefalite, gastrenterite
C. upsaliensis	Cachorros e gatos	Gastrenterite, infecções extraintestinais

As doenças causadas por espécies de *Campylobacter* consistem primariamente em gastrenterites e septicemia. ***C. jejuni*** representa a causa mais comum de gastrenterite nos Estados Unidos, e ***C. coli*** é responsável por 2% a 5% dos casos de gastrenterite por *Campylobacter*. Esta última espécie constitui a causa mais comum de gastrenterite em países em desenvolvimento.

C. upsaliensis é, provavelmente, uma importante causa de gastrenterite no homem; entretanto, a verdadeira incidência da doença causada por esse microrganismo é subestimada pelos métodos de cultivo convencionais (*C. upsaliensis* é inibido pelos antimicrobianos usados no meio de cultivo para isolamento das outras espécies de *Campylobacter*). Várias outras espécies constituem causas raras de gastrenterites ou infecções sistêmicas. Diferentemente de outras espécies, ***C. fetus*** é frequentemente responsável por infecções sistêmicas, como bacteremia, tromboflebite séptica, artrite, aborto séptico e meningite.

Fisiologia e Estrutura

Campylobacter possui uma estrutura típica de parede celular de microrganismo Gram negativo. O principal antígeno do gênero é o lipopolissacarídio da membrana externa. Adicionalmente, diferentes antígenos polissacarídeos somáticos O e antígenos termolábeis capsulares e flagelares têm sido usados para a classificação epidemiológica das cepas isoladas de amostras clínicas.

O reconhecimento tardio do papel do *Campylobacter* na doença gastrintestinal ocorreu porque os microrganismos crescem melhor em atmosfera reduzida de oxigênio (5% a 7%, **microaerofilia**), e aumentada de dióxido de carbono (5% a 10%). Além disso, ***C. jejuni* cresce melhor a 42°C** do que a 37°C. Estas propriedades têm sido utilizadas para o isolamento seletivo de espécies patogênicas de *Campylobacter* em amostras de fezes. O **tamanho pequeno** dos microrganismos (0,2 a 0,5µm de diâmetro) também tem sido utilizado para isolar as bactérias por meio de filtração das amostras de fezes. As espécies de *Campylobacter* passam através de filtros de 0,45µm, enquanto outras bactérias ficam retidas. Embora essa característica permita a detecção inicial das espécies de *Campylobacter* (amostras de fezes são filtradas para pesquisa de vírus), o método de filtração de amostras de fezes é um procedimento complexo e não é usado rotineiramente em laboratórios clínicos.

Patogenia e Imunidade

O esforço para definir o papel de fatores de virulência específicos, nas doenças pelo *Campylobacter*, tem sido frustrado pela ausência de um modelo animal para reproduzir a doença. *C. jejuni* é a espécie mais bem estudada. Embora adesinas, enzimas citotóxicas e enterotoxinas tenham sido detectadas nessa espécie, seu papel exato na doença permanece pouco definido. Está claro que o risco da doença é influenciado pela dose infectante. Os microrganismos são mortos quando expostos ao ácido gástrico, assim condições que venham diminuir ou neutralizar as secreções gástricas favorecem a doença. A condição imunológica do paciente também afeta a severidade da doença. Os indivíduos de uma população com doença altamente endêmica desenvolvem níveis detectáveis de anticorpos séricos e secretórios específicos e têm doença menos grave. Pacientes com hipogamaglobulinemia apresentam doença grave e prolongada por *C. jejuni*.

A gastrenterite por *C. jejuni* caracteristicamente produz **lesão histológica das superfícies mucosa do jejuno** (como indica o nome da espécie), íleo e cólon. A mucosa aparece edemaciada, ulcerada e sanguinolenta, com abcessos nas criptas das glândulas epiteliais e infiltração da lâmina própria por neutrófilos, células mononucleares e eosinófilos. Esse processo inflamatório é característico de invasão dos microrganismos no tecido intestinal. Entretanto, o papel exato das toxinas citopáticas, enterotoxinas e atividade endotóxica detectados em amostras de *C. jejuni* ainda não foi definido. As amostras não produtoras de enterotoxina, por exemplo, são ainda plenamente virulentas.

C. jejuni e *C. upsaliensis* estão associados com a **síndrome de Guillain-Barré**;, uma doença autoimune do sistema nervoso periférico caracterizada pelo desenvolvimento de fraqueza simétrica por vários dias, necessitando de meses ou mais para recuperação. Embora seja uma complicação rara da doença do *Campylobacter* (aproximadamente 1 em 1.000 infecções diagnosticadas), esta síndrome tem sido associada a sorotipos específicos (principalmente o sorotipo O:19 de *C. jejuni*). Acredita-se que a patogênese dessa doença esteja relacionada à **reatividade antigênica cruzada** entre lipopolissacarídeos de superfície de algumas cepas de *Campylobacter*, e gangliosídeos dos nervos periféricos. Desse modo, anticorpos dirigidos contra amostras específicas de *Campylobacter* podem lesar o tecido neural do sistema nervoso periférico. Outra complicação tardia imunorrelacionada com campilobacteriose é a **artrite reativa**, caracterizada por inchaços dolorosos nas articulações que podem durar semanas a um ano.

Diferentemente de *C. jejuni* e *C. coli* que raramente causam bacteremias (1,5 caso em 1.000 infecções intestinais), *C. fetus* tende a disseminar-se do trato gastrintestinal para a corrente sanguínea e focos distais. Esta disseminação é particularmente comum em pacientes imunocomprometidos, como aqueles com doenças hepáticas, diabetes melito, alcoolismo crônico ou neoplasias. Estudos *in vitro* têm mostrado que *C. fetus* é resistente à destruição mediada por complemento e anticorpos séricos, enquanto *C. jejuni* e a maioria das outras espécies de *Campylobacter* são rapidamente destruídas. *C. fetus* é recoberto por uma proteína termoestável semelhante a uma cápsula (**proteína S**) que impede a destruição mediada pelo complemento do soro (inibição da ligação do C3b às bactérias). *C. fetus* perde a sua virulência se esta camada proteica for removida.

Epidemiologia

As infecções por *Campylobacter* são **zoonóticas**, com uma variedade de animais servindo com reservatórios (Tab. 32-1). Os seres humanos adquirem a infecção por *C. jejuni* e *C. coli* após o consumo de alimentos, leite ou água contaminados; **aves contaminadas** são responsáveis por mais da metade das campilobacterioses nos países desenvolvidos. Em contraste, infecções por *C. upsaliensis* são adquiridas principalmente após contato com cães domésticos (portadores assintomáticos ou com doença diarreica). Os produtos alimentares que neutralizam a acidez gástrica (p. ex., leite) efetivamente reduzem a dose infectante. A transmissão fecal-oral de pessoa a pessoa também pode ocorrer, mas **é incomum haver transmissão da doença por pessoas que manipulam alimentos**.

A incidência atual de infecções por *Campylobacter* é desconhecida, já que a doença não é notificada aos órgãos oficiais de saúde pública. As pesquisas epidemiológicas indicam que a incidência da doença tem diminuído na última década, muito provávelmente devido à melhoria das técnicas de manuseio dos alimentos; entretanto, é estimado que entre 1,4 e 2 milhões de casos de infecções por *Campylobacter* ocorram anualmente nos Estados Unidos, e essas infecções são mais comuns que as as infecções por *Salmonella* e *Shigella* somadas. O número de infeccções por *Campylobacter* pode ser ainda maior, pois se acredita que *C. upsaliensis* é responsável por aproximadamente 10% das campilobacterioses e esta espécie pode não ser isolada pelas técnicas comumente usadas. A doença ocorre durante todo o ano, mas os casos epidêmicos são mais comuns na primavera e no outono. A maior incidência da doença é observada em **lactentes e crianças pequenas**, com um segundo pico de incidência em adultos entre os 20 e 40 anos de idade. A incidência é maior em países em desenvolvimento, onde ocorre doença sintomática em lactentes e crianças e estado de portador assintomático em adultos.

As infecções por *C. fetus* são relativamente raras, com menos de 250 casos registrados anualmente. Contrastando com *C. jejuni, C. fetus* infecta principalmente idosos imunocomprometidos.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 32-1)

A s **infecções gastrintestinais** causadas por *C. jejuni, C. coli* e *C upsaliensis* apresentam-se mais comumente como **enterites agudas**, caracterizadas por diarreia, febre e dor abdominal. Pacientes afetados podem ter 10 ou mais evacuações por dia durante a fase aguda da doença, e as fezes podem vir acompanhadas de sangue. A doença é geralmente autolimitada, embora os sintomas persistam por uma semana ou mais. As manifestações clínicas podem incluir colite, **dor abdominal semelhante à desenvolvida na apendicite aguda** e bacteremia. Infecções entéricas crônicas podem se desenvolver em pacientes imunocomprometidos (p. ex., pacientes com AIDS) e serem difíceis de tratar. Uma variedade de infecções extraintestinais é relatada, porém são relativa mente incomuns. A **síndrome de Guillain-Barré**; e a **artrite reativa** são complicações bem conhecidas das infecções por *Campylobacter*. *C. fetus* difere das outras espécies de *Campylobacter*, já que, primariamente, é responsável por **infecções intravasculares** (p. ex., septicemia, endocardite, troboflebite séptica) e **extraintestinais** (p. ex., meningoencefalites e abscessos). A maioria das infecções por *C. fetus* ocorre em pacientes idosos ou imunocomprometidos.

Caso Clínico 32-1 Enterite por *Campylobacter jejuni* e Síndrome de Guillian-Barré

Scully et al. (N Engl J Med 341: 1996-2003, 1999) descreveram a história clínica de uma senhora de 74 anos de idade que desenvolveu a Síndrome de Guillian-Barré após um episódio de enterite por *C. jejuni*. Depois de uma semana de febre, diarreia aquosa, náuseas, dor abdominal, fraqueza e fadiga notou-se que a paciente não articulava claramente as palavras. Ela foi levada para o hospital, onde observaram que estava incapacitada de falar, embora estivesse orientada e escrevendo coerentemente. Apresentava dormência perioral, ptose bilateral, fraqueza facial, e sua pupila não era reativa. O exame neurológico revelou fraqueza muscular bilateral em seus braços e tórax. No segundo dia de hospitalização, a fraqueza muscular progrediu para as pernas. No terceiro dia, o estado mental da paciente era normal, porém ela podia mover apenas seu polegar com dificuldade e não podia levantar as pernas. A reação à luz foi normal, mas os reflexos mais profundos estavam ausentes. *C. jejuni* foi isolado das fezes da paciente durante a hospitalização e o diagnóstico clínico da síndrome de Guillain-Barré foi feito. Apesar do tratamento, a paciente teve perda neurológica significativa três meses após a alta da clínica de reabilitação. O caso dessa senhora ilustra uma importante complicação da enterite por *Campylobacter*.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Os microrganismos são finos e não podem ser observados facilmente quando corados pelo método de Gram. Apesar da baixa sensibilidade dessa coloração, eles aparecem, caracteristicamente, como **bacilos finos em forma de "S"**; em espécimes fecais (Fig. 32-1).

Detecção Antigênica

Um imunoensaio comercial para detecção de *C. jejuni* e *C. coli* está disponível.

Quando comparado com a cultura, o teste tem uma sensibilidade de 80% a 90% e uma especificidade de mais de 95%. Algumas cepas de *C. upsaliensis* também são reativas neste teste.

Cultura

C. jejuni, C. coli e *C. upsaliensis* não foram reconhecidos por muitos anos porque o isolamento desses microrganismos requer crescimento em **atmosfera microaerófila** (*i.e.*, 5% a 7% de oxigênio, 5% a 10% dióxido de carbono e nitrogênio), **temperatura de incubação elevada** (*i.e.*, 42°C) e meio de cultura seletivo. A atmosfera apropriada para o crescimento desses microrganismos pode ser produzida por um dispositivo comercial gerador de gases que é colocado no interior de uma jarra de incubação contendo os meios de cultura semeados. O meio seletivo deve conter sangue ou carvão para remover os radicais de oxigênio tóxicos e devem ser adicionados antimicrobianos para inibir o crescimento dos microrganismos contaminantes. Infelizmente, os antimicrobianos utilizados na maioria dos meios seletivos podem inibir algumas espécies como, por exemplo, o *C. upsaliensis*. Os membros do gênero *Campylobacter* são microrganismos de **crescimento lento**, geralmente necessitando de 48 a 72 horas ou mais de incubação. *C. fetus* não é termófilo e, desse modo, não cresce a 42°C; entretanto, seu isolamento requer atmosfera microaerófila.

Identificação

A identificação presuntiva das amostras isoladas baseia-se no crescimento em condições seletivas, morfologia microscópica típica e positividade nos testes de oxidase e catalase.

Detecção Antigênica

Testes sorológicos para detecção de IgM e IgG são utilizados em pesquisas epidemiológicas mas não são usados para o diagnóstico individual de pacientes.

Tratamento, Prevenção e Controle

A gastrenterite causada por *Campylobacter* é, tipicamente, uma infecção autolimitada tratada pela reposição de líquidos e eletrólitos perdidos. A antibioticoterapia pode ser utilizada em pacientes com infecções graves ou septicemia. As espécies de *Campylobacter* são suscetíveis a uma grande variedade de antimicrobianos, incluindo macrolídeos (*i.e.*, eritromicina, azitromicina e claritromicina), tetraciclina, aminoglicosídeos, cloranfenicol, fluoroquinolona, clindamicina, amoxicilina/ácido clavulânico e imipenem. As espécies de *Campylobacter* são em sua maioria, resistentes à penicilina, cefalosporina e sulfonamidas. A **eritromicina ou azitromicina** são os antimicrobianos de escolha para o tratamento das enterites sendo a tetraciclina e as fluoroquinolonas usados como antimicrobianos secundários. A resistência às fluoroquinolonas tem aumentado, de modo que estes fármacos podem ser menos efetivos. Amoxicilina/ácido clavulânico pode ser usado no lugar da tetraciclina, que é contraindicada em crianças jovens. Infecções sistêmicas são tratadas com aminoglicosídeos, cloranfenicol e imipenem.

A campilobacteriose entérica pode ser prevenida pelo preparo adequado dos alimentos, (particularmente aves), evitando o consumo de produtos lácteos não pasteurizados e implementando medidas para prevenir a contaminação dos suprimentos de água. É pouco provável que o estado de portador de *Campylobacter* em reservatórios animais, como frangos e perus venha a ser eliminado, assim, o risco de infecções a partir desses animais continua existindo.

Helicobacter (Quadro 32-3)

Em 1983, foram identificados **bacilos Gram negativos espiralados**, semelhantes a *Campylobacter*, em pacientes com gastrite tipo B (inflamação crônica do antro gástrico [final do piloro]). Os microrganismos foram inicialmente, classificados como *Campylobacter*, sendo, subsequentemente, reclassificados como um novo gênero, *Helicobacter*. ***Helicobacter pylori*** (uma **helicobactéria gástrica**) tem sido associado com **gastrite, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico** e **linfoma de células B do tecido linfoide associado à mucosa gástrica (MALT)** (Tab. 32-2). O trato intestinal dos seres humanos é colonizado por outras espécies de *Helicobacter* (*i.e.*, **helicobactérias enterohepáticas**) incluindo ***H. cinaedi*** e ***H. fennelliae*** que têm sido isolados de homossexuais masculinos com proctites, proctocolites ou enterites. *Helicobacter* também é isolado do estômago e intestino de vários mamíferos (p. ex., macacos, cachorros, gatos, leopardos, furões, camundongos e ratos). Nesse capítulo serão discutidas apenas as infecções por *H. pylori*.

Quadro 32-3 Resumo sobre *Helicobacter pylori*

Biologia, Fatores de Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos curvos

Produção elevada de urease é característico de bactérias gástricas (p. ex., *H. pylori*) e incomum em helicobactérias intestinais (teste diagnóstico importante para *H. pylori*)

Os múltiplos fatores de virulência contribuem para a colonização gástrica, inflamação, alteração da produção de ácido gástrico e lesão tecidual

H. pylori é uma causa importante de gastrite aguda e crônica, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma MALT

Epidemiologia

As infecções são comuns, particularmente em pessoas de baixo nível socioeconômico ou em países em desenvolvimento

Os seres humanos constituem o reservatório primário

A transmissão de pessoa a pessoa é relevante (tipicamente fecal-oral)

Ubíquos e mundiais, sem incidência sazonal da doença

Diagnóstico

Microscópico: exame histológico de amostras de biópsia é sensível e específico

Teste da urease é relativamente sensível e altamente específico. O teste respiratório da urease é um teste não invasivo

Teste do antígeno de *H. pylori* é sensível e específico, realizado a partir das amostras de fezes

Cultura requer incubação em condições de microaerofilia; crescimento é lento; relativamente insensível, a menos que múltiplas biópsias sejam cultivadas

Sorologia útil para demonstrar a exposição ao *H. pylori*

Tratamento, Prevenção e Controle

Esquemas múltiplos de tratamento têm sido realizados nas infecções por *H. pylori*. Terapia combinada com um inibidor da bomba de prótons (p. ex., omeprazol), um macrolídeo (p. ex., claritromicina) e um betalactâmico (p. ex., amoxicilina) por duas semanas tem tido alta taxa de sucesso

Tratamento profilático de indivíduos colonizados não tem se mostrado útil e tem efeitos adversos potenciais, como predispor pacientes a adenocarcinomas de esôfago inferior

Vacinas humanas não estão disponíveis atualmente

Tabela 32-2 Espécies de *Helicobacter* Associadas com Doença Humana

Espécies	Hospedeiros Reservatórios Usuais	Doença Humana
H. pylori	Humanos, primatas e porcos	Gastrite, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico, linfomas MALT de células B
H. cinaedi	Humanos e hamster	Gastrenterite, septicemia, proctocolite
H. fennelliae	Humanos	Gastrenterite, septicemia, proctocolite

Fisiologia e Estrutura

As espécies de *Helicobacter* são caracterizadas pela análise de sequência dos genes 16S do rRNA, pelos ácidos graxos celulares e pela presença de flagelos polares. Atualmente, 30 espécies têm sido caracterizadas, mas esta taxonomia está mudando rapidamente. Em culturas recentes, os membros do gênero *Helicobacter* têm uma forma bacilar ou **espiral** (0,5 a 1,0μm de largura por 2,0 a 4,0μm de comprimento), mas pode adquirir a forma cocoide em culturas mais velhas (Fig. 32-2).

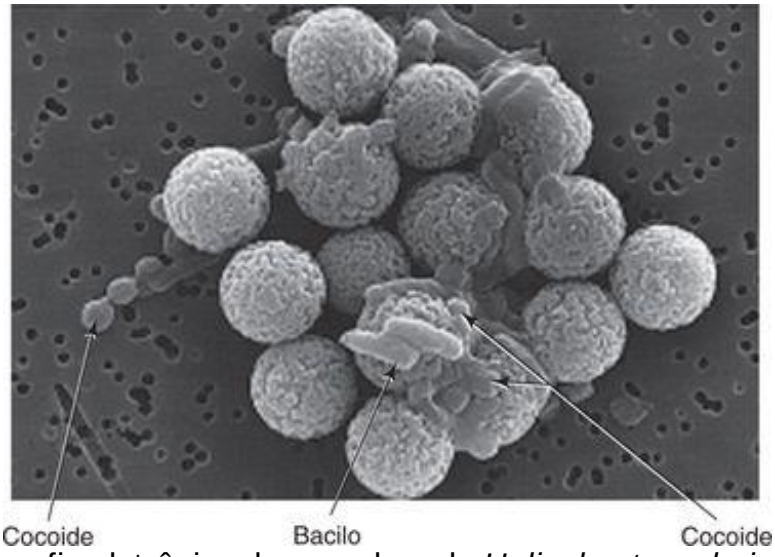


Figura 32-2 Micrografia eletrônica de varredura de *Helicobacter pylori* de uma cultura de 7 dias. Os bacilos e as formas cocoides (*setas*) estão ligados a contas paramagnéticas utilizadas na separação imunomagnética.

(Cortesia do Dr. L. Engstrand, Uppsala, Suécia.)

Todas as espécies de *Helicobacter* associadas à doença gástrica, inclusive *H. pylori*, são altamente **móveis** (motilidade em ziguezague) e produzem **urease** em grande quantidade. Acredita-se que essas propriedades sejam importantes para a sobrevivência nos ácidos gástricos e movimento rápido através da camada viscosa de muco em direção ao ambiente de pH neutro. A maioria desses microrganismos é catalase e oxidase positivos, e não fermentam ou oxidam carboidratos, embora possam metabolizar aminoácidos pela via fermentativa. O lipopolissacarídeo (LPS), consistindo em lipídio A, core de oligossacarídeo e uma cadeia lateral O, está presente na membrana externa. O lipídio A do *H. pylori* tem baixa atividade endotóxica quando comparado com outras bactérias Gram negativas, e a cadeia lateral O é antigenicamente similar aos antígenos do grupo sanguíneo de Lewis, o que pode proteger a bactéria do sistema imune.

O crescimento de *H. pylori* e outras espécies de *Helicobacter* requerem um meio complexo suplementado com sangue, soro, carvão, amido ou gema de ovo; condições microaerófila (diminuição do teor de oxigênio e aumento de dióxido de carbono) e uma temperatura variando entre 30°C a 37°C. Uma vez que esses microrganismos são relativamente difíceis de serem isolados e identificados por testes bioquímicos tradicionais, a maioria das doenças causadas por *H. pylori* é confirmada por técnicas não culturais (veja mais adiante).

Patogenia e Imunidade

H. pylori é uma bactéria extraordinária devido a sua capacidade de estabelecer uma colonização prolongada no estômago de seres humanos não tratados. Muitas pesquisas sobre fatores de virulência em *Helicobacter* têm enfocado o *H. pylori*. Múltiplos fatores de virulência têm contribuído para a caracterização das doenças causadas por *H. pylori*, tais como: colonização gástrica, inflamação, alteração da produção de ácido gástrico e destruição celular. A colonização inicial é facilitada por: (1) bloqueio da produção de ácidos por uma proteína bacteriana inibidora de ácidos; e (2) neutralização dos ácidos gástricos pela amônia produzida pela atividade da enzima bacteriana urease. As bactérias, ativamente móveis, podem atravessar o muco gástrico e aderir às células epiteliais gástricas através de múltiplas proteínas de adesão à superfície. As proteínas de superfícies podem também ligar proteínas do hospedeiro e auxiliar a bactéria a evadir o sistema imune. A lesão tecidual localizada é mediada por subprodutos da urease, **mucinase, fosfolipases** e pela atividade da **citotoxina A vacuolizante (VacA)**, uma proteína que após ser endocitada pelas células epiteliais, as danificam pela produção de vacúolos. Outro importante fator de virulência do *H. pylori* é o **gene *cagA* associado à citotoxina** que está inserido em uma ilha genômica de patogenicidade que contém cerca de 30 genes. Esses genes codificam uma estrutura (sistema de secreção do tipo IV) que atuam como uma seringa para injetar a proteína CagA no interior da célula hospedeira, que interfere com a estrutura normal do citoesqueleto de uma célula epitelial. O gene *cag* PAI (fosforibosil antramilase isomerase) induz a **produção de interleucina 8 (IL-8)** que atrai neutrófilos. A liberação de proteases e moléculas de oxigênio reativo pelos neutrófilios é atribuída por contribuir para a gastrite e a úlcera gástrica.

Epidemiologia

Inúmeras informações sobre a prevalência do *H. pylori* têm sido divulgadas desde 1984, quando o microrganismo foi primeiramente isolado a partir de cultivos. A maior incidência de portadores é encontrada em países em desenvolvimento, nos quais de 70% a 90% da população é colonizada, a maioria, antes dos 10 anos de idade. A prevalência de *H. pylori* em países industrializados, como os Estados Unidos, é menos de 40% e está diminuindo devido à melhoria dos hábitos de higiene e o tratamento ativo dos indivíduos colonizados. Esses estudos também têm demonstrado que 70% a 100% dos pacientes com gastrites, úlcera gástrica ou duodenal, estão infectados com *H. pylori*. **Os seres humanos são os reservatórios primários da infecção** por *H. pylori* e acredita-se que a colonização persista por toda a vida, a menos que o paciente seja tratado especificamente. A transmissão **via fecal-oral** é a mais provável.

Uma observação interessante tem sido feita sobre a colonização por *H. pylori*. Esse microrganismo está claramente associado com doenças como gastrites, úlcera gástrica, adenocarcinoma gástrico e linfomas gástricos MALT. É esperado que o tratamento de indivíduos colonizados e infectados leve à redução dessas doenças. Entretanto, a colonização por esse microrganismo parece oferecer proteção ao refluxo gastroesofageano e a adenocarcinomas do esôfago inferior e da cárdia gástrica. Assim, pode ser imprudente eliminar o *H. pylori* de pacientes sem doença sintomática. Certamente a complexa relação entre *H. pylori* e o hospedeiro ainda precisa ser definida.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 32-2)

As espécies de *Helicobacter* são subdivididas entre as causadoras de infecções gástricas (p. ex., *H. pylori*) e as enterohepáticas (p. ex., *H. cinaedi, H. fennelliae*). As doenças causadas por *Helicobacter* estão diretamente relacionadas ao seu sítio de colonização. Por exemplo, *H. pylori* está associado à gastrite, enquanto as espécies enterohepáticas causam gastrenterites.

Caso Clínico 32-2 A descoberta do *Helycobacter pylori*

Em 1984, Marshall e Warren, médicos australianos, relataram a descoberta que mudou completamente a abordagem do tratamento da gastrite e da úlcera péptica, bem como definiram a base para a compreensão da causa do adenocarcinoma gástrico e de linfomas MALT. (Lancet 1:1311-1315, 1984). Analisando amostras de biópsias gástricas de 100 pacientes que se submeteram à gastroscopia, eles observaram bacilos Gram negativos curvos semelhantes ao *Campylobacter* em 58 pacientes. As bactérias foram observadas na maioria dos pacientes com gastrite aguda, úlcera gástrica e úlcera duodenal. Embora microrganismos similares tenham sido observados associados aos tecidos gástricos 45 anos atrás, este relatório estimulou o ressurgimento das investigações sobre o papel desse "novo" microrganismo nas doenças gástricas. Apesar do ceticismo que acompanhou esse primeiro relatório, o significado desse trabalho com *Campylobacter* foi reconhecido quando Marshall e Warren receberam, em 2005, o Prêmio Nobel de Medicina.

Eventualmente, a gastrite crônica leva à substituição da mucosa gástrica normal por fibrose e proliferação de epitélio do tipo intestinal. Este processo aumenta cerca de 100 vezes o risco de o paciente desenvolver **câncer gástrico**. Esse risco é influenciado pela cepa de *H. pylori* e pela resposta do hospedeiro (amostras *cagA* positivas e altos níveis de produção de IL-1 estão associados com maior risco de desenvolver câncer).

A infecção por *H. pylori* também está associada com a infiltração de tecidos linfoides na mucosa gástrica. Em um número menor de pacientes, uma população monoclonal de células B pode se desenvolver e evoluir para um **linfoma MALT**.

Colonização por *H. pylori* invariavelmente leva à evidência histológica de **gastrite**, ou seja, infiltração de neutrófilos e células mononucleares na mucosa gástrica. A fase aguda da gastrite é caracterizada por uma sensação de plenitude, náusea, vômito e hipocloridria (diminuição da produção de ácido no estômago). A doença pode evoluir para gastrite crônica, confinada ao antro gástrico (onde poucas células parietais secretoras de ácido estão presentes) em indivíduos com secreção ácida normal, ou envolver o estômago inteiro (pangastrite), se a secreção de ácidos for suprimida. Aproximadamente 10% a 15% dos pacientes com gastrite crônica irão desenvolver úlcera péptica. A úlcera se estabelece em locais de intensa inflamação, comumente envolvendo a junção entre o corpo e o antro gástrico (**úlcera gástrica**) ou o duodeno proximal (**úlcera duodenal**). *H. pylori* é responsável por 85% das úlceras gástricas e 95% das úlceras duodenais. O reconhecimento do papel do *H. pylori* tem mudado consideravelmente o tratamento e o prognóstico da úlcera péptica.

H. cinaedi e *H. fennelliae* podem causar **gastrenterite** e **bacteremia**, mais comumente em pacientes imunocomprometidos (p. ex., homossexuais masculinos infectado por HIV). Outras espécies, de taxonomia ainda incerta, atualmente denominadas "*Helicobacter* spp. flexispira taxon 8", causam bacteremia com celulite em pacientes imunocomprometidos.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

H. pylori é detectado por meio de exame histológico de biópsias de mucosa gástrica. Embora o microrganismo possa ser observado em amostras coradas com hematoxicilina-eosina ou pelo método de Gram, a coloração de Warthin-Starry, com prata, é a mais sensível. Quando uma quantidade adequada de amostra é coletada e examinada por um microscopista experiente, a sensibilidade e especificidade do teste se aproximam de 100%, o que é considerado um diagnóstico padrão-ouro. Uma vez que esse é um teste invasivo, procedimentos alternativos são preferíveis para o diagnóstico de rotina.

Detecção Antigênica

Amostras de biópsia também podem ser testadas para a presença da atividade enzimática da urease. A grande quantidade de urease produzida pelo *H. pylori* permite a detecção de um subproduto alcalino em menos de duas horas. A sensibilidade do teste direto a partir de biópsia varia de 75% a 95%; entretanto, a especificidade aproxima-se de 100%, de modo que uma reação positiva é evidência definitiva de uma infecção ativa. Tal como acontece com a microscopia, a limitação desse método consiste na necessidade de se realizar uma biópsia. A atividade ureásica da respiração humana testada por métodos não invasivos após a ingestão de uma solução de ureia isotopicamente marcada apresenta excelente sensibilidade e especificidade. Infelizmente, esse ensaio é relativamente caro devido ao custo dos instrumentos de detecção.

Imunoensaios monoclonais e policlonais para antígenos de *H. pylori* excretados nas fezes têm sido desenvolvidos e demonstrado sensibilidade e especificidade superior a 95%. Esses testes são fáceis de realizar, de baixo custo, sendo adequados para uso em amostras de origem fecal preferentemente biópsias. Embora a infecção enterohepática por *Helicobacter* seja incomum na maioria dos pacientes, a reatividade desses imunensaios deve ser determinada para outras espécies de *Helicobacter*.

Testes Baseados no Ácido Nucleico

Até o momento, os testes moleculares de amplificação do material nucleico para *H. pylori* e helicobactérias enterohepáticas estão restritos a laboratórios de pesquisa e não ao uso clínico.

Cultura

H. pylori adere à mucosa gástrica não sendo recuperado de amostras de fezes ou sangue. A bactéria pode ser isolada se o espécime clínico for cultivado em meio de cultura enriquecido com sangue, hemina ou carvão ativado e incubado em atmosfera de microaerofilia por mais de duas semanas. Entretanto, o diagnóstico das infecções causadas por *H. pylori* é mais comumente realizado por métodos não invasivos (p. ex., imunoensaio), sendo a cultura reservada para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos.

Identificação

A identificação presuntiva dos microrganismos isolados baseia-se em suas características de crescimento em condições seletivas, morfologia microscópica típica e detecção da atividade da oxidase, catalase e urease.

Detecção de Anticorpos

A sorologia é um teste discriminatório importante para o diagnóstico de *H. pylori*, com uma variedade de testes comerciais disponíveis. Ainda que os anticorpos IgM desapareçam rapidamente, IgA e IgG podem persistir por meses ou anos. Como o **título de anticorpos persiste** durante muitos anos, o teste não pode ser utilizado para distinguir entre infecção atual e passada. Além disso, a medida dos títulos de anticorpos não se correlaciona com a gravidade da doença nem com a resposta ao tratamento. Entretanto, os testes são úteis para documentar a exposição a essa bactéria, quer para estudos epidemiológicos ou para avaliação inicial do paciente sintomático.

Tratamento, Prevenção e Controle

Numerosos esquemas antimicrobianos têm sido avaliados para o tratamento das infecções por *H. pylori*. O uso de um único antimicrobiano isolado ou em associação com bismuto é ineficaz. Os resultados mais satisfatórios na cura da gastrite ou úlcera péptica têm sido alcançados com a combinação de um **inibidor da bomba de prótons** (p. ex., omeprazol), um **macrolídeo** (p. ex., claritromicina) e um **betalactâmico** (p. ex., amoxicilina), com administração inicialmente por 7 a 10 dias. A falha no tratamento é mais comumente associada com a resistência a claritromicina. Testes de suscetibilidade de rotina devem ser realizados se o paciente não responder ao tratamento. O metronidazol pode também ser usado no tratamento combinado, mas a resistência é comum.

As infecções por *H. pylori* estimulam uma intensa resposta inflamatória mediada por células TH1. O uso experimental de vacinas com antígenos de *H. pylori* estimulando células TH1 que leva ao aumento da inflamação. Por outro lado, o uso de antígenos associados com adjuvantes de mucosa que induzem resposta das células TH2 é protetora em modelos animais e pode erradicar infecções existentes. A efetividade dessas vacinas em seres humanos ainda precisa ser demonstrada.

Estudo de Caso e Questões

Uma mulher e seu filho de 4 anos de idade buscaram uma unidade de emergência local com história de diarreia e dor abdominal de 1 dia de duração. Ambos apresentavam febre baixa, e a amostra de fezes coletada da criança apresentava sangue ao exame macroscópico. Os sintomas apareceram 18 horas após um jantar com salada verde, frango, milho, pão e torta de maçã. A cultura da amostra de sangue foi negativa para microrganismos, mas foi isolado *C. jejuni* das amostras de fezes da mãe e da criança.

1. Qual o alimento que provavelmente foi o principal responsável pela infecção? Que medidas devem ser adotadas para prevenir tais infecções?

1. Infecções por *Campylobacter jejuni* têm sido associadas com uma grande variedade de alimentos; entretanto, a fonte mais comum é o frango contaminado. Cozinhar completamente todo o frango e desinfetar as superfícies onde o frango cru foi preparado pode evitar infecções.

2. Cite três espécies de *Campylobacter* que têm sido vinculadas a gastrenterites. Cite as espécies de *Campylobacter* que são comumente associadas à septicemia.

2. As três espécies mais comuns de *Campylobacter* associadas com gastrinterites são *C. jejuni, C. coli* e *C. upsaliensis*. *C. fetus* é a espécie mais comumente associada com septicemia.

3. Quais as doenças associadas a *H. pylori, H. cinaedi* e *H. fennelliae*?

3. Doenças causadas por *Helicobacter pylori* incluem gastrinterites, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma de mucosa gástrica associado à célula B (MALT). *Helicobacter cinaedi* e *Helicobacter fenelliae* colonizam o trato gastrintestinal e têm sido associados com proctites, proctocolites e enterites em homossexuais.

4. *H. pylori* tem múltiplos fatores de virulência. Que fatores são responsáveis por interferir com a secreção do ácido gástrico? Que fator é responsável pela aderência ao epitélio gástrico? Qual é responsável pela destruição da mucosa gástrica e qual interfere na morte fagocítica?

4. *H. pylori* produz uma proteína inibidora de ácidos que induz a hipocloridria durante a infecção aguda através do bloqueio da liberação da secreção ácida das células parietais. *H. pylori* produz urease que também neutraliza os ácidos gástricos através da transformação da ureia em amônia. *H. pylori* produz uma variedade de adesinas que favorecem a ligação ao epitélio gástrico, incluindo ligação ao ácido siálico, antígenos do grupo sanguíneo de Lewis e várias outras hemaglutininas. Mucinase e fosfolipases causam dano à mucosa gástrica, enquanto superóxido dismutase e catalase interferem com a morte fagocitária.

Bibliografia

Algood H, Cover T. Helicobacter pylori persistence: An overview of interactions between H. pylori and host immune defenses. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:597-613.

Farinha P, Gascoyne R. Helicobacter pylori and MALT lymphoma. *Gastroenterology*. 2005;128:1579-1605.

Friedman L. Helicobacter pylori and nonulcer dyspepsia [editorial]. *N Engl J Med*. 1998;339:1928-1930.

Kabir S. The current status of Helicobacter pylori vaccines: A review. *Helicobacter*. 2007;12:89-102.

Kusters JG, van Vliet A, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:449-490.

Lastovica A. Emerging Campylobacter spp.: The tip of the iceberg. *Clin Microbiol Newslett*. 2006;28:49-55.

Marshall B. Helicobacter pylori: 20 years on. *Clin Med*. 2002;2:147-152.

Nachamkin I, et al. Campylobacter species and Guillain-Barre syndrome. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:555-567.

Passaro D, Chosy EJ, Parsonnet J. Helicobacter pylori: Consensus and controversy. *Clin Infect Dis*. 2002;35:298-304.

Samuel MC, et al. Epidemiology of sporadic Campylobacter infection in the United States and declining trend in incidence, FoodNet 1996-1999. *Clin Infect Dis*. 2004;38:S165-S174.

Solnick J. Clinical significance of Helicobacter species other than Helicobacter pylori. *Clin Infect Dis*. 2003;36:348-354.

33 *Pseudomonas* e Microrganismos Relacionados

Pseudomonas e bastonetes não fermentadores relacionados constituem um grupo de patógenos oportunistas de plantas, animais e seres humanos. Para dificultar o nosso entendimento sobre esses microrganismos, sua classificação taxonômica vem sofrendo numerosas mudanças nos últimos anos. Apesar dos vários gêneros, a maioria dos isolados de significado clínico são membros de cinco gêneros: *Pseudomonas, Burkholderia, Stenotrophomonas, Acinetobacter* e *Moraxella* (Quadro 33-1). Esses microrganismos serão o foco deste capítulo.

Quadro 33-1 Bastonetes Gram Negativos Não Fermentadores de Importância

Organismos	Etimologia
Acinetobacter	*akinetos*, ”incapaz de mover”; *bactrum*, ”bastonetes” (bastonetes imóveis)
A. baumannii	*baumannii*, nomeado devido ao microbiologista *Baumann*
A. lwoffii	*lwoffii*, nomeado devido ao microbiologista *Lwoff*
Burkholderia	*Burkholderia*, nomeado devido ao microbiologista *Burkholder*
B. cepacia	*cepacia*, semelhante a uma “cebola” (cepas originais isoladas a partir de cebolas podres)
B. mallei	*mallei*, de “malleus”, nome latino de mormo (doença de equinos)
B. pseudomallei	*pseudes*, “falso”; *mallei* (refere-se à semelhança desta espécie com a *B. mallei*)
Moraxella	*Moraxella*, nomeada devido o oftalmologista suíço Morax, que foi o primeiro a reconhecer a espécie
M. catarrhalis	*catarrhus*, “secreção de muco aquoso ou catarral” (refere-se à inflamação das membranas mucosas do trato respiratório)
Pseudomonas	*pseudes*, ”falso”; *monas*, uma *”unidade*” (refere-se à aparência do microrganismo ao Gram: dispostos aos pares que se assemelham a células únicas)
P. aeruginosa	*aeruginosa*, cheio de “ferrugem” ou verde (refere-se à pigmentação verde resultante dos pigmentos azul e amarelo produzidos por esta espécie)
Stenotrophomonas	*Stenos*, “estreito”; *trophos* “que alimenta”; *monas* “unidade” (refere-se à observação de que essas bactérias finas exigem poucos substratos para o seu crescimento)
S. maltophilia	*malt*, malte (grãos germinados); *philia*, “amigo” (amigo de malte)

Pseudomonas (Quadro 33-2)

O gênero *Pseudomonas*, originalmente, consistia em uma ampla coleção de bactérias não fermentativas que foram agrupadas devido à sua semelhança morfológica. Estas bactérias foram chamadas pseudomonas porque estão, comumente, dispostas em pares de células que lembram uma única célula (Fig. 33-1). Em 1992, esse gênero foi subdivido em vários novos gêneros (incluindo *Burkholderia* e *Stenotrophomonas*); entretanto ainda existem aproximadamente 2 mil espécies no gênero *Pseudomonas.* ***P. aeruginosa*** é a espécie mais importante e será a única discutida neste capítulo.

Quadro 33-2 *Pseudomonas aeruginosa*: Resumo

Biologia, Virulência e Doença

Bastonetes Gram negativos, pequenos, tipicamente dispostos aos pares

Aeróbios obrigatórios; oxidam a glicose; necessidades nutricionais simples

Cápsula de polissacarídeo mucoide

Múltiplos fatores de virulência, incluindo adesinas (p. ex., flagelos, pili, LPS, cápsula de alginato), enzimas e toxinas secretadas (p. ex., exotoxina A, piocianina, pioverdina, elastases, proteases, fosfolipase C, exoenzimas S e T) e resistência a antimicrobianos

As doenças incluem infecções do trato respiratório, trato urinário, pele e tecidos moles, ouvido e olhos, assim como bacteremia e endocardite

Epidemiologia

Amplamente distribuídos na natureza e em ambientes hospitalares úmidos (p. ex., flores, pias, banheiros, equipamentos de ventilação mecânica e de diálise)

Sem incidência sazonal da doença

Pode colonizar transitoriamente o trato respiratório e gastrintestinal de pacientes hospitalizados, particularmente aqueles tratados com antibióticos de amplo espectro, expostos a equipamentos de terapia respiratória ou hospitalizados por longos períodos.

Diagnóstico

Crescimento rápido em meios comuns de laboratórios

Identificado pelas características das colônias (p. ex., hemólise beta, pigmento verde, odor semelhante ao de uva) e testes bioquímicos simples (p. ex., reação de oxidase positiva, utilização de carboidratos por via oxidativa)

Tratamento, Prevenção e Controle

O uso combinado de antibióticos efetivos (p. ex., aminoglicosídeos e antibióticos β-lactâmicos) frequentemente é necessário; a monoterapia, em geral, é ineficaz e pode selecionar cepas resistentes

As medidas de controle de infecção hospitalar devem ser concentradas na prevenção da contaminação de equipamentos médicos estéreis e na transmissão; uso desnecessário de antibióticos de amplo espectro pode selecionar organismos resistentes

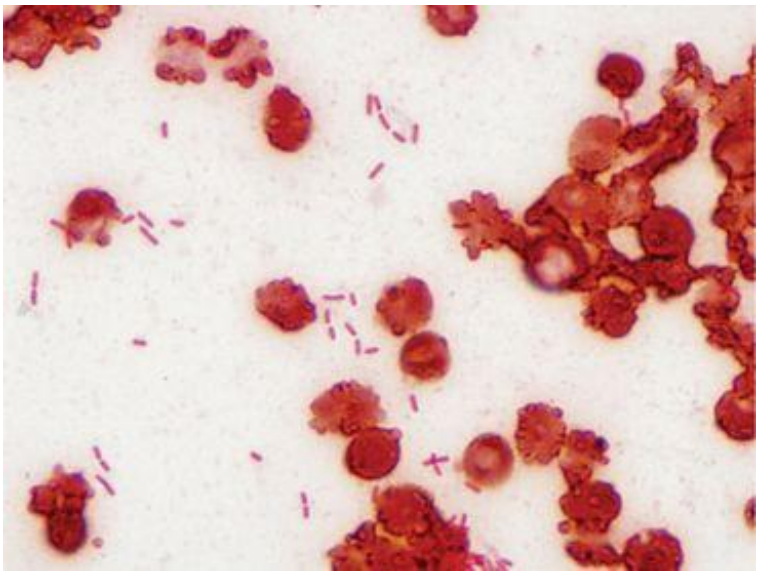


Figura 33-1 Coloração de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* com as células dispostas isoladamente e aos pares.

Membros do gênero *Pseudomonas* são **ubíquos,** encontrados no solo, na matéria orgânica em decomposição, na vegetação e na água. Infelizmente, também são encontrados no ambiente hospitalar em reservatórios úmidos como alimentos, vasos de flores, pias, banheiros, pano de chão, equipamentos de terapia respiratória e de diálise, e até mesmo em soluções desinfetantes. É incomum a colonização persistente, como parte da microbiota normal humana, exceto em pacientes hospitalizados ou ambulatoriais imunocomprometidos.

A ampla distribuição ambiental de *Pseudomonas* tornou-se possível devido à sua exigência nutricional simples para crescimento e versatilidade nutricional. São capazes de utilizar uma série de compostos como fontes de carbono e nitrogênio, e algumas cepas podem até crescer em água destilada usando traços de nutrientes. Esses microrganismos também possuem vários fatores estruturais, enzimas e toxinas que aumentam a sua virulência, tornando-os resistentes à maioria dos antibióticos comumente utilizados. Na verdade, é surpreendente que eles não sejam patógenos ainda mais comuns, considerando a sua presença ubiquitária, capacidade de crescer em praticamente qualquer ambiente, suas propriedades de virulência, e resistência a muitos antibióticos. Por sorte, as infecções por *Pseudomonas* são **primariamente oportunistas** (*i. e.*, restritas a pacientes em uso de antibióticos de amplo espectro, que suprimem a população bacteriana da microbiota normal intestinal, ou a indivíduos com defesas comprometidas).

Fisiologia e Estrutura

As espécies de *Pseudomonas* são bastonetes Gram negativos, usualmente, móveis, retos ou ligeiramente curvos (0,5 a 1,0 × 1,5 a 5,0µm) tipicamente **dispostos aos pares** (Fig. 33-1). Os microrganismos utilizam carboidratos através da **respiração aeróbica** (Cap. 2), tendo o oxigênio como aceptor final de elétrons. Embora descritos como aeróbios obrigatórios, podem crescer de modo anaeróbio usando o nitrato ou arginina como um aceptor alternativo de elétrons. A presença da citocromo **oxidase** (detectada em testes rápidos) é usada para diferenciar *Pseudomonas* dos membros da família *Enterobacteriaceae*. Algumas cepas aparecem **mucoides** devido à abundância de uma cápsula de polissacarídeos (Fig. 33-2); essas cepas são particularmente comuns nos pacientes com fibrose cística. Algumas espécies produzem **pigmentos difusíveis** (p. ex., piocianina [azul], pioverdina [verde-amarelado], e piorrubina [marrom-avermelhado]) que lhes conferem uma aparência característica na cultura.

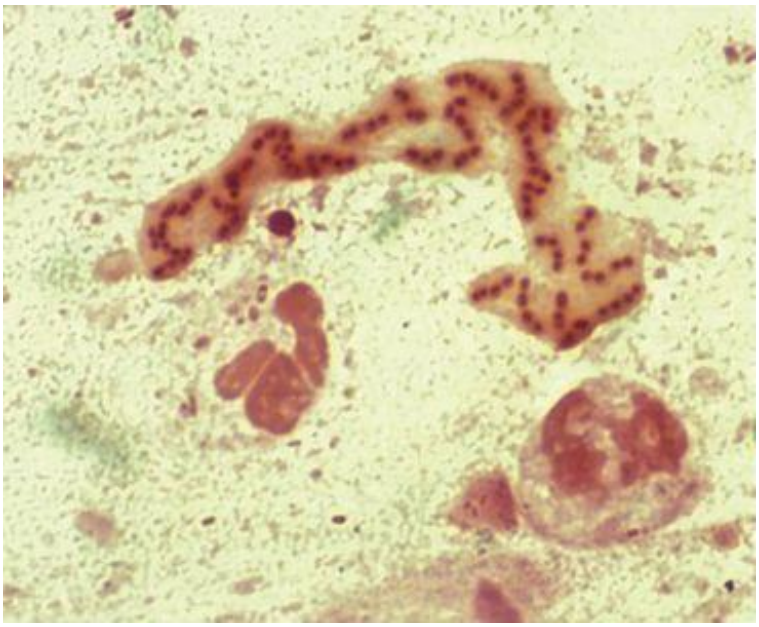


Figura 33-2 Coloração de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* envolta por material capsular mucoide em pacientes com fibrose cística.

Patogênese e Imunidade

P. aeruginosa possui uma série de fatores de virulência, incluindo componentes estruturais, toxinas e enzimas. Adicionalmente, o sistema de secreção do tipo III, usado por *P. aeruginosa*, é particularmente eficaz em injetar toxinas para o interior da célula hospedeira. Apesar da diversidade de fatores de virulência, a maioria dos especialistas acredita que, para *P. aeruginosa* causar doença, vários fatores devem trabalhar conjuntamente.

Adesinas

A adesão às células do hospedeiro é crítica para o estabelecimento da infecção. Pelo menos quatro componentes estruturais da superfície de *P. aeruginosa* facilitam a adesão: (1) flagelo; (2) pili, (3) lipopolissacarídeo (LPS); e (4) alginato. O flagelo e o pili também medeiam a mobilidade de *P. aeruginosa,* e o lipídio A, componente do LPS, é responsável pela atividade de endotoxina. O alginato é um exopolissacarídeo mucoide que forma uma **cápsula** proeminente na superfície bacteriana e protege os organismos da fagocitose e da ação dos antibióticos. A produção deste polissacarídeo mucoide tem uma regulamentação complexa. Os genes que controlam a produção do alginato podem ser ativados em pacientes com fibrose cística ou outras doenças respiratórias crônicas, que são predispostos à colonização de longa duração com cepas mucoides de *P. aeruginosa.*

Toxinas e Enzimas Secretadas

Acredita-se que a **exotoxina A** (ETA) seja um dos fatores de virulência mais importantes produzido por cepas patogênicas de *P. aeruginosa.* Esta toxina **impede a síntese proteica** através do bloqueio do prolongamento da cadeia de peptídeos nas células eucarióticas, de forma semelhante à toxina diftérica produzida pelo *Corynebacterium diphtheriae*. Entretanto, as toxinas produzidas por esses dois microrganismos são estruturalmente e imunologicamente diferentes, e a exotoxina A é menos potente que a toxina diftérica. A exotoxina A, muito provavelmente, contribui para a dermonecrose que ocorre nas lesões por queimadura, nas lesões da córnea em infecções oculares, e danos teciduais nas infecções pulmonares crônicas. A toxina também é imunossupressora.

A **piocianina** é um pigmento azul, produzido por *P. aeruginosa* que catalisa a produção de superóxido e peróxido de hidrogênio, formas tóxicas do oxigênio. Este pigmento também estimula a liberação de interleucina-8 (IL-8), levando ao aumento da quimiotaxia de neutrófilos.

A **pioverdina**, um pigmento verde-amarelado, é um sideróforo que se liga a íons ferro para utilização no metabolismo bacteriano. Esse pigmento também regula a secreção de outros fatores de virulência, incluindo a exotoxina A.

LasA (**serino protease**) e LasB (**zinco metaloprotease**) são duas enzimas que atuam em sinergismo para degradar a elastina, resultando em dano aos tecidos que contenham elastina, e produzindo danos no parênquima pulmonar e lesões hemorrágicas **(ectima gangrenosa)** associadas às infecções disseminadas de *P. aeruginosa*. Essas enzimas também podem degradar componentes do sistema complemento e inibir a quimiotaxia e a função dos neutrófilos, favorecendo ainda mais a disseminação e o dano tecidual nas infecções agudas. As infecções crônicas por *Pseudomonas* são caracterizadas pela formação de anticorpos para LasA e LasB, com deposição de complexos imunes nos tecidos infectados.

Assim como as elastases, **a protease alcalina** contribui para a destruição tissular e disseminação de *P. aeruginosa*. Ela também interfere com a resposta imune do hospedeiro.

Fosfolipase C é uma hemolisina termolábil que quebra lipídios e lecitina, facilitando a destruição tissular. O papel exato dessa enzima nas infecções do trato respiratório e trato urinário (ITUs) não está bem definido, embora uma importante associação entre a produção de

hemolisina e a doença seja reconhecida.

Exoenzimas S e **T** são toxinas extracelulares produzidas por *P. aeruginosa*. Elas possuem atividade de adenosina difosfato-ribosiltransferase (ADP), de função desconhecida. Entretanto, quando o sistema de secreção do tipo III introduz as proteínas nas células-alvo eucarióticas, ocorre dano das células epiteliais, facilitando a disseminação bacteriana, a invasão tecidual e a necrose. Esta citotoxicidade é mediada pelo rearranjo da actina.

Resistência aos Antimicrobianos

P. aeruginosa é naturalmente **resistente a muitos antibióticos** e pode sofrer mutações para cepas ainda mais resistentes durante o tratamento. Embora numerosos mecanismos de resistência tenham sido identificados, **mutações de porinas** constituem o principal mecanismo de resistência. A penetração dos antibióticos na célula bacteriana ocorre primariamente através de poros da membrana externa. Se as proteínas que formam as paredes desses poros são alteradas de modo a restringir o fluxo para o interior da célula, a resistência a muitas classes de antibióticos pode se desenvolver simultaneamente. *P. aeruginosa* também produz uma variedade de diferentes β-lactamases que podem inativar muitos antibióticos β-lactâmicos (p. ex., penicilinas, cefalosporinas e carbapenemas).

Epidemiologia

Pseudomonas são patógenos oportunistas presentes em uma variedade de ambientes. A capacidade de isolamento desses microrganismos a partir de superfícies úmidas pode estar limitada apenas pelo esforço em procurá-los. *Pseudomonas* possui necessidades nutricionais mínimas, tolera uma ampla variedade de temperaturas (4ºC a 42ºC), e é resistente a muitos antibióticos e desinfetantes. Na verdade, o isolamento de *Pseudomonas* a partir de fontes ambientais (p. ex., pias ou pisos hospitalares) significa muito pouco, a não ser que existam evidências epidemiológicas de que um determinado local contaminado seja o reservatório da infecção.

Além disso, o isolamento de *Pseudomonas* em pacientes hospitalizados é preocupante, mas normalmente não justifica uma intervenção terapêutica, exceto se houver evidência de doença. O isolamento de *Pseudomonas* de espécimes clínicos, particularmente outras espécies que não *P. aeruginosa,* pode representar uma simples colonização transitória do paciente ou contaminação do espécime clínico a partir do ambiente durante a sua coleta ou processamento no laboratório.

Infecções Pulmonares

As infecções do trato respiratório inferior por *P. aeruginosa* podem variar em gravidade desde uma **colonização assintomática** ou **traqueobronquite** benigna até uma grave **broncopneumonia necrotizante**. A colonização é observada em pacientes com fibrose cística, outras doenças pulmonares crônicas, ou neutropenia. Infecções em pacientes com fibrose cística têm sido associadas à exacerbação da doença de base e à doença pulmonar invasiva. Cepas mucoides são comumente isoladas dos espécimes obtidos desses pacientes e são de difícil erradicação, porque são frequentemente resistentes a muitos antibióticos.

Condições que predispõem pacientes imunocomprometidos às infecções por *P. aeruginosa* incluem: (1) terapia prévia com antibióticos de amplo espectro, que eliminam a população bacteriana normal e protetora; e (2) uso de equipamento de ventilação mecânica, que pode introduzir organismos nas vias aéreas inferiores. A doença invasiva nesta população é caracterizada por uma broncopneumonia difusa, tipicamente bilateral com formação de microabscessos e necrose tecidual. A taxa de mortalidade é alta, chegando a 70%.

Infecções Primárias da Pele e Tecidos Moles

P. aeruginosa pode causar uma variedade de infecções primárias da pele. A mais conhecida é a infecção em **queimaduras** (Fig. 33-3). A colonização de uma queimadura, seguida de dano vascular localizado, necrose do tecido e bacteremia, é comum em pacientes com queimaduras graves. A superfície úmida da queimadura e a incapacidade de resposta dos neutrófilos à invasão tecidual predispõem os pacientes a tais infecções. O tratamento das feridas com cremes antibióticos tópicos tem tido apenas sucesso limitado no controle dessas infecções.

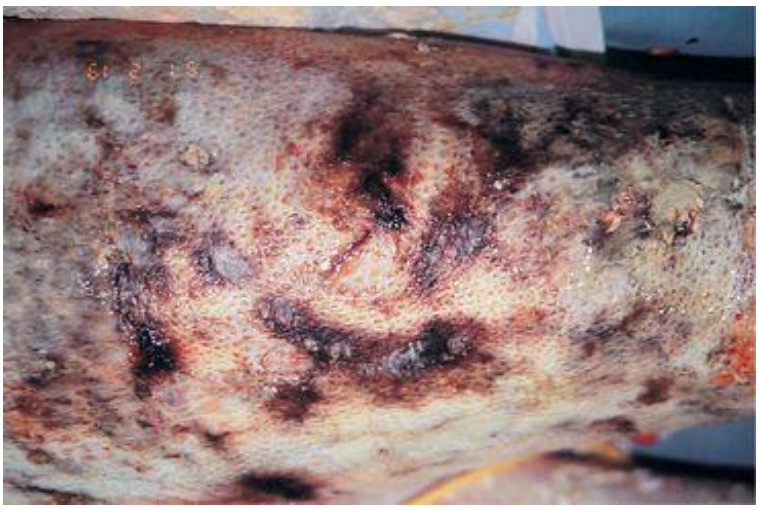


Figura 33-3 Infecção por *Pseudomonas* em uma queimadura.

(De Cohen J, Powderly WB: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

Foliculite (Fig. 33-4; Caso Clínico 33-1), uma outra infecção comum causada por *Pseudomonas;* é resultante da imersão em águas contaminadas (p. ex., canos de água quente, banheiras de hidromassagem, piscinas). Infecções secundárias por *Pseudomonas* também podem ocorrer em pessoas com acne ou nas que fazem depilação. Finalmente, *P.*

aeruginosa pode causar infecções nas unhas de pessoas que têm suas mãos frequentemente expostas à água ou que frequentam manicures.

Figura 33-4 Foliculite por *Pseudomonas.*

(De Cohen J, Powderly WB: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

Caso Clínico 33-1 Foliculite por *Pseudomonas*

Ratnam et al. (J Clin Microbiol 23:655-659,1986) descreveram um surto de foliculite causado por *P. aeruginosa* em hóspedes de um hotel canadense. Alguns hóspedes queixaram-se de erupções cutâneas, que começaram como pápulas eritematosas pruriginosas que evoluíram para pústulas eritematosas distribuídas nas axilas e sobre abdome e nádegas. Para a maioria dos pacientes, as erupções cutâneas tiveram resolução espontaneamente em até cinco dias. O departamento de saúde local investigou o surto e determinou que a fonte foi a hidromassagem do hotel contaminada com uma alta concentração de *P. aeruginosa*. O surto terminou quando a hidromassagem foi drenada, limpa e hiperclorada. Infecções cutâneas como essas são comuns em indivíduos com extensa exposição à água contaminada.

P. aeruginosa também é a causa mais comum de **osteocondrite** (inflamação dos ossos e cartilagem) dos pés, após um ferimento penetrante (p. ex., pisar em prego).

Infecções do Trato Urinário

As infecções do trato urinário são observadas principalmente em pacientes com **cateteres urinários de longa permanência.** Tipicamente, esses pacientes recebem múltiplos tratamentos com antibióticos, que tendem a selecionar cepas bacterianas mais resistentes, como *Pseudomonas.*

Infecções Auriculares

Otite externa é frequentemente causada por *P. aeruginosa*, sendo a natação um fator de

risco importante (**"otite de nadador"**). Esta infecção localizada pode ser tratada com antibióticos tópicos e agentes secantes. A **otite externa maligna** é uma forma virulenta da doença observada primariamente em pessoas com diabetes e pacientes idosos. A doença pode invadir os tecidos subjacentes, causar dano aos nervos cranianos e aos ossos, podendo ser fatal. Tratamento agressivo com antimicrobiano e intervenção cirúrgica são necessários para os pacientes com doença avançada. *P. aeruginosa* está também associada à **otite média crônica.**

Infecções Oculares

As infecções oculares ocorrem após um trauma inicial na córnea (p. ex., abrasão decorrente do uso de lentes de contato, arranhadura da superfície dos olhos) e posterior exposição à água contaminada com *P. aeruginosa.* **Úlceras de córnea** se desenvolvem e podem progredir para uma doença ocular grave a não ser que um tratamento rápido seja instituído.

Bacteremia e Endocardite

Bacteremia causada por *P. aeruginosa* é clinicamente indistinguível das causadas por outras bactérias Gram negativas. Entretanto, a taxa de mortalidade é maior em pacientes com bacteremia por *P. aeruginosa* devido: (1) à predileção do microrganismo por pacientes imunocomprometidos; e (2) à virulência inerente da *Pseudomonas.* Bacteremia ocorre mais frequentemente em pacientes com neutropenia, diabetes melito, queimaduras extensas e doenças hematológicas malignas. A maioria das bacteremias se origina a partir de infecções do trato respiratório inferior, trato urinário, pele e tecidos moles (particularmente infecções em queimaduras). Embora observado na minoria dos pacientes com bacteremia, lesões de pele características podem se desenvolver (**ectima gangrenoso**). As lesões se manifestam como vesículas eritematosas que se tornam hemorrágicas, necróticas e ulceradas. O exame microscópico da lesão mostra microrganismos em abundância, destruição vascular (o que explica a natureza hemorrágica das lesões), e ausência de neutrófilos, como seria esperado em pacientes neutropênicos.

Endocardite por *Pseudomonas* é incomum, e é mais frequentemente observada em usuários de drogas injetáveis. Estes pacientes adquirem a infecção a partir do uso de seringas e agulhas contaminadas com microrganismos veiculados pela água. A válvula tricúspide é mais frequentemente envolvida, e a infecção está associada a um curso crônico, mas de prognóstico mais favorável do que o de pacientes com infecções nas válvulas aórtica ou mitral.

Outras Infecções

P. aeruginosa também é a causa de várias outras infecções, incluindo aquelas localizadas no trato gastrintestinal, sistema nervoso central e sistema musculoesquelético. As condições predisponentes necessárias para a maioria das infecções são: (1) a presença do microrganismo em reservatórios úmidos; e (2) hospedeiros com defesas comprometidas (p. ex., traumas cutâneos, eliminação da microbiota normal como resultado do uso de antibióticos, neutropenia).

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

A observação de bastonetes Gram negativos delgados, dispostos em células únicas e aos pares é sugestivo, mas não patognomônico, de *Pseudomonas; Burkholderia, Stenotrophomonas* e outras pseudomonas podem apresentar morfologia similar. Entretanto, a observação dessas bactérias em determinadas situações clínicas pode guiar a terapia empírica.

Cultura

Uma vez que *Pseudomonas* apresentam necessidades nutricionais simples, elas crescem facilmente em meios de isolamento comuns como o agar sangue e o agar MacConkey. Elas necessitam de incubação em aerobiose (exceto se o nitrato estiver disponível) e, portanto, o seu crescimento em meio líquido geralmente está limitado à superfície do meio em contato com o ar, onde a concentração de oxigênio é maior.

Identificação

A morfologia colonial (p. ex., tamanho da colônia, atividade hemolítica, pigmentação, odor; Fig. 33-5) e os resultados de alguns testes bioquímicos específicos e rápidos (p. ex., reação positiva no teste de **oxidase**) são suficientes para a identificação preliminar destes isolados. Por exemplo, *P. aeruginosa* cresce rapidamente e apresenta colônias planas com bordos espalhados, β-**hemólise**, e **pigmentação verde** devido à produção dos pigmentos azul (piocianina) e verde-amarelado (pioverdina), e um **odor doce característico semelhante ao da uva**. Embora a identificação definitiva de *P. aeruginosa* seja relativamente fácil, uma bateria extensa de testes fisiológicos pode ser necessária para identificar as outras espécies.

Figura 33-5 Morfologia colonial de *Pseudomonas aeruginosa*; notar a pigmentação verde resultante da produção de dois pigmentos solúveis em água: piocianina (azul) e fluoresceina (amarelo).

Tratamento, Prevenção e Controle

A antibioticoterapia para as infecções por *Pseudomonas* é frustrante, porque: (1) as bactérias são tipicamente resistentes à maioria dos antibióticos; e (2) os pacientes infectados e com defesas comprometidas não podem aumentar a atividade do antibiótico. Até mesmo os microrganismos suscetíveis podem se tornar resistentes durante a terapia pela indução da formação de enzimas que inativam antibióticos (p. ex.; β-lactamases), por mutações de genes que codificam as proteínas que constituem os poros (porinas) da membrana externa (os antibióticos não conseguem penetrar na célula bacteriana), ou pela transferência de resistência mediada por plasmídeos de um microrganismo resistente para um suscetível. A **combinação de antibióticos ativos** é geralmente necessária para que o tratamento tenha sucesso nos pacientes com infecções graves.

As tentativas de eliminar *Pseudomonas* de ambientes hospitalares são praticamente inúteis, devido à presença ubíqua desses organismos em suprimentos hídricos. Práticas efetivas de controle de infecção devem ser concentradas na **prevenção da contaminação de equipamentos estéreis**, como equipamentos de ventilação mecânica e máquinas para diálise, e na prevenção da contaminação cruzada dos pacientes por profissionais de saúde. O uso inadequado de antibióticos de amplo espectro deve ser evitado porque podem suprimir a microbiota normal e permitir o crescimento exagerado de cepas resistentes de *Pseudomonas.*

Burkholderia

Em 1992, sete espécies formalmente classificadas como *Pseudomonas* foram reclassificadas como membros do novo gênero *Burkholderia.* Posteriormente, foi verificado que *B. cepacia*, a espécie mais comum, era na realidade um complexo de nove espécies. Como a maioria dos laboratórios tem dificuldade em identificar estas espécies individualmente, o conjunto de espécies, é comumente referido como complexo *B. cepacia.* O **complexo *B. cepacia*, *Burkholderia gladioli*** e ***Burkholderia pseudomallei*** são importantes patógenos humanos (Quadro 33-3); outras espécies (p. ex., *B. mallei*) estão menos frequentemente associadas à doença humana.

Quadro 33-3 Resumos clínicos

Pseudomonas aeruginosa

Infecções pulmonares: variam desde uma leve irritação dos brônquios (traqueobronquite) até necrose do parênquima pulmonar (broncopneumonia necrotizante)

Infecções primárias da pele: desde infecções oportunistas de feridas existentes (p. ex., queimaduras) até infecções localizadas dos folículos pilosos (p. ex.; associado à imersão em água contaminada como de canos de água quente)

Infecções do trato urinário: infecções oportunistas em pacientes com cateter urinário de longa permanência e expostos a antibióticos de amplo espectro (selecionam bactérias resistentes a esses antibióticos)

Infecções auriculares: podem variar desde leve irritação do ouvido externo (“ouvido de nadador”) até a invasão destrutiva dos ossos cranianos adjacentes ao ouvido infectado

Infecções oculares: infecções oportunistas de córneas expostas, ligeiramente lesionadas

Bacteremia: disseminação da bactéria a partir de uma infecção primária (p. ex., pulmonar) a outros órgãos e tecidos; pode ser caracterizada por lesões necróticas da pele (ectima gangrenoso)

Complexo *Burkholderia cepacia*

Infecções pulmonares: variam desde colonização até broncopneumonia principalmente em pacientes com fibrose cística ou doença granulomatosa crônica

Infecções oportunistas: infecções do trato urinário em pacientes cateterizados; bacteremia em pacientes imunocomprometidos com cateteres intravasculares contaminados

Burkholderia pseudomallei

Infecções pulmonares: podem variar desde colonização assintomática até a formação de abscesso

Stenotrophomonas maltophilia

Infecções oportunistas: uma variedade de infecções (mais comumente bacteremia e pneumonia) em pacientes imunocomprometidos previamente expostos à terapia com antibióticos de amplo espectro

Acinetobacter spp

Infecções pulmonares: patógenos oportunistas em pacientes que recebem terapia respiratória

Infecções de feridas: infecções nosocomiais em soldados com feridas traumáticas

Moraxella spp

Infecções pulmonares: traqueobronquite ou broncopneumonia em pacientes com doença pulmonar crônica (mais comumente causada por *M. catarrhalis*)

Assim como *P. aeruginosa*, as espécies de *Burkholderia* podem colonizar uma variedade de superfícies ambientais úmidas e são **patógenos oportunistas** (Caso Clínico 33-2). Pacientes com fibrose cística ou com doença granulomatosa crônica (uma imunodeficiência primária na qual os leucócitos têm atividade microbicida intracelular defeituosa) são particularmente suscetíveis a infecções pulmonares pelo complexo *B. cepacia e B. gladioli.* A colonização do trato respiratório de pacientes com fibrose cística pelo complexo *B. cepacia* tem um prognóstico tão ruim que constitui contraindicação para o transplante pulmonar. O complexo *B. cepacia* também é responsável por infecções do trato urinário em pacientes cateterizados, por septicemia (particularmente em pacientes com cateter intravascular contaminado) e por outras infecções oportunistas. Com exceção das infecções pulmonares, o complexo *B. cepacia* tem um nível relativamente baixo de virulência, e as infecções por esse organismo raramente resultam em morte.

Caso Clínico 33-2 Doença Granulomatosa Causada por *Burkholderia*

McLean-Tooke et al. (BMC Clin Pathol 7:1-5, 2007) descreveram um homem de 21 anos de idade com linfadenite granulomatosa. O homem apresentou história de perda de peso, febre, hepatoesplenomegalia e linfadenopatia cervical. Durante os 3 anos anteriores, ele apresentou, em duas ocasiões, linfonodos aumentados que foram submetidos a biópsia, e o exame histopatológico revelou linfadenite granulomatosa. Foi feito o diagnóstico clínico de sarcoidose, e ele foi tratado com 20mg de prednisona. Nos 24 meses subsequentes, o paciente permaneceu clinicamente bem; entretanto, ele desenvolveu pancitopenia, e foram observados granulomas na biópsia de medula óssea. Durante essa hospitalização, o paciente desenvolveu tosse. A radiografia de tórax mostrou consolidação na base dos pulmões. Uma biópsia pulmonar e o lavado broncoalveolar foram submetidos à cultura, e *Burkholderia cepacia* foi isolada de ambos os espécimes. Uma avaliação imunológica subsequente do paciente confirmou que ele tinha uma doença genética: doença granulomatosa crônica (DGC). Esse caso ilustra a suscetibilidade de pacientes com DGC às infecções por *Burkholderia.*

B. pseudomallei é um saprófita encontrado no solo, na água, e na vegetação. É endêmico no Sudeste da Ásia, na Índia, na África e na Austrália. As infecções são adquiridas por inalação ou, menos comumente, por inoculação percutânea. A maioria das pessoas expostas à *B. pseudomallei* permanece assintomática, entretanto, alcoolistas, diabéticos, e indivíduos com doença renal ou pulmonar crônica são suscetíveis às infecções oportunistas causadas por esse organismo. A infecção é chamada de **melioidose** (*melis*, "doença"; *eidos* "semelhança"; *osis* "condição": condição semelhante à doença equina ou mormo causado por *B. mallei*). A exposição por via percutânea se apresenta como uma **infecção cutânea** localizada, supurativa, acompanhada por linfadenite regional, febre e mal-estar. Esta forma de doença pode ter uma resolução sem incidente ou pode progredir rapidamente para uma sepse fulminante. A **doença pulmonar**, que se desenvolve após a exposição respiratória, pode variar em gravidade desde uma bronquite leve a uma pneumonia necrosante. Cavitação pode progredir para sepse e morte, caso antibioticoterapia apropriada não seja instituída. *B. pseudomallei* tem sido usada em programas de armas biológicas, dessa forma o manuseio deste microrganismo é restrito a laboratórios apropriadamente licenciados, e o seu isolamento em pacientes justifica intervenção pelo departamento de saúde pública. O isolamento de *B. pseudomallei* para fins diagnósticos deve ser conduzido de maneira cautelosa, pois esse microrganismo é altamente infectante.

As espécies de *Burkholderia* são suscetíveis ao **sulfametoxazol-trimetoprima**, característica que as distinguem de *P. aeruginosa.* Embora, os organismos mostrem

sensibilidade *in vitro* à piperacilina, cefaslosporinas de amplo espectro e ciprofloxacina, a resposta clínica geralmente é pobre.

Stenotrophomonas maltophilia

S. maltophilia foi originalmente classificada no gênero *Pseudomonas,* posteriormente movida para o gênero *Xanthomonas*, e então transferida para o gênero *Stenotrophomonas.* Apesar da confusão gerada por essas mudanças taxonômicas, a importância clínica deste patógeno oportunista é bem conhecida. Esta bactéria é responsável por infecções em pacientes debilitados e com os mecanismos de defesas comprometidos. Além disso, devido a resistência de *S. maltophilia* aos antibióticos β-lactâmicos e aminoglicosídeos mais frequentemente utilizados, os pacientes que estão em tratamento de longa duração com esses fármacos estão particularmente expostos ao risco de adquirir infecções por esse microrganismo.

As infecções hospitalares mais comuns causadas por *S. maltophilia* são bacteremia e pneumonia, ambas associadas com alta incidência de complicações e morte (Caso Clínico 33-3). As infecções hospitalares por essa bactéria têm sido relacionadas à contaminação de cateteres intravenosos, de soluções desinfetantes, de equipamento de ventilação mecânica, e máquinas de gelo.

Caso Clínico 33-3 Infecções Disseminadas por *Stenotrophomonas* em um Paciente Neutropênico

Wan-Yee et al. (Ann Acad Med Singapore 35:897-900,2006) descreveram em uma menina chinesa de 8 anos de idade com leucemia mieloide aguda e uma história complexa de infecções fúngicas e bacterianas recorrentes durante tratamento da leucemia. As infecções incluíam aspergilose pulmonar e septicemia por *Klebsiella, Enterobacter, Staphylococcus*, *Streptococcus*, e *Bacillus.* Embora recebendo tratamento com meropenem (um antibiótico carbapenêmico) e amicacina (um aminoglicosídeo), durante um período de neutropenia severa, ela desenvolveu bacteremia por *Stenotrophomonas maltophilia* sensível ao sulfametoxazol-trimetoprima (SMX-TMP). Nos dias subsequentes, ela desenvolveu lesões cutâneas nodulares, dolorosas e eritematosas. *S. maltophilia* foi isolada da biópsia de uma das lesões. O tratamento endovenoso com SMX-TMP levou à resolução gradual das lesões cutâneas. Esse caso ilustra a predileção de *Stenotrophomonas* em causar doença em pacientes imunocomprometidos em uso de carbapenêmicos. Caracteristicamente, *Stenotrophomonas* é uma das poucas bactérias Gram negativas que são resistentes aos carbapenêmicos e sensíveis ao SMX-TMP.

O tratamento com antibióticos é complicado, devido sua resistência à maioria dos fármacos comumente usados. Em contraste com a maioria dos bastonetes Gram negativos, *Stenotrophomonas* é **resistente aos carbapenens** (p. ex., imipenem, meropenem e ertapenem). **Sulfametoxazol-trimetoprima** é o agente mais ativo contra esse microrganismo; atividade *in vitro* também é observada para doxiciclina e ceftazidima.

Acinetobacter

Acinetobacter spp. são cocobacilos Gram negativos arredondados, aeróbios estritos, oxidase negativa (Fig. 33-6). São microrganismos saprófitas **ubíquos**, encontrados na natureza e no ambiente hospitalar e capazes de sobreviver em superfícies úmidas, como equipamentos de ventilação mecânica, e em superfícies secas, como a pele humana (esta última característica é rara entre bastonetes Gram negativos). Estas bactérias também são parte da microbiota da orofaringe de um pequeno número de indivíduos sadios e podem aumentar durante a hospitalização. O gênero *Acinetobacter* é subdividido em dois grupos: as espécies que oxidam a glicose (***A. baumannii*** é a mais comum) e as espécies que não oxidam a glicose (***A. lowffii*** e ***A. haemolyticus*** são as mais comuns). A maioria das infecções humanas é causada por *A. baumannii*.

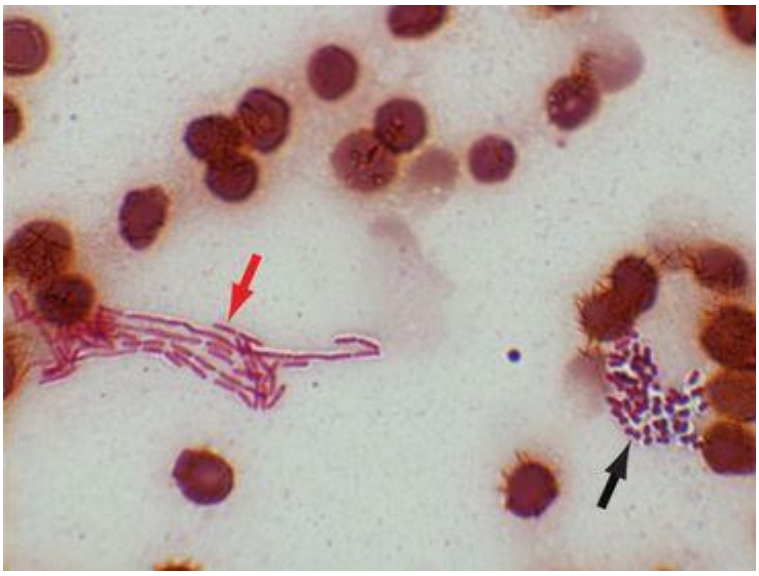


Figura 33-6 Coloração de Gram de *Acinetobacter baumannii* (seta preta) e *Pseudomonas aeruginosa* (seta vermelha). Observe que *Acinetobacter* tem a forma mais cocobacilar e aparecem como Gram positivos.

Acinetobacter spp são **patógenos oportunistas** (Quadro 33-3) que causam infecções no trato respiratório, trato urinário e feridas; podendo causar septicemia. Pacientes em risco de adquirir infecções por *Acinetobacter* são aqueles em uso de antibióticos de amplo espectro, se recuperando de cirurgia, ou sob ventilação respiratória. Infecções nosocomiais de feridas em soldados também têm sido um problema importante. O tratamento das infecções por *Acinetobacter* é difícil porque esses microrganismos, particularmente *A. baumannii,* são frequentemente **resistentes aos antibióticos**, incluindo os carbapenens. A antibioticoterapia específica deve ser orientada pelos testes de suscetibilidade *in vitro.*

Moraxella

Assim como os outros gêneros discutidos neste capítulo, o gênero *Moraxella* foi reorganizado com base na análise do ácido nucleico. Embora as espécies classificadas neste gênero continuem a mudar, *M. catarrhalis* é o patógeno mais importante. ***M. catarrhalis*** é um diplococo Gram negativo, aeróbio estrito, oxidase positivo (Fig. 33-7). Este microrganismo é causa comum de bronquite e broncopneumonia (em pacientes idosos com doença pulmonar crônica), sinusite e otite (Quadro 33-3). Essas duas últimas infecções ocorrem mais comumente em pessoas saudáveis. A maioria dos isolados produz β-lactamases e são **resistentes às penicilinas**; entretanto, essas bactérias são uniformemente suscetíveis a muitos outros antibióticos, incluindo cefalosporinas, eritromicina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima, e à combinação de penicilinas com inibidores de β-lactamases (p. ex., ácido clavulânico). Duas outras espécies de *Moraxella* colonizam o homem e são isoladas com alguma frequência: *Moraxella osloensis* e *Moraxella nonliquefaciens.* Ambas são encontradas na superfície da pele, nas membranas mucosas da boca e do trato geniturinário. Estas espécies raramente são causadoras de infecções oportunistas.

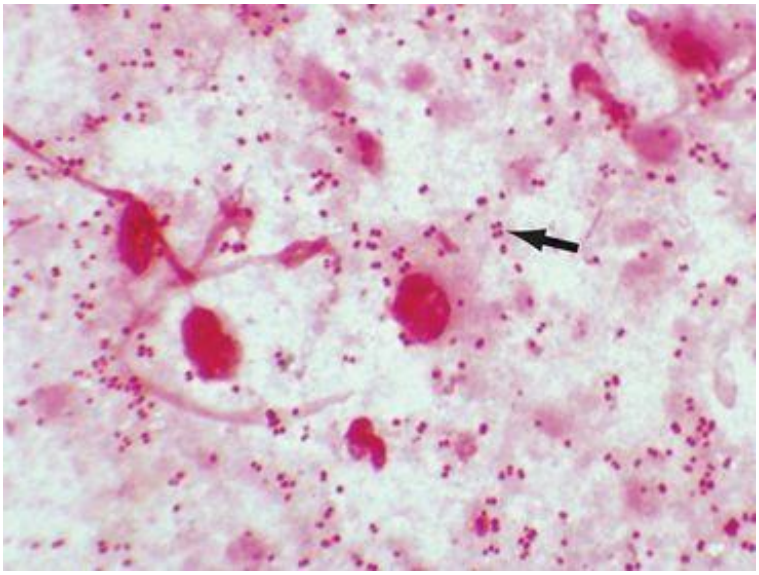


Figura 33-7 Coloração de Gram de *Moraxella catarrhalis* (seta preta). Observe que as células se assemelham a diplococos Gram negativos (semelhantes à *Neisseria)*

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 63 anos de idade foi hospitalizado por 21 dias para o tratamento de uma leucemia recentemente diagnosticada. Três dias após a admissão hospitalar, o paciente desenvolveu uma infecção urinária por *Escherichia coli.* Foi tratado durante 14 dias com antibióticos de amplo espectro. No vigésimo primeiro dia de internação hospitalar, o paciente apresentou febre e calafrios. Nas 24 horas seguintes, tornou-se hipotenso e apresentou lesões cutâneas de ectimas. Apesar da antibioticoterapia agressiva, o paciente faleceu. Culturas múltiplas do sangue foram positivas para *P. aeruginosa.*

1. Que fatores colocaram esse paciente em risco aumentado para a infecção por *P. aeruginosa*?

1. *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno oportunista. Pacientes com condições que comprometem a imunidade (p. ex., leucemia e terapia imunossupressora) têm risco aumentado

para infecção por este microrganismo. Da mesma forma, devido à resistência de *P. aeruginosa* a muitos antibióticos, o tratamento prévio com antibióticos de amplo espectro pode fazer seleção para colonização e subsequente infecção com *P. aeruginosa*.

2. Que fatores de virulência do microrganismo o tornam um patógeno particularmente perigoso? Quais são os efeitos biológicos desses fatores?

2. *P. aeruginosa* é um patógeno oportunista particularmente efetivo devido a vários fatores de virulência. A bactéria pode aderir às células do hospedeiro através de pili e outras adesinas. A cápsula também funciona como fator de aderência, além de interferir na fagocitose. Como outras bactérias Gram negativas, *P. aeruginosa* possui endotoxina. Além disso, a bactéria produz exotoxina A (ETA) que interfere na síntese proteica e tem sido implicada no dano tecidual observado em infecções cutâneas, oculares e pulmonares. Uma variedade de outras enzimas (exoenzima S e T, elastases, protease alcalina, fosfolipase C) contribui para o dano tecidual característico das infecções por *Pseudomonas*. A resistência a antibióticos torna o tratamento difícil.

3. Quais os três principais mecanismos responsáveis pela resistência aos antibióticos encontrados em *P. aeruginosa*?

3. A mutação de porinas pode interferir na penetração de muitas classes de antibióticos através da membrana externa da célula bacteriana. *Pseudomonas* também produz uma variedade de beta-lactamases que podem inativar antibióticos beta-lactâmicos, incluindo carbapenens como imipenem e meropenem. Menos frequentemente *Pseudomonas* pode aumentar o efluxo do antibiótico, reduzindo a concentração intracelular a níveis não efetivos.

4. Que doenças são causadas pelo complexo *B. cepacia*? *S. maltophilia*? *A. baumannii*? *M. catarrhalis?* Que antibióticos podem ser usados para tratar essas infecções?

4. Complexo *Burkholderia cepacia* - este é um complexo de espécies que tem sido associado a infecções respiratórias em pacientes com FC, infecções do trato urinário em pacientes cateterizados, septicemia em pacientes com cateter intravascular e infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos. As infecções podem ser tratadas com sulfametoxazol-trimetoprim. *Stenotrophomonas maltophilia* - este é um agente oportunista que causa infecções (bacteremia, pneumonia, infecções de tecido e do trato urinário) em pacientes debilitados com defesas diminuídas. Resistência a antibióticos é comum, sendo sulfametoxazol-trimetoprim o agente mais efetivo. Levofloxacim e ceftazidima também podem ser usados para tratar as infecções. *Acinetobacter baumannii* - também é um patógeno oportunista que causa principalmente infecções do trato respiratório, e tem sido implicado em infecções de tecido e do trato urinário. Tem sido relatada resistência a muitos antibióticos de modo que a terapia efetiva depende de testes de suscetibilidade *in vitro*. Terapia empírica para infecções sérias deve combinar um beta-lactâmico de amplo espectro (ceftazidima, imipenem) e um aminoglicosídeo. *Moraxella catarrhalis* – este organismo é uma causa comum de bronquite e broncopneumonia em pacientes idosos com doença pulmonar crônica, de sinusites e otites. Quase todos os isolados são resistentes à penicilina; a bactéria é uniformemente suscetível a outros antibióticos.

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site ***www.StudentConsult.com*** e assista à animação com as funções da exotoxina A de *P. aeruginosa*.

Bibliografia

Forster D, Dashner F. Acinetobacter species as nosocomial pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998;17:73-77.

Govan J, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: Mucoid Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia. *Microbiol Rev*. 1996;60:539-574.

Kipnis E, et al. Targeting mechanisms of Pseudomonas aeruginosa pathogenesis. *Med Mal Infect*. 2006;36:78-91.

Mahenthiralingam E, et al. The multifarious, multireplicon Burkholderia cepacia complex. *Nat Rev Microbiol*. 2005;3:144-156.

Mahenthiralingam E, Vandamme P. Taxonomy and pathogenesis of the Burkholderia cepacia complex. *Chron Respir Dis*. 2005;2:209-217.

McGregor K, et al. Moraxella catarrhalis: Clinical significance, antimicrobial susceptibility and BRO beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998;17:219-234.

Peacock S. Melioidosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2006;19:421-428.

Sadikot R, et al. Pathogen-host interactions in Pseudomonas aeruginosa pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:1209-1223.

Senol E. Stenotrophomonas maltophilia: The significance and role as a nosocomial pathogen. *J Hosp Infect*. 2004;57:1-7.

Yahr T, Wolfgang M. Transcriptional regulation of the Pseudomonas aeruginosa type III secretion system. *Mol Microbiol*. 2006;62:631-640.

Yates S, et al. Stealth and mimicry by deadly bacterial toxins. *Trends Biochem Sci*. 2006;31:123-133.

34 *Haemophilus* e Bactérias Relacionadas

Os quatro gêneros mais importantes da família *Pasteurellaceae* são ***Haemophilus***, ***Actinobacillus***, ***Aggregatibacter*** e ***Pasteurella*** (Quadro 34-1). Eles são responsáveis por um amplo espectro de doenças (Quadro 34-2). Os membros dessa família são bastonetes Gram negativos pequenos (0,2 a 0,3 × 1,0 a 2,0μm), anaeróbios facultativos. A maior parte apresenta exigências nutricionais fastidiosas para o crescimento, necessitando de um meio enriquecido para isolamento. Os membros do gênero *Haemophilus* são os mais comumente isolados como patógenos humanos significativos e serão o foco principal deste capítulo (Tab. 34-1).

Tabela 34-1 Espécies de *Haemophilus* Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doença Primária	Frequência
H. influenzae	Pneumonia, sinusite, otite, meningite, epiglotite, celulite, bacteremia	Comum
H. aegyptius	Conjuntivite	Pouco frequente
H. ducreyi	Cancroide	Pouco frequente (nos Estados Unidos)
H. parainfluenzae	Bacteremia, endocardite, infecções oportunistas	Rara
H. haemolyticus	Infecções oportunistas	Rara
H. parahaemolyticus	Infecções oportunistas	Rara

Quadro 34-1 *Pasteurellaceae* Importantes

Microrganismo	Etimologia
Haemophilus	*haemo*, “sangue”; *hilos*, “amante” (“amante de sangue”; requer sangue para crescimento em meio de cultura)
H. influenzae	Originalmente associado ao agente da *influenza*
H. aegyptius	*aegyptius*, “egípcio” (observado por R. Koch em 1883 em exsudatos de egípcios com conjuntivite)
H. ducreyi	Denominado devido ao bacteriologista *Ducrey*, que primeiramente isolou o microrganismo
Actinobacillus	*actinis*, “raio”, *bacillus*, “pequeno bastão” ou “bastonete” (“bastonete em raio”; refere-se ao crescimento de formas filamentosas [raios])
Aggregatibacter	*aggregare*, “estar unido”; *bacter*, “bastonete”; bactéria em forma de bastão que se agrega ou agrupa
A. actinomycetemcomitans	*comitans*, “acompanhante” (“actinomycetos associados”; os isolados estão frequentemente associados com *Actinomyces*)
A. aphrophilus	*aphros*, “espuma”; *philos*, “amante” (“amante de espuma”)
Pasteurella	Denominada devido a Louis *Pasteur*
P. multocida	*multus*, “vários”; *cidus*, “matar” (“vários assassinos”; patogênicos para várias espécies de animais)
P. canis	*canis*, “cão” (isolado a partir da cavidade oral de cães)

Quadro 34-2 *Pasteurellaceae*: Resumos Clínicos

Haemophilus influenzae

Meningite: primariamente uma doença de crianças não imunizadas; caracterizada por febre, cefaleia forte e sinais sistêmicos

Epiglotite: primariamente uma doença de crianças não imunizadas; caracterizada inicialmente por faringite, febre e dispneia, progredindo para celulite e edema dos tecidos supraglóticos, com possível obstrução das vias aéreas

Pneumonia: inflamação e consolidação dos pulmões observadas principalmente em idosos com doença pulmonar crônica preexistente; causada tipicamente por cepas não tipáveis

Haemophilus aegyptius

Conjuntivite: conjuntivite aguda e purulenta (“olhos vermelhos”)

Haemophilus ducreyi

Cancroide: doença sexualmente transmissível caracterizada por uma pápula leve com base eritematosa, progredindo para ulceração dolorosa com linfadenopatia associada

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Endocardite: responsável pela forma subaguda de endocardite em pacientes com dano em válvulas cardíacas

Aggregatibacter aphrophilus

Endocardite: como a causada pelo *A. actinomycetemcomitans*

Pasteurella multocida

Ferida de mordida: a manifestação mais frequente é a infecção de ferida após mordida de cães ou gatos; particularmente comum em mordida de gatos, pois as feridas são profundas e de difícil desinfecção

Haemophilus (Quadro 34-3)

Os membros do gênero *Haemophilus* são bastonetes Gram negativos pequenos, às vezes pleomórficos, presentes nas membranas mucosas dos seres humanos (Fig. 34-1). ***Haemophilus influenzae*** é a espécie mais comumente associada à doença, com infecções mais frequentemente observadas em pacientes pediátricos antes da introdução da vacina contra o *H. influenzae* tipo b (HIB). ***H. aegyptius*** é uma importante causa de conjuntivite purulenta aguda. ***H. ducreyi*** é reconhecido como agente etiológico da doença sexualmente transmissível denominada **cancro mole**, ou **cancroide**. Os outros membros do gênero são comumente isolados em espécimes clínicos (p. ex., *H. parainfluenzae* é a espécie mais frequente na boca), mas raramente são patogênicos, sendo responsáveis principalmente por infecções oportunistas.

Quadro 34-3 Resumo: *Haemophilus*

Biologia, Virulência e Doença

Cocobacilos ou bastonetes Gram negativos, pequenos e pleomórficos

Anaeróbios facultativos, fermentadores
A maioria das espécies requer o fator X e/ou V para o crescimento
H. influenzae é subdividido sorologicamente (tipos a até f) e bioquimicamente (biótipos I a VIII)
H. influenzae tipo b é clinicamente mais virulento (com PRP [polirribitol fosfato] na cápsula)
Haemophilus adere às células hospedeiras através de estruturas pilosas e não pilosas
Veja a Tabela 34-1 para o resumo das doenças

Epidemiologia

As espécies de *Haemophilus* comumente colonizam seres humanos embora as espécies capsuladas de *Haemophilus*, particularmente *H. influenzae* do tipo b, sejam membros pouco comuns da microbiota normal

A doença causada por *H. influenzae* do tipo b foi principalmente um problema pediátrico; eliminado nas populações imunizadas

A doença por *H. ducreyi* é pouco frequente nos Estados Unidos

Com exceção de *H. ducreyi*, que é transmitido pelo contato sexual, a maioria das infecções por *Haemophilus* é causada pela microbiota orofaríngea dos pacientes (infecções endógenas)

Pacientes com os maiores riscos para doença são aqueles com níveis inadequados de anticorpos protetores, com deficiência no sistema complemento e aqueles submetidos à esplenectomia

Diagnóstico

A microscopia consiste em um teste sensível para a detecção de *H. influenzae* nos líquidos cefalorraquidiano (LCR), sinovial e espécimes do trato respiratório inferior, mas não de outros sítios

A cultura é realizada em agar chocolate

Os testes antigênicos são específicos para *H. influenzae* tipo b; então, esses testes não são reativos para infecções causados por outros microrganismos

Tratamento, Prevenção e Controle

As infecções por *Haemophilus* são tratadas com cefalosporinas de amplo espectro, azitromicina ou fluoroquinolonas; várias cepas são resistentes à ampicilina

A imunização ativa com vacinas PRP conjugadas previne a maioria das infecções por *H. influenzae* tipo b

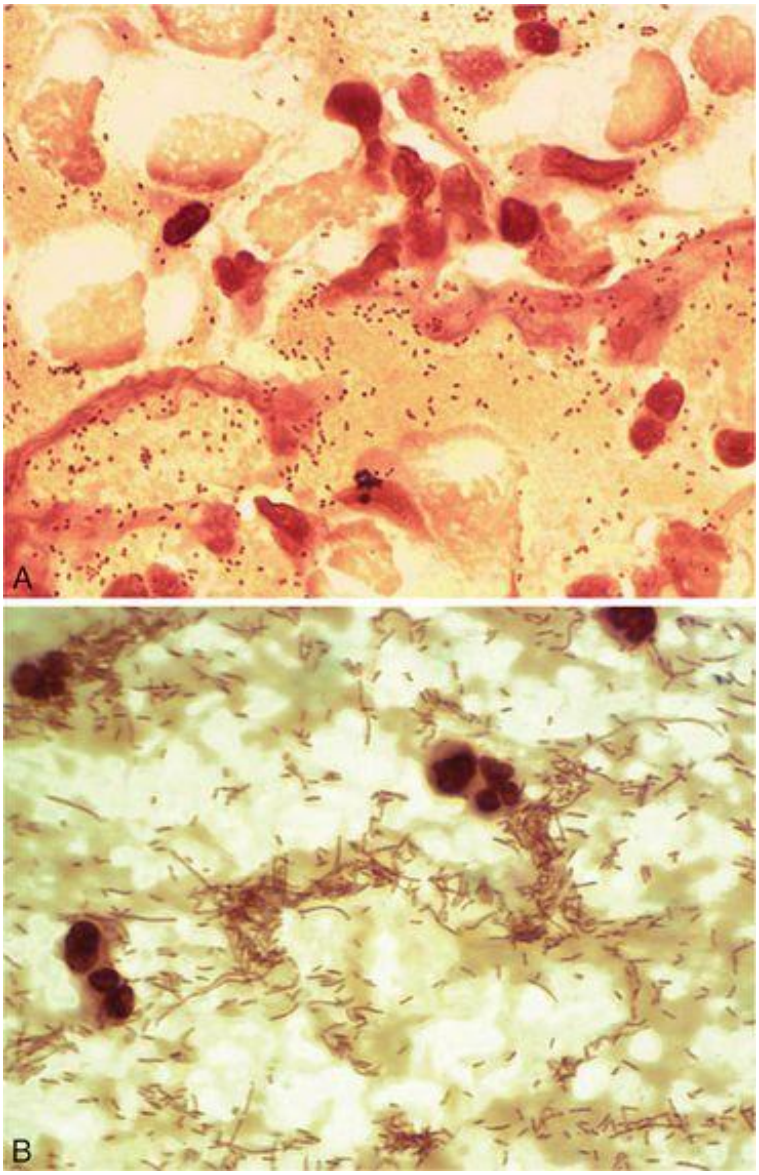


Figura 34-1 Coloração de Gram de *Haemophilus influenzae*. **A**, Formas cocobacilares pequenas observadas em escarro de paciente com pneumonia. **B**, Formas finas pleomórficas observadas em caso de meningite fulminante de criança não vacinada de 1 ano na África.

Fisiologia e Estrutura

O crescimento da maioria das espécies de *Haemophilus* requer suplementação do meio com um ou ambos dos seguintes fatores de estimulação do crescimento: (1) **hemina** (também chamada de **fator X** por ser um fator desconhecido); e (2) **nicotinamida adenina dinucleotídeo** (NAD; também chamada de **fator V** pela "vitamina"). Apesar de ambos os fatores estarem presentes em meios enriquecidos com sangue, o agar sangue de carneiro deve ser levemente aquecido para destruir os inibidores do fator V. Por esta razão, o agar sangue aquecido ("chocolate") é utilizado no isolamento *in vitro* de *Haemophilus*.

A estrutura da parede celular de *Haemophilus* é típica de outros bastonetes Gram negativos. O lipopolissacarídeo com atividade de endotoxina está presente na parede celular e proteínas cepa-específicas e espécie-específicas são encontradas na membrana externa. A análise dessas proteínas cepa-específicas é valiosa em investigações epidemiológicas. A superfície de muitas, mas não todas as cepas do *H. influenzae*, é coberta com uma **cápsula de polissacarídeo** tendo sido identificados seis **sorotipos** antigênicos (de **a** a **f**). Antes da introdução da vacina para HIB, o sorotipo b do *H. influenzae* era responsável por mais de 95% de todas as infecções invasivas do *Haemophilus*. Após a introdução da vacina, a maioria das doenças causadas por esse sorotipo desapareceu e mais da metade de todas as doenças invasivas atuais são causadas por cepas não capsuladas (não tipáveis).

Além da diferenciação sorológica do *H. influenzae*, as espécies estão subdivididas em oito **biótipos** (de I até VIII), determinados por 3 reações bioquímicas: produção de indol, atividade de urease e da ornitina descarboxilase. A separação desses biotipos é útil para propósitos epidemiológicos.

Patogenia e Imunidade

As espécies de *Haemophilus*, particularmente *H. parainfluenzae* e *H. influenzae* não capsulados, colonizam o trato respiratório superior em praticamente todas as pessoas nos primeiros meses de vida. Esses microrganismos podem se espalhar localmente e causar doenças nos ouvidos (otite média), nos seios nasais (sinusite) e no trato respiratório inferior (bronquite, pneumonia). A doença disseminada, no entanto, é relativamente incomum. Em contraste, *H. influenzae* capsulado (particularmente o sorotipo b [biótipo I]) é incomum no trato respiratório superior, ou está presente apenas em pequeno número, mas é causa frequente de **doenças em crianças não vacinadas** (*i.e.*, meningite, epiglotite [laringite obstrutiva], celulite). As adesinas presentes ou não no pili medeiam a colonização da orofaringe pelo *H. influenzae*. Os componentes da parede celular da bactéria (p. ex., lipopolissacarídeo e um glicopeptídeo de baixo peso molecular) prejudicam a função ciliar, levando a dano do epitélio respiratório. A bactéria pode então ser translocada, tanto através das células epiteliais quanto das células endoteliais e penetrar na corrente sanínea. Na ausência de anticorpos opsonizantes específicos direcionados contra a cápsula polissacarídica, pode se desenvolver bacteremia intensa, com a disseminação para as meninges ou outro foco distal.

O principal fator de virulência de *H. influenzae* do tipo b é a cápsula polissacarídica antifagocitária, a qual contém ribose, ribitol e fosfato (comumente referida como **polirribitol fosfato [PRP]**). Os anticorpos específicos para a cápsula estimulam significativamente a fagocitose bacteriana e a atividade bactericida mediada pelo complemento.

Esses anticorpos se desenvolvem como resultado da infecção natural, vacinação com PRP purificado, ou transferência passiva de anticorpos maternos. A gravidade da doença sistêmica é inversamente relacionada à taxa de eliminação da bactéria a partir do sangue. O risco de meningite e epiglotite é significativamente maior em pacientes sem anticorpos antiPRP, com disfunção no sistema complemento, e naqueles submetidos à esplenectomia. O componente **lipídio A** do lipopolissacarídeo induz a inflamação meníngea em modelo animal e pode ser responsável pela iniciação da resposta inflamatória em seres humanos. As **IgA1 proteases** são produzidas por *H. influenzae* (tanto por cepas capsuladas quanto as não capsuladas) e podem facilitar a colonização das superfícies mucosas por interferência com a imunidade humoral.

Epidemiologia

As espécies de *Haemophilus* estão presentes em quase todos os indivíduos, primeiramente colonizando as membranas mucosas do trato respiratório. *H. parainfluenzae* é a espécie de *Haemophilus* predominante na cavidade oral. As cepas não capsuladas de *H. influenzae* são também comumente encontradas no trato respiratório superior, embora as cepas capsuladas sejam detectadas somente em pequeno número e somente quando meios de cultura altamente seletivos são utilizados. Antes da introdução da vacina, embora *H. influenzae* do tipo b representasse o sorotipo mais comumente associado à doença sistêmica, esse era um tipo raramente isolado em crianças saudáveis (aspecto que reforça a virulência desta bactéria).

A epidemiologia das doenças por *Haemophilus* tem sido modificada significativamente. Antes da introdução das **vacinas conjugadas para *H. influenzae* tipo b**, cerca de 20 mil casos de doença invasiva por *H. influenzae* tipo b eram notificados anualmente em crianças menores que 5 anos nos Estados Unidos. As primeiras vacinas polissacarídicas para *H. influenzae* tipo b não foram protetoras para crianças menores que 18 meses (a população com maior risco para a doença), pois há um atraso natural na maturação da resposta imune aos antígenos polissacarídicos. Por outro lado, foi observado que as vacinas contendo antígenos PRP conjugados a carreadores proteicos (*i.e.*, toxoide diftérico, toxoide tetânico, proteína meningocócica da membrana externa) induziam resposta humoral protetora em crianças de dois ou mais meses. Desde a introdução da vacina conjugada em dezembro de 1987, a doença sistêmica em crianças com idade inferior a 5 anos está quase erradicada nos Estados Unidos, com somente 15 casos notificados em 2006. A maioria das infecções por *H. influenzae* tipo b ocorre atualmente em crianças não imunizadas (devido a vacinação incompleta ou resposta insuficiente à vacinação) e em adultos idosos com disfunção da imunidade. Além desses aspectos, a doença invasiva por *H. influenzae* causada por outros sorotipos de bactérias capsuladas e por cepas não capsuladas tem sido proporcionalmente mais frequente do que a doença associada ao sorotipo b. Ressalte-se que a eliminação bem-sucedida de *H. influenzae* tipo b nos Estados Unidos não tem sido observada em países em desenvolvimento nos quais os programas de vacinação têm apresentado dificuldades para a implementação. Dessa forma, *H. influenzae* do tipo b permanece o patógeno pediátrico mais significativo em vários países. É estimado que aproximadamente 3 milhões de casos de doença grave e cerca de 700 mil mortes ocorram anualmente em crianças em todo o mundo. A epidemiologia da doença causada por *H. infuenzae* não capsulado e outras espécies de *Haemophilus* é distinta. Infecções como otites e sinusites associadas a esses microrganismos são primariamente doenças pediátricas, mas podem ocorrer em adultos. A doença pulmonar acomete mais frequentemente idosos, particularmente aqueles com histórico clínico de doença pulmonar obstrutiva crônica ou fatores predisponentes para a aspiração (p. ex., alcoolismo, alteração do estado mental).

H. ducreyi é uma importante causa de úlceras genitais (cancroide) na África e Ásia, mas é menos comum na Europa e América do Norte. A incidência da doença nos Estados Unidos é cíclica. Um pico de mais de 5 mil casos da doença foi descrito em 1988, e sofreu redução para 33 casos em 2006. Apesar dessa tendência favorável, o Centers for Disease Control and Prevention tem descrito que a doença é significativamente subnotificada, tornando a verdadeira incidência desconhecida.

Síndromes Clínicas (Tab. 34-1)

As síndromes clínicas observadas em pacientes com infecções por *H. influenzae* estão representadas na Figura 34-2. As doenças causadas por todas as espécies de *Haemophilus* estão descritas nas próximas seções.

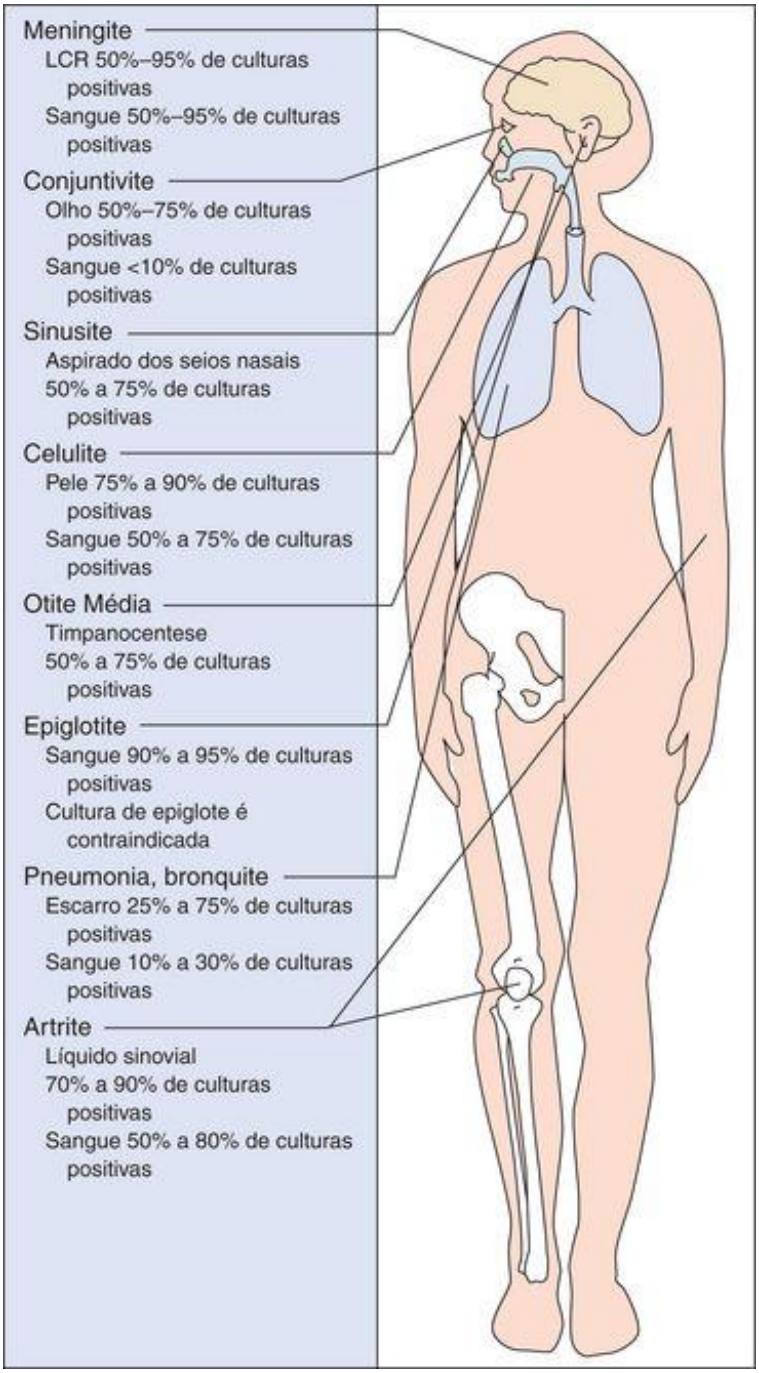


Figura 34-2 Infecções causadas por *Haemophilus influenzae*. Com o advento da vacina conjugada, a maioria das infecções em adultos envolve áreas contíguas com a orofaringe (*i.e.*, trato respiratório inferior, seios nasais e ouvidos). As infecções sistêmicas graves (p. ex., meningite, epiglotite) podem ocorrer em pacientes não imunes. LCR, líquido cefalorraquidiano.

Meningite

H. influenzae do tipo b consistia na causa mais comum de meningite pediátrica, mas o

quadro foi alterado rapidamente quando as vacinas conjugadas se tornaram amplamente utilizadas. A doença em pacientes não imunizados é resultante da disseminação sanguínea do organismo a partir da nasofaringe e não pode ser diferenciada clinicamente das outras causas de meningite bacteriana. A apresentação inicial ocorre 1 a 3 dias após a história de doença leve no trato respiratório superior, após os quais os sinais típicos e sintomas de meningite aparecem. A mortalidade é menor que 10% em pacientes que recebem terapia rapidamente, e estudos clínicos cuidadosamente delineados têm descrito uma baixa incidência de sequelas neurológicas (em contraste com os 50% de incidência de danos residuais graves em crianças não imunizadas observados nos estudos iniciais). A transmissão pessoa a pessoa em população não imune é bem descrita, portanto as devidas precauções epidemiológicas devem ser implementadas.

Epiglotite

A epiglotite, caracterizada pela celulite e edema dos tecidos supraglóticos, representa uma emergência que pode levar ao óbito. Embora a epiglotite seja uma doença pediátrica, o pico de incidência da doença durante a era pré-vacinal ocorria em crianças de 2 a 4 anos de idade. Por outro lado, o pico de incidência de meningite era observado em crianças entre 3 a 18 meses de idade. As crianças com epiglotite apresentam faringite, febre e dispneia, a qual pode evoluir para rápida obstrução das vias aéreas e ao óbito. Desde a introdução da vacina, a incidência dessa doença reduziu significativamente em crianças e permanece relativamente rara em adultos.

Celulite

Tal como a meningite e epiglotite, a celulite causada por *H. influenzae* também consiste em doença pediátrica que tem sido amplamente eliminada pela vacinação. Quando existente, o paciente apresenta febre e celulite caracterizada pelo desenvolvimento de placas com coloração vermelho-azulada na face lateral da boca (bochechas) ou nas áreas periorbitais. O diagnóstico é fortemente sugerido pela apresentação clínica típica, celulite próxima à mucosa oral e ausência de vacinação documentada na criança.

Artrite

Antes do advento das vacinas conjugadas, a forma mais frequente de artrite em crianças com idade inferior a 2 anos era a infecção de uma única articulação grande, secundária à disseminação via bacteremia de *H. influenzae* do tipo b. A doença também ocorre em crianças mais velhas e adultos, mas é pouco comum e geralmente afeta pacientes imunocomprometidos e pacientes com danos articulares prévios.

Otite, Sinusite e Doença no Trato Respiratório Inferior (Caso Clínico 34-1)

Cepas não capsuladas de *H. influenzae* (principalmente os biotipos II e III) são patógenos oportunistas que podem causar infecções das vias aéreas superiores e inferiores. A maioria dos estudos tem demonstrado que *H. influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* são as causas mais comuns de otites e sinusites agudas e crônicas. A pneumonia primária é pouco comum em crianças e adultos que apresentam função pulmonar normal. Esses microrganismos

comumente colonizam pacientes que apresentam doença pulmonar crônica (incluindo fibrose cística) e frequentemente estão associados com exacerbação da bronquite e da pneumonia clinicamente evidente.

Caso Clínico 34-1 Pneumonia Causada por *Haemophilus influenzae*

Holmes e Kozinn (J Clin Microbiol 18: 730-732, 1983) descreveram uma paciente de 61 anos com pneumonia causada por *H. influenzae* sorotipo d. A paciente apresentou histórico longo de tabagismo, doença pulmonar obstrutiva crônica, diabetes melito e insuficiência cardíaca congestiva. Ela apresentou pneumonia no lobo superior esquerdo, produção de escarro purulento com várias bactérias Gram negativas. Ambas as culturas de escarro e hemoculturas foram positivas para *H. influenzae* sorotipo d. O microrganismo foi suscetível à ampicilina, à qual a paciente respondeu com sucesso. Esse caso ilustra a suscetibilidade dos pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica a infecções com cepas de *H. influenzae* não pertencentes ao sorotipo b.

Conjutivite

H. aegyptius, também denominado **bacilo Koch-Weeks**, causa conjuntivite aguda e purulenta. Esse microrganismo contagioso está associado com epidemias, particularmente durante os meses quentes do ano.

Cancroide

Cancroide é uma doença sexualmente transmissível mais comumente diagnosticada em homens, supostamente porque a doença poder vir a ser assintomática ou subclínica em mulheres. Aproximadamente 5 a 7 dias após a exposição, uma pápula tênue com base eritematosa se desenvolve na genitália ou na região perianal. Dentro de dois dias, a lesão se torna ulcerada e **dolorosa**. A **linfadenopatia** inguinal também está comumente presente. Outras causas de úlcera genital, como sífilis e doença por herpes simplex, devem ser excluídas para confirmar o diagnóstico de cancroide.

Outras Infecções

Outras espécies de *H. influenzae* podem causar infecções oportunistas, como otite média, conjuntivite, sinusite, endocardite, meningite e abscesso dentário.

Diagnóstico Laboratorial

Coleta e Transporte do Espécime Clínico

Como a maioria das infecções por *Haemophilus* em indivíduos vacinados se origina da faringe e são restritas ao trato respiratório superior e inferior, deve-se evitar a contaminação dos espécimes com secreções orais. A aspiração direta com seringa deve ser utilizada para o diagnóstico microbiológico de sinusite ou otite. O escarro produzido nas vias aéreas inferiores é utilizado no diagnóstico de pneumonia. A hemocultura em pacientes com pneumonia pode ser útil, mas provavelmente será negativa em pacientes com infecções do trato superior. Tanto sangue quanto o líquido cefalorraquidiano (LCR) devem ser coletados de crianças não imunizadas com o diagnóstico de meningite. Devido à presença de aproximadamente 10^7 bactérias por mL do LCR em pacientes com meningite não tratada, 1 a 2mL do fluido é geralmente adequado para microscopia, cultura e testes de detecção de antígenos. A microscopia e cultura são menos sensíveis se o paciente for exposto a antibióticos antes da coleta do LCR. Hemocultura também deve ser coletada para o diagnóstico de epiglotite, celulite e artrite. Os espécimes não devem ser coletados a partir da faringe posterior em pacientes com suspeita de epiglotite pois o procedimento pode estimular a tosse e obstrução das vias aéreas. Os espécimes para a detecção de *H. ducreyi* devem ser coletados com um *swab* umedecido a partir da base ou da margem da úlcera. A cultura de pus coletada por aspiração de linfonodo edemaciado pode ser realizada, mas é geralmente menos sensível do que a cultura da úlcera. O laboratório deve ser notificado de que há suspeita de infecção por *H. ducreyi*, pois deverão ser utilizadas técnicas especiais de cultura para recuperação do microrganismo.

Microscopia

Se a microscopia for realizada corretamente, a detecção das espécies de *Haemophilus* em espécimes clínicos é sensível e específica. Podem ser detectados bastonetes Gram negativos que variam em forma de cocobacilos a filamentos longos e pleomórficos em mais de 80% dos espécimes de LCR obtidos a partir de pacientes com meningite por *Haemophilus* não tratada (Fig. 34-1). O exame microscópico de espécimes corados pela coloração de Gram é também útil para o diagnóstico rápido dos microrganismos em artrites e doença do trato respiratório inferior.

Detecção de Antígeno

A detecção imunológica de antígenos de *H. influenzae*, especificamente o antígeno capsular PRP, é um procedimento rápido e sensível para o diagnóstico de doenças por *H. influenzae* do sorotipo b. O PRP pode ser detectado com o teste de aglutinação de partículas, que pode detectar menos do que 1ng/mL de PRP em um espécime clínico. Nesse teste, as partículas de látex cobertas com anticorpos são misturadas com o espécime clínico. A aglutinação ocorre se o PRP estiver presente. O antígeno pode ser detectado em LCR e urina (nos quais o antígeno é eliminado intacto). Por outro lado, esse teste tem limitações devido à possibilidade de detectar unicamente *H. influenzae* do tipo b, que é atualmente pouco comum nos Estados Unidos e em outros países com o programa de vacinação estabelecido. Outros sorotipos capsulares e cepas não capsuladas não apresentam reações positivas nesse teste.

Cultura

É relativamente fácil o isolamento de *H. influenzae* a partir de espécimes clínicos inoculados em meios de cultura suplementados com fatores de crescimento adequados. Agar chocolate e agar Levinthal são utilizados na maioria dos laboratórios. Porém, se o agar chocolate for superaquecido durante o preparo, o fator V é destruído e as espécies de *Haemophilus* que requerem esse fator para o crescimento (p. ex., *H. influenzae, H. aegyptius, H. parainfluenzae*) não sobreviverão. As bactérias aparecem como colônias lisas, opacas de 1 a 2mm após 24h de incubação. Elas podem ser detectadas através do crescimento ao redor de colônias de *Staphylococcus aureus* em agar sangue não aquecido (**fenômeno de satelitismo**, Fig. 34-3). Os estafilococos proporcionam acesso aos fatores de crescimento através da lise dos eritrócitos no meio de cultura e a liberação do heme intracelular (fator X) e excreção de NAD (fator V). As colônias de *H. influenzae* nessas culturas são muito menores do que quando cultivadas em agar chocolate, pois os inibidores do fator V presentes no sangue não são inativados.

Figura 34-3 Fenômeno de satelitismo. *Staphylococcus aureus* excreta adenina nicotinamida dinucleotídeo (NAD, ou fator V) no meio de cultura, proporcionando o fator de crescimento necessário para *H. influenzae*.

O crescimento de *Haemophilus* em hemocultura é geralmente lento devido ao fato de a maioria dos caldos comerciais de hemocultura não serem suplementados com concentrações ótimas dos fatores X e V e com inibidores do fator V. Além disso, os fatores de crescimento são liberados somente quando há lise das células sanguíneas. Isolados de *H. influenzae* frequentemente crescem melhor em hemoculturas incubadas em anaerobiose, pois, sob essas condições, os microrganismos não requerem o fator X para crescimento.

H. aegyptius e *H. ducreyi* são fastidiosos e requerem condições especiais de crescimento. *H. aegyptius* crescem melhor em agar chocolate suplementado com 1% de IsoVitaleX (mistura de suplementos quimicamente definidos), com crescimento detectado após incubação em atmosfera contendo dióxido de carbono por 2 a 4 dias. A cultura de *H. ducreyi* é relativamente pouco sensível (menos que 85% das culturas isolam microrganismos sob condições ótimas), mas é melhor em agar para gonococo (GC) suplementado com 1% a 2% de hemoglobina, 5% de soro fetal bovino, enriquecimento IsoVitaleX e vancomicina (3µg/mL). As culturas devem ser incubadas a 33°C em ambiente contendo 5% a 10% de dióxido de carbono por 7 dias ou mais. Devido a não utilização destes meios de cultura e condições de incubação para culturas bacterianas de rotina, o sucesso na recuperação de *H. ducreyi* requer que o microbiologista investigue especificamente esse microrganismo.

Identificação

A identificação presuntiva de *H. influenzae* pode ser realizada pela morfologia na coloração de Gram e demonstração de exigências nutricionais para os fatores X e V. A divisão posterior d e *H. influenzae* pode ser realizada por biotipagem, caracterização eletroforética, caracterização de antígenos proteicos de membrana e análise das sequências de ácidos nucleicos cepa-específicas. Testes bioquímicos ou a análise de ácidos nucleicos são usados para a identificação de outras espécies do gênero.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com infecções sistêmicas por *H. influenzae* requerem a administração precoce de terapia antimicrobiana, pois a taxa de mortalidade em pacientes com meningite ou epiglotite e não tratados é de aproximadamente 100%. Infecções graves são tratadas com **cefalosporinas de amplo espectro**. Infecções menos graves como sinusites e otites podem ser tratadas com ampicilina (se houver suscetibilidade, pois aproximadamente 30% das cepas são resistentes), uma cefalosporina ativa, azitromicina ou uma fluoroquinolona. A maioria dos isolados de *H. ducreyi* são suscetíveis à **eritromicina**, o fármaco recomendado para o tratamento.

O procedimento primário para a prevenção de doença por *H. influenzae* do tipo b é a imunização ativa com PRP capsular purificado. Como discutido previamente, o uso de vacinas conjugadas tem sido consideravelmente bem-sucedido na redução da incidência da doença e colonização por *H. influenzae* do tipo b. Atualmente é recomendado que crianças recebam três doses de vacina contra *H. influenzae* do tipo b antes dos 6 meses de idade, seguidas por doses de reforço.

A quimioprofilaxia com antibiótico é utilizada para a eliminação do estado de portador de *H. influenzae* do tipo b em crianças com alto risco para a doença (p. ex., crianças com idade inferior a 2 anos em uma família ou unidade de saúde onde a doença sistêmica foi documentada). A profilaxia com rifampicina tem sido utilizada nesses casos.

Actinobacillus

As espécies de *Actinobacillus* são bastonetes Gram negativos pequenos, anaeróbios facultativos, que crescem lentamente (geralmente necessitando de 2 a 3 dias de incubação). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* era considerado o pátogeno humano mais importante do gênero, porém, em 2006, essa espécie, juntamente com *Haemophilus aphrophilus* foram transferidas para um novo gênero, *Aggregatibacter*. Os membros remanescentes do gênero *Actinobacillus* colonizam a orofaringe de seres humanos e animais e são agentes etiológicos de periodontite, endocardite, infecções de feridas de mordida, e infecções oportunistas (Tab. 34-2).

Tabela 34-2 Espécies de *Actinobacillus* Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doenças Primárias	Frequência
A. equuli	Infecções de ferida de mordida	Rara
A. hominis	Infecções oportunistas (bacteremia, pneumonia)	Rara
A. lignieresii	Infecções de ferida de mordida	Rara
A. ureae	Infecções oportunistas (bacteremia, meningite, pneumonia)	Rara

Aggregatibacter (Caso Clínico 34-2)

Dois membros desse gênero são importantes patógenos humanos: ***A. actinomycetemcomitans*** e ***A. aphrophilus*** (Tab. 34-3). Ambas as espécies colonizam a cavidade oral de seres humanos e podem se disseminar da cavidade oral para o sangue e aderir a válvulas cardíacas previamente danificadas ou válvulas artificiais, levando ao desenvolvimento de endocardite. A **endocardite** causada por esses microrganismos é particularmente difícil de diagnosticar, pois os sinais clínicos e sintomas se desenvolvem lentamente (endocardite subaguda), e as bactérias crescem lentamente em hemoculturas. Ambas as espécies formam colônias aderentes que podem ser observadas na superfície do vidro de hemoculturas e em meios de cultura sólidos. O tratamento de escolha para endocardite causada por esses microrganismos é uma cefalosporina como a ceftriaxona.

Caso Clínico 34-2 Endocardite Causada por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Steitz et al. (Clin Infect Dis 27: 224-225, 1998) descreveram um caso de uma paciente com 54 anos de idade que foi admitida no hospital com histórico clínico de febre, sudorese noturna e fadiga. O exame físico revelou murmúrio sistólico tricúspide e esplenomegalia. A ecocardiografia revelou uma vegetação na válvula tricúspide. As hemoculturas coletadas na admissão foram positivas após 5 dias de incubação para *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*. Sua história clínica ficou incompleta porque não foi possível determinar o curso crônico da doença, mas este caso ilustra o crescimento lento do microrganismo em cultura de rotina.

Tabela 34-3 Espécies de *Aggregatibacter* Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doenças Primárias	Frequência
A. actinomycetemcomitans	Periodontite, endocardite, infecções de feridas de mordida	Comum
A. aphrophilus	Endocardite, infecções oportunistas	Pouco frequente

Pasteurella (Caso Clínico 34-3)

Pasteurella são cocobacilos pequenos (Fig. 34-4), anaeróbios facultativos, fermentadores, comumente encontrados como comensais na orofaringe de animais saudáveis. A maioria das infecções humanas resulta do contato com animais (p. ex., mordida de animais, arranhaduras e alimento compartilhado). ***Pasteurella multocida*** (a espécie mais comumente isolada) e ***Pasteurella canis*** são patógenos humanos; as outras espécies de *Pasteurella* são raramente associadas com infecções humanas (Tab. 34-4). Três formas gerais de doença são observadas: (1) **Celulite** localizada e **linfadenite** que podem ocorrer após mordida ou arranhadura de animal (*P. multocida* a partir do contato com gatos e cães; *P. canis* proveniente de cães); (2) uma exacerbação da **doença respiratória** em pacientes com disfunção pulmonar preexistente (supostamente associada com a colonização da orofaringe de pacientes seguida de aspiração de secreções orais); e (3) **infecção sistêmica em pacientes imunocomprometidos**, particularmente aqueles com doença hepática preexistente.

Caso Clínico 34-3 Infecção Letal por *Pasteurella multocida*

Chang et al. (Scan J Infect Dis 39: 167-192, 2007) descreveram um caso fatal de bacteremia e fasciíte necrotizante por *P. multocida*. Um paciente de 58 anos de idade apresentava uma história clínica de insuficiência renal crônica, atrite gotosa e síndrome de Cushing tratada com esteroides. Na admissão hospitalar, a sua mão esquerda estava hiperemiada, quente e edemaciada com máculas vermelhas a púrpuras na superfície. Por um período de dois dias, o quadro evoluiu e se estendeu rapidamente para o braço esquerdo, perna esquerda e pé direito. Nesse momento o paciente começou a exibir sinais sistêmicos de choque e sangramento gastrintestinal. As hemoculturas coletadas no período de admissão foram positivas para *P. multocida*. Apesar do tratamento antimicrobiano e cirúrgico agressivos, as lesões progrediram rapidamente e o paciente faleceu. A história clínica detalhada obtida na admissão revelou que o paciente permitia que o cão lambesse as feridas abertas. É provável que essa tenha sido a fonte da bactéria e o tratamento com esteroides tenha predisposto o paciente à invasão dos microrganismos a partir da ferida e à disseminação rápida para os tecidos.

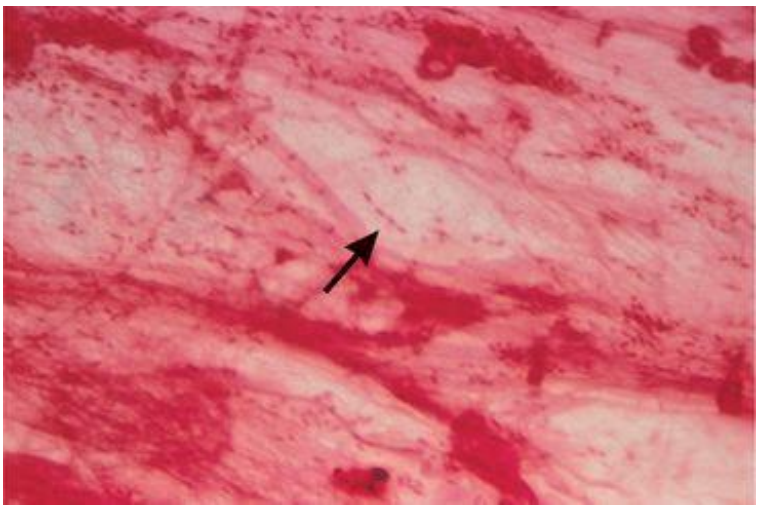


Figura 34-4 *Pasteurella multocida* em espécime respiratório de paciente com pneumonia.

Tabela 34-4 Espécies de *Pasteurella* Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doença Primária	Frequência
P. multocida	Infecções de ferida de mordida, doença pulmonar crônica, bacteremia, meningite	Comum
P. canis	Infecções de ferida de mordida	Pouco frequente
P. bettyae	Infecções oportunistas (abscessos, infecções de ferida de mordida, infecções urogenitais, bacteremia)	Raro
P. dagmatis	Infecções de ferida de mordida	Raro
P. stomatis	Infecções de ferida de mordida	Raro

P. multocida cresce bem em agar sangue e chocolate, mas pobremente em agar MacConkey e outros meios de cultura tipicamente seletivos para bastonetes Gram negativos. Após a incubação "overnight" em agar sangue, colônias grandes, mucoides com odor característico de mofo causado pela produção de indol, serão observadas. *P. multocida* é suscetível a uma ampla variedade de antibióticos. A **penicilina** é o antibiótico de escolha, e as cefalosporinas de amplo espectro, macrolídeos, tetraciclinas ou fluoroquinolonas são alternativas aceitáveis. As penicilinas semissintéticas (p. ex., oxacilina), as cefalosporinas de primeira geração e aminoglicosídeos apresentam pouca atividade.

Estudo de Caso e Questões

Um paciente de 78 anos de idade internado em casa de saúde acordou com forte cefaleia e rigidez de nuca. Como o paciente apresentava febre alta e sinais de meningite, a enfermeira responsável o encaminhou para o departamento de emergência local. O LCR estava opaco. A análise laboratorial revelou 400 leucócitos por mm^3 (95% de neutrófilos polimorfonucleares), uma concentração proteica de 75mg/dL, e concentração de glicose de 20mg/dL. Bastonetes Gram negativos pequenos foram observados na coloração de Gram do LCR, e culturas do LCR e hemoculturas foram positivas para *Haemophilus influenzae*.

1. Discuta a epidemiologia da meningite por *H. influenzae* e compare com a epidemiologia causada por *Streptococcus pneumoniae* e por *Neisseria meningitidis*.

1. Meningite causada por *Haemophilus influenzae* é relativamente infrequente desde a introdução da vacina contra *H. influenzae* tipo B. A doença ainda é observada em crianças não vacinadas e menos frequentemente em pacientes idosos com imunidade diminuída. Mais comumente doenças por *H. influenzae* são causadas por cepas não tipáveis que colonizam a orofaringe e são capazes de invadir o sistema nervoso central após trauma (p. ex., ferimento na cabeça após acidente de carro). Meningites por *S. pneumoniae* e *N. meningitidis* são mais frequentes em pacientes muito jovens ou idosos, embora a doença seja descrita em todas as faixas etárias. Diferentemente do *H. influenzae*, a vacinação pouca eficácia no controle destas infecções.

2. Compare a biologia da cepa de *H. influenzae* mais provavelmente associada à etiologia da doença nesse paciente com as cepas que são historicamente a causa de doença pediátrica (antes da era vacinal).

2. Este caso de *H. influenzae* provavelmente é causado por uma cepa não tipável, em contraste com *H. influenzae* tipo B que causava doença pediátrica antes da vacinação.

3. Que outras doenças podem ser causadas por esse microrganismo? Que outras espécies de *Haemophilus* causam doenças e quais são elas?

3. Cepas não tipáveis de *H. influenzae* são comumente associadas com sinusite, otite e doença broncopulmonar. As duas primeiras são observadas em indivíduos previamente saudáveis, enquanto a última é mais frequente em indivíduos com doença pulmonar crônica. Outras espécies de *Haemophilus* que têm sido associadas com doença clínica incluem *H. aegyptius* (conjuntivite, febre purpúrica brasileira), *H. ducreyi* (cancroide) e *H. aphrophilus* (endocardite).

4. Por que o agar chocolate é necessário para o isolamento dos microrganismos do gênero *Haemophilus*?

4.*H. influenzae* requer NAD (fator V) e heme (fator X). Embora ambos estejam presentes no sangue dos meios de cultura, o agar sangue de carneiro (o agar sangue mais comumente usado) deve ser aquecido para destruir os inibidores do fator V. Este agar aquecido (agar chocolate) é usado para crescimento do *H. influenzae*. Algumas espécies de *Haemophilus* (p. ex., *H. ducreyi, H. aphrophilus*) não necessitam fator V e crescem em agar sangue.

5. Quais são as doenças causadas por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*? Qual é a fonte desse microrganismo?

5.*Actinobacillus actinomycetemcomitans* é um importante patógeno responsável por periodontite e menos comumente por endocardite bacteriana subaguda. Este organismo é um habitante normal da orofaringe humana.

6. Que doenças são causadas por *Pasteurella multocida*? Qual é a fonte desse microrganismo?

6.*Pasteurella multocida* é associada à mordida de animal, exacerbação de doenças pulmonares crônicas e infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos (especialmente pacientes com doença hepática). Este organismo faz parte da microbiota oral de cães e gatos.

Bibliografia

Chen HI, Hulten K, Clarridge JE. Taxonomic subgroups of Pasteurella multocida correlate with clinical presentation. *J Clin Microbiol*. 2002;40:3438-3441.

Dworkin M, Park L, Borchardt S. The changing epidemiology of invasive Haemophilus influenzae disease, especially in persons. 65 years old. *Clin Infect Dis*. 2007;44:810-

816.
Holst E, et al. Characterization and distribution of Pasteurella species recovered from infected humans. *J Clin Microbiol*. 1992;30:2984-2987.
Norskov-Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Haemophilus aphrophilus, Haemophilus paraphrophilus and Haemophilus segnis as Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Aggregatibacter aphrophilus, and Aggregatibacter segnis, and emended description of Aggregatibacter aphrophilus to include V factor-dependent and V factorindependent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2006;56:2135-2146.
Peltola H. Worldwide Haemophilus influenzae type b disease at the beginning of the 21st century: Global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:302-317.
Talan D, et al. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. *N Engl J Med*. 1999;340:85-92.
Trees D, Morse S. Chancroid and Haemophilus ducreyi: An update. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8:357-375.
Tristram S, Jacobs M, Appelbaum P. Antimicrobial resistance in Haemophilus influenzae. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:368-389.
Tsang R, et al. Characterization of invasive Haemophilus influenzae disease in Manitoba, Canada, 2000–2006: Invasive disease due to non-Type B strains. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1611-1614.

35 Bordetella

O gênero Bordetella consiste em **cocobacilos Gram negativos** extremamente **pequenos** (0,2 a 0,5 × 1µm) e **aeróbios estritos**. São atualmente reconhecidas oito espécies, com quatro espécies responsáveis por doenças humanas (Quadro 35-1) : ***Bordetella pertussis*** (Quadro 35-2), o agente responsável pela coqueluche; ***Bordetella parapertussis***, responsável por uma forma branda de coqueluche; ***Bordetella bronchiseptica***, responsável por doenças respiratórias em cães, suínos, animais de laboratórios e eventualmente doença respiratória em seres humanos; e ***Bordetella holmesii***, um agente raro de sepse.

Quadro 35-1 Espécies de *Bordetella* Associados com Doenças em Seres Humanos

Microrganismo	Derivação Histórica
Bordetella	Denominada devido a Jules *Bordet*, quem isolou primeiramente o microrganismo responsável pela coqueluche
B. pertussis	*per*, muito ou “grave”; *tussis*, “tosse” (uma tosse grave)
B. parapertussis	*para*, “semelhante” (semelhante a coqueluche)
B. bronchiseptica	*bronchus*, a traqueia; *septicus*, séptico (brônquio infectado)
B. holmesii	Denominada devido ao microbiologista Barry *Holmes*

Quadro 35-2 Resumo: *Bordetella pertussis*

Biologia, Virulência e Doença

Cocobacilos Gram negativos, extremamente pequenos

Não fermentador mas pode oxidar aminoácidos como fonte de energia
Aeróbio estrito
Crescimento *in vitro* requer incubação prolongada em meio de cultura suplementado com carvão, amido, sangue ou albumina.
Vários fatores de virulência responsáveis pela aderência a células eucarióticas e destruição tecidual localizada (Tab. 35-1)
A coqueluche é caracterizada por três estágios: catarral, paroxístico e convalescente
A maioria das doenças graves é em indivíduos não vacinados

Epidemiologia

Reservatório e hospedeiro humano

Distribuição mundial

Crianças com idade inferior a 1 ano apresentam maior risco de infecção, mas a doença atualmente é mais comum em jovens e adultos

Indivíduos não vacinados apresentam maior risco para a doença

Disseminação da doença pessoa a pessoa por aerossóis infecciosos

Diagnóstico

Microscopia com baixa sensibilidade e especificidade

- Cultura é específica mas não sensível
- Testes de amplificação de ácido nucleico apresentam maior sensibilidade e especificidade
- Deteção de IgG ou IgA pode ser usada como teste confirmatório

Tratamento, Prevenção e Controle

Tratamento com macrolídeo (*i.e.*, eritromicina, azitromicina, claritromicina) é efetivo na erradicação do microrganismo e reduz a duração do estágio infeccioso

Eritromicina tem sido utilizada para profilaxia, mas a efetividade é desconhecida

Vacinas contendo a toxina pertussis inativada, hemaglutinina filamentosa e pertactina são altamente eficazes

Vacina pediátrica administrada em cinco doses (aos 2 meses, 4 meses, 6 meses e 15 a 18 meses de idade, e entre 4 e 6 anos de idade); vacina em adultos administrada com idade entre 11 e 12 anos e novamente entre 19 e 65 anos

Tabela 35-1 Fatores de Virulência Associados com *Bordetella pertussis*

Fator de Virulência	Efeito Biológico
Adesinas	
Hemaglutinina Filamentosa	Necessária para adesão a glicoproteínas sulfatadas na membrana de células ciliadas na traqueia; altamente imunogênica
Pertactina	Semelhante à hemaglutinina filamentosa
Toxina pertussis	Subunidade S2 se liga ao glicolipídeo na superfície das células respiratórias ciliadas; subunidade S3 se liga ao gangliosídeo na superfície de células fagocíticas
Fímbria	Ligação a células de mamíferos; o papel na doença é desconhecido mas estimula a imunidade humoral
Toxinas	
	Subunidade S1 inativa $G_{1\alpha}$, a proteína de superfície da membrana que

Toxina pertussis	controla a atividade da adenil ciclase; a expressão não controlada leva ao aumento dos níveis do AMPc; a toxina inibe a morte por fagócitos e a migração de monócitos
Toxina adenil ciclase/hemolisina	Eleva os níveis intracelulares de adenil ciclase; inibe a morte por fagócitos e a migração de monócitos
Toxina dermonecrótica	Associada a lesões de pele dose-dependente ou reações fatais em modelos experimentais com animais; o papel na doença é desconhecido
Citotoxina traqueal	Fragmento de peptideoglicano que destroi células respiratórias ciliadas e estimula a liberação de interleucina-1 (febre)
Lipopolissacarídeo	Duas moléculas de lipopolissacarídeos distintas, com lipídio A ou lipídio X; ativam a via alternativa do complemento e estimulam a liberação de citocinas; o papel na doença é desconhecido.

AMPc, adenosina monofosfato cíclica.

Bordetella pertussis

Fisiologia e Estrutura

As espécies do gênero *Bordetella* são diferenciadas com base em suas características de crescimento, reatividade bioquímica, e propriedades antigênicas. Apesar de diferenças fenotípicas, estudos genéticos têm demonstrado que as quatro espécies patogênicas para os seres humanos são intimamente relacionadas ou idênticas, diferindo somente quanto a expressão de genes de virulência. Até o presente, porém, as espécies não foram reclassificadas e devem ser consideradas como distintas.

As espécies de *Bordetella* apresentam exigências nutricionais simples, mas algumas espécies são altamente **suscetíveis a substâncias e metabólitos tóxicos** em meios de cultura comuns de laboratório. Essas espécies (particularmente *B. pertussis*) necessitam de meios de cultura suplementados com carvão, amido, sangue ou albumina para a absorção dessas substâncias tóxicas. As espécies mais fastidiosas também crescem lentamente em cultura. Esses microrganismos são imóveis e oxidam aminoácidos, mas não fermentam carboidratos.

Patogênese e Imunidade

A infecção com *B. pertussis* e o desenvolvimento da coqueluche requerem a exposição ao microrganismo, adesão bacteriana às células epiteliais ciliadas do trato respiratório, profileração bacteriana, produção de dano tecidual localizado e toxicidade sistêmica. A adesão dos microrganismos às células epiteliais ciliadas é mediada por adesão proteica (Tab. 35-1). A **pertactina** e a **hemaglutinina filamentosa** contêm uma sequência Arg-Gli-Asp (motivo RGD) que promove ligação a integrinas glicoproteícas sulfatadas na membrana de células respiratórias ciliadas. Essas adesinas também se ligam ao CR3, um receptor glicoproteico na superfície de macrófagos. Essa interação inicia a fagocitose da bactéria sem indução do metabolismo oxidativo, o que é significativo para a sobrevivência intracelular e replicação da bactéria. Esse aspecto também protege *B. pertussis* de anticorpos séricos. Proteínas similares são também encontradas em *B. parapertussis* e *B. bronchiseptica*. A **toxina pertussis** é uma toxina A-B clássica constituída de uma subunidade tóxica (S1) e cinco subunidades ligantes (S2 a S5; duas subunidades S4 estão presentes em cada molécula de toxina). A subunidade S2 se liga à lactosilceramida, um glicolipídeo presente nas células respiratórias ciliadas. A subunidade S3 se liga a receptores em células fagocíticas, levando a um aumento do CR3 na superfície celular, o que facilita a adesão mediada pela pertactina e hemaglutinina filamentosa e subsequente fagocitose bacteriana. Outra adesina, a **fímbria**, tem sido identificada em *B. pertussis* e demonstrada como mediadora da ligação a células de mamíferos em cultura. O papel das fímbrias na adesão a células ciliadas *in vivo* é desconhecido; entretanto, a fímbria e outras adesinas de *B. pertussis* estimulam a imunidade humoral e são incorporadas em vacinas acelulares.

B. pertussis produz várias toxinas que atuam como mediadoras das manifestações localizadas e sistêmicas da doença. A porção S1 da **toxina pertussis** apresenta atividade de ribosilação de adenosina difosfato (ADP) para as proteínas G da superfície de membranas (proteínas regulatórias ligantes do nucleotídeo guanina). Essas proteínas regulam a atividade da adenilciclase. A toxina pertussis inativa a proteína inibitória $G_i\alpha$, que controla a atividade da adenilciclase. A expressão não controlada da enzima resulta em um aumento dos níveis de adenosina monofostato cíclica (AMPc) e um subsequente aumento das secreções respiratórias e produção de muco, característicos do estágio paroxístico da coqueluche.

Adenil ciclase/hemolisina é uma toxina bifuncional que é ativada no interior da célula-alvo de mamíferos por calmodulina intracelular e catalisa a conversão de adenosina trifosfato endógena (ATP) para AMPc em células eucarióticas (semelhante a ação da toxina pertussis). A toxina adenilciclase também inibe a quimiotaxia leucocitária, fagocitose e morte. Essa toxina pode estar associada à proteção da bactéria durante os primeiros estágios da doença.

Toxina dermonecrótica é uma toxina termolábil que em doses baixas causa vasoconstrição das veias periféricas em camundongos, acompanhado de isquemia localizada, migração de leucócitos para espaços extravasculares e hemorragia. Em altas doses, essa toxina causa reações letais em camundongos. É provavél que a toxina seja responsável pela destruição tecidual localizada nas infecções em seres humanos, embora estudos adicionais sejam necessários para comprovar essa teoria.

Citotoxina traqueal é um monômero de baixo peso molecular do peptideoglicano da parede celular que tem afinidade específica por células epiteliais ciliadas. Em baixas concentrações, esse composto causa cilioestase (inibição do movimento ciliar), e em maiores concentrações, obtidas tardiamente no processo infeccioso, causa extrusão em células ciliadas. A citotoxina traqueal interfere especificamente com a síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA), consequentemente impedindo a regeneração das células danificadas. Esse processo leva à disfunção dos mecanismos normais de limpeza da árvore respiratória e leva à tosse característica associada com a coqueluche. A toxina também estimula a liberação de interleucina-1 (IL-1), a qual induz a febre.

B. pertussis produz dois **lipopolissacarídeos**, um com lipídio A e o outro com lipídio X. Ambas as moléculas lipopolissacarídicas podem ativar a via alternativa do sistema complemento e estimular a liberação de citocinas. Seus papéis no processo de doença são

desconhecidos.

Epidemiologia

Coqueluche é uma **doença humana** sem nenhum outro reservatório animal ou ambiental reconhecido. Embora a incidência da coqueluche, a qual é associada com morbidade e mortalidade, tenha sido reduzida consideravelmente após a introdução de vacinas em 1949, a doença ainda é endêmica no mundo, com uma estimativa de 20 a 40 milhões de infecções e 200.000 a 400.000 mortes por ano, principalmente em crianças não vacinadas. A incidência de doença notificada nos Estados Unidos tem se **elevado significativamente nos últimos anos**, com mais de 25 mil casos notificados em 2005 (Fig. 35-1); embora esses índices certamente sejam subestimados em relação à verdadeira incidência da doença. Estima-se que mais de 3 milhões de novos casos de coqueluche ocorra a cada ano nos Estados Unidos. Historicamente, a coqueluche foi considerada uma doença pediátrica, porém atualmente a maioria das infecções são encontradas em **adolescentes e adultos** (Fig. 35-2). Não existe uma hipótese satisfatória para justificar esse aumento dos índices da doença e a mudança da categoria dos indivíduos acometidos para populações mais velhas, embora o reconhecimento de formas mais suaves da doença em crianças maiores e em adultos, e o aprimoramento de testes diagnósticos, certamente tenham contribuído para o aumento da notificação da doença.

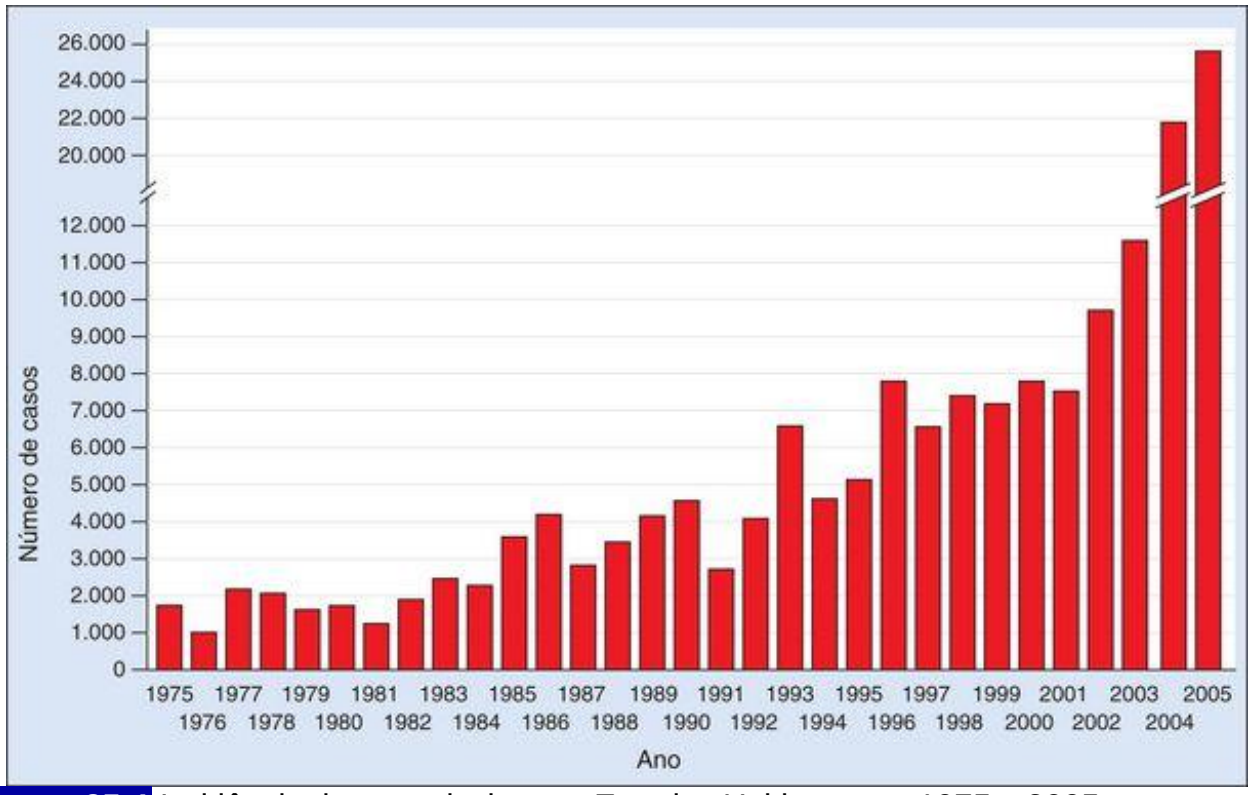


Figura 35-1 Incidência da coqueluche nos Estados Unidos entre 1975 e 2005.

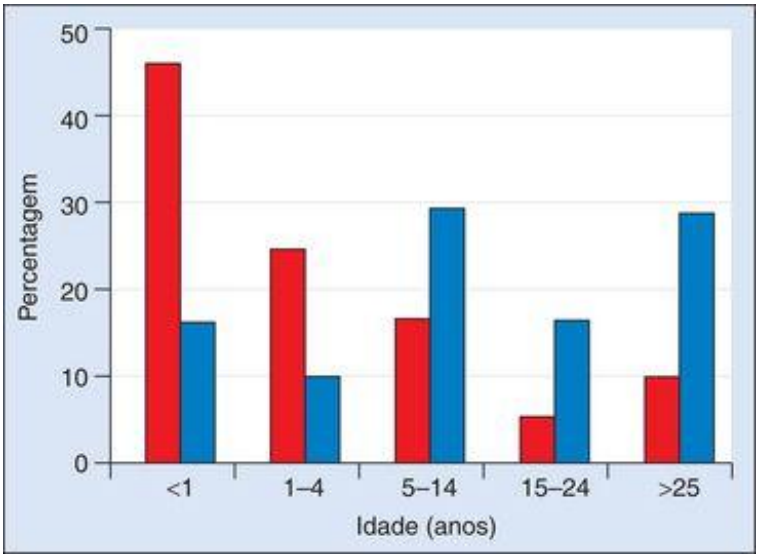


Figura 35-2 Distribuição por faixa etária da coqueluche em 1988 *(colunas vermelhas)* e 2005 *(colunas azuis)*.

Doenças Clínicas (Quadro 35-3; Caso Clínico 35-1)

A infecção é iniciada quando aerossóis infecciosos são inalados, e a bactéria se adere e prolifera nas células epiteliais ciliadas. Após o período de incubação de 7 a 10 dias, a apresentação clássica da coqueluche ocorre através de três estágios (Fig. 35-3). O primeiro estágio, o **estágio catarral**, é similar ao resfriado comum, com rinorreia serosa, mal-estar, anorexia e febre baixa. Devido ao grande número de bactérias geradas durante esse estágio, e da causa da doença ainda não ter sido reconhecida, pacientes no estágio catarral consistem no maior risco para seus contatos. Após 1 a 2 semanas, o **estágio paroxístico** se inicia. Durante esse período, as células epiteliais ciliadas do trato respiratório sofrem extrusão, e a remoção do muco é prejudicada. Esse estágio se caracteriza pela **tosse paroxística clássica da coqueluche** (*i.e.*, uma série de tosses repetidas seguidas por um ruído inspiratório). A produção de muco no trato respiratório é comum e parcialmente responsável pela barreira aérea. Os paroxismos são frequentemente interrompidos por vômitos e exaustão. Linfocitose marcante também se salienta durante esse estágio. Os pacientes afetados podem apresentar de 40 a 50 paroxismos por dia durante toda a extensão da doença. Após 2 a 4 semanas, a doença entra no **estágio convalescente**; nesse momento o paroxismo diminui em número e gravidade, mas complicações secundárias podem ocorrer. Atualmente se sabe que a apresentação clássica da coqueluche pode não ser observada em pacientes com imunidade parcial. Esses pacientes podem ter história de tosse persistente crônica sem ruídos ou vômitos. Devido a essa apresentação não ser específica da doença, testes diagnósticos apropriados devem ser realizados para *Bordetella*, assim como para outros patógenos bacterianos respiratórios (p. ex., *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, Legionella pneumophila*).

Quadro 35-3 Espécies de *Bordetella*: Resumos Clínicos

Bordetella pertussis

Após o período de incubação de 7 a 10 dias, a doença é caracterizada pelo **estágio catarral** (semelhante ao resfriado comum), progredindo para o **estágio paroxístico** (tosses repetidas seguidas por ruídos inspiratórios), e então para o **estágio convalescente** (redução do paroxismo e complicações secundárias)

Bordetella parapertussis

Produz uma forma suave da coqueluche

Bordetella bronchiseptica

Principalmente associada à doença respiratória em animais, mas pode causar broncopneumonia em seres humanos

Bordetella holmesii

Causa pouco comum de sepse

Caso Clínico 35-1 Surto de Coqueluche em Profissionas de Saúde

Pascual et al. (Infect Control Hosp Epidemiol 27:546-552, 2006) descreveram um surto de coqueluche entre profissionais de saúde. O caso índice, uma enfermeira anestesista, apresentou quadro agudo com tosse, paroxismo seguido de vômito, e episódios de apneia que levaram à perda de consciência. Os profissinais do serviço de cirurgia, pacientes expostos e familiares foram investigados com cultura, testes de PCR e sorologia nos pacientes com sintomas respiratórios. Doze (23%) dos profissionais de saúde e 0 dos 146 pacientes apresentaram coqueluche clínica. A ausência da doença nos pacientes foi atribuída ao uso de máscara, rótulos indicativos de tosse, e contato face a face limitado. Esse surto enfatiza a suscetibilidade de adultos para a infecção e a natureza altamente infecciosa de *B. pertussis*.

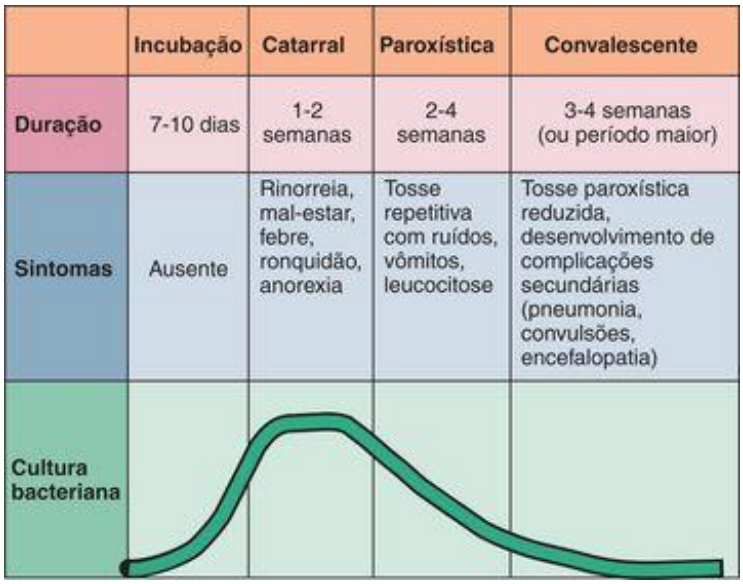


Figura 35-3 Apresentação clínica da doença por *Bordetella pertussis*.

Diagnóstico Laboratorial

Coleta e Transporte do Espécime Clínico

B. pertussis é extremamente sensível à dessecação e não sobrevive a menos que sejam tomados cuidados durante a coleta e transporte do espécime para o laboratório. O espécime ótimo para diagnóstico é o aspirado nasofaríngeo. *Swabs* contendo alginato de cálcio ou fibra Dacron podem ser usados, pois *swabs* comuns de algodão possuem ácidos graxos tóxicos para *B. pertussis*. *Swabs* de orofaringe não devem ser utilizados pois não coleta um número suficiente de células epiteliais ciliadas. O espécime deve ser inoculado na beira do leito do paciente em meio de cultura recentemente preparado (p. ex., agar Regan-Lowe). Se essa inoculação não for possível, o espécime deve ser coletado em meio de transporte adequado (p. ex., meio de transporte Regan-Lowe) e imediatamente enviado para o laboratório.

Microscopia

O método de fluorescência direta utilizando anticorpos monoclonais ou policlonais pode ser utilizado para o exame de espécimes. Nesse método, o material aspirado é distendido em uma lâmina de microscopia, seco e fixado pelo calor, e então submetido à coloração com anticorpos contra *B. pertussis*. marcados com fluoresceína. Anticorpos contra *B. parapertussis* também devem ser utilizados para detectar formas leves de coqueluche causadas por esse microrganismo. Os resultados do teste de fluorescência direta são positivos em aproximadamente metade dos pacientes com coqueluche, mas resultados falso-positivos podem ocorrer como resultado de reações cruzadas com outras bactérias. Devido aos problemas de sensibilidade e especificidade deste teste, PCR e/ou cultura também devem ser realizados.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Métodos de amplificação de ácidos nucleicos como a reação da polimerase em cadeia (PCR) consistem nos testes diagnósticos mais sensíveis disponíveis para coqueluche. Esses métodos têm substituído a microscopia e cultura na maioria dos laboratórios que realizam diagnóstico da doença. Atualmente nenhum teste aprovado pelo FDA está disponível comercialmente, de forma que vários laboratórios têm desenvolvido ensaios moleculares próprios utilizando uma variedade de genes como alvos. Por essa razão, as características de desempenho dos ensaios (p. ex., sensibilidade e especificidade) não são bem definidas, mas parecem ser superiores à microscopia e cultura.

Cultura

No momento, a cultura geralmente é realizada por laboratórios que não realizam os testes baseados em ácidos nucleicos ou em conjunção com esses testes. A sensibilidade da cultura é afetada por fatores do paciente (*i.e.*, estágio da doença, uso de antibióticos), a qualidade do espécime, condições de transporte e métodos de cultura. O uso tradicional do meio de cultura **Bordet-Gengou** tem sido substituído pelo **meio de agar carvão Regan-Lowe**, suplementado com glicerol, peptona e sangue de cavalo. O meio deve ser incubado a 35°C em aerobiose e em câmara úmida. A **incubação prolongada** (p. ex., 7 a 12 dias) é necessária. Já

que a qualidade do meio de cultura influencia significativamente o sucesso da cultura, os laboratórios que raramente realizam o cultivo de espécimes clínicos para *Bordetella* devem solicitar que os laboratórios estaduais de saúde processem esses materiais. Apesar do uso de condições ideais de cultura, menos de metade dos pacientes infectados apresenta culturas positivas.

Identificação

B. pertussis é identificada por suas características microscópicas e morfologia colonial em meios de cultura seletivos e sua reatividade com antissoros específicos (através de reação de aglutinação ou com reagentes utilizados no teste de fluorescência direta). Reações fenotípicas (p. ex., testes bioquímicos) podem ser utilizados para diferenciar as espécies de *Bordetella*.

Detecção de Anticorpos

Os resultados dos testes sorológicos são de difícil interpretação pois a microscopia e as técnicas de cultura com os quais esses testes têm sido comparados e avaliados são padrões relativamente pouco sensíveis. Testes imunoenzimáticos (ELISA) têm sido desenvolvidos para a detecção de anticorpos IgA, IgM e IgG contra a toxina pertussis, hemaglutinina filamentosa, pertactina e fímbria. Anticorpos contra a toxina pertussis são específicos para *B. pertussis*, entretanto, anticorpos para os outros antígenos podem ocorrer em infecções causadas por outras espécies de *Bordetella* e outras bactérias.

Tratamento, Prevenção e Controle

O **tratamento para coqueluche é essencialmente de suporte**, com supervisão da enfermagem durante os estágios paroxísticos e de convalescença da doença. Os anticorpos podem melhorar o curso clínico da doença, mas a recuperação depende principalmente da rapidez e grau de regeneração das camadas de células epiteliais cliliadas. Os **macrolídeos** (*i.e.*, eritromicina, azitromicina, claritromicina) são efetivos na erradicação dos microrganismos e podem reduzir a duração da infectividade; embora esse efeito apresente valor limitado devido à não detecção da doença durante o estágio de maior contágio. Cepas resistentes à eritromicina têm sido observadas mas não estão disseminadas. Trimetoprim-sulfametoxazol ou fluoroquinolonas podem ser utilizadas em pacientes não tolerantes aos macrolídeos. O uso de imunoglobulinas antipertussis pode reduzir a gravidade da doença em crianças, mas não foram realizados ensaios clínicos.

Na prática nos Estados Unidos, as vacinas celulares inativadas para coqueluche têm sido associadas a níveis inaceitáveis de complicações e têm sido substituídas por vacinas acelulares. Duas **vacinas acelulares** (uma para crianças e uma para adultos), administradas em combinação com vacinas para tétano e difteria, são atualmente aprovadas nos Estados Unidos. Ambas contêm toxina pertussis, hemaglutinina filamentosa e pertactina inativadas. A vacina pediátrica é administrada em crianças de 2 meses, 4 meses, 6 meses e 15 a 18 meses, com a quinta dose aplicada entre os 4 a 6 anos de idade. As recomendações atuais para a vacina em adultos é a administração aos 11 ou 12 anos, e nova dose entre 19 e 65 anos de idade. Estudos para medir a imunidade humoral e celular para os antígenos pertussis demonstraram imunidade detectável em > 90% dos adolescentes receptores da vacina em períodos de mais de 5 anos após vacinação.

Como a coqueluche é altamente contagiosa em população suscetível, e como as infecções não reconhecidas nos membros da família de um paciente sintomático podem manter a doença em uma comunidade, a eritromicina tem sido utilizada para a profilaxia em situações especiais.

Outras Espécies de *Bordetella*

B. parapertussis é responsável por 10% a 20% dos casos de coqueluche leve que ocorrem anualmente nos Estados Unidos. *B. bronchiseptica* causa principalmente doença respiratória em animais mas tem sido associada com a colonização do trato respiratório e doença broncopulmonar. Pesquisadores do Centers for Disease Controls em Atlanta notificaram que *B. holmesii* está principalmente associada com sepse.

Estudo de Caso e Questões

Uma criança de 5 anos de idade foi trazida à clínica regional de Saúde Pública devido a uma tosse grave e intratável. Durante os 10 dias anteriores, ela apresentou um quadro de resfriado persistente com piora do quadro. O quadro de tosse se desenvolveu no dia anterior e apresentou-se tão forte que frequentemente era seguida por vômitos. A criança apresentou fadiga devido aos episódios de tosse. A contagem de células sanguíneas apresentou uma leucocitose marcante com predominância de linfócitos. O médico responsável suspeitou que a criança apresentava coqueluche.

1. Que testes laboratoriais podem ser realizados para confirmação do diagnóstico clínico sugerido pelo médico? Que espécimes devem ser coletados e como devem ser encaminhados ao laboratório?

1. Os testes usados para confirmar o diagnóstico clínico incluem microscopia, amplificação do ácido nucleico (PCR) e sorologia. O teste de maior sensibilidade e especificidade é o PCR, que é o teste de escolha. A microscopia tem valor limitado. A coloração de Gram não é útil, e não deve ser realizada, porque as bactérias (cocobacilos Gram negativos) são difíceis de detectar em espécimes clínicos. Teste de imunofluorescência direta (IFD) é útil, mas tem sensibilidade de 50% e tem sido relatada reação cruzada com outros organismos. A cultura é limitada pela qualidade do espécime coletado (melhor aspirado de nasofaringe) e do meio de cultura (deve ser usado meio de Regan-Lowe com carvão). Menos de metade dos pacientes com coqueluche tem a doença confirmada pela cultura positiva. A sorologia também tem valor limitado porque depende da observação do aumento de anticorpos, o que pode levar semanas a meses.

B. pertussis é extremamente sensível à dessecação. O melhor espécime para diagnóstico é o aspirado de nasofaringe, que deve ser inoculado imediatamente, ou colocado em meio de transporte e enviado rapidamente para o laboratório.

2. Que fatores de virulência são produzidos por *B. pertussis*, e quais são seus efeitos biológicos? Qual é a progressão natural e o prognóstico para essa doença? Como pode ser prevenida?

2. Pertactina (proteína P69) e hemaglutinina filamentosa promovem a ligação com as células do hospedeiro. Toxina pertussis (toxina A-B) produz um aumento nos níveis do AMPc com consequente produção de muco e aumento nas secreções respiratórias. Adenilatociclase/hemolisina inibe a quimiotaxia de leucócitos, fagocitose e morte bacteriana. Citotoxina traqueal em baixa concentração causa ciliostase e em alta concentração causa destruição das células ciliadas, com posterior rompimento dos mecanismos normais de limpeza do trato respiratório.

Após 7 a 10 dias de incubação a doença progride em três estágios. O estágio catarral se

assemelha a um resfriado comum. Após 1 a 2 semanas inicia o estágio paroxístico com acessos de tosse característicos (uma série de tosses repetitivas seguidas por ruído inspiratório). Após 2 a 4 semanas inicia o estágio de convalescença, no qual a tosse diminui mas ocorrem complicações secundárias. A doença é prevenida com vacinação dos indivíduos suscetíveis. A persistência da imunidade tem sido questionada e vacinação de reforço em adultos está sob consideração. Isso é dificultado pelo alto nível de complicações devido à vacina em indivíduos idosos.

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site ***www.StudentConsult.com*** e assista à animação com as funções da toxina pertussis.

Bibliografia

Carbonetti N, et al. Pertussis toxin plays an early role in respiratory tract colonization by Bordetella pertussis. *Infect Immun*. 2003;71:6358-6366.

Cassiday P, et al. Polymorphism in Bordetella pertussis pertactin and pertussis toxin virulence factors in the United States, 1935–1999. *J Infect Dis*. 2000;182:1402-1408.

Cherry J. Immunity to pertussis. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1278-1279.

Cherry J, Robbins J. Pertussis in adults: Epidemiology, signs, symptoms, and implications for vaccination. *Clin Infect Dis*. 28(Suppl 2), 1999.

Edelman K, et al. Immunity to pertussis 5 years after booster immunization during adolescence. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1271-1277.

Kirimanjeswara G, Mann P, Harvill E. Role of antibodies in immunity to Bordetella infections. *Infect Immun*. 2003;71:1719-1724.

Mattoo S, Cherry J. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to Bordetella pertussis and other Bordetella subspecies. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:326-382.

Preziosi M, Halloran M. Effects of pertussis vaccination on disease: Vaccine efficacy in reducing clinical severity. *Clin Infect Dis*. 2003;37:772-779.

Tilley P, et al. Detection of Bordetella pertussis in a clinical laboratory by culture, polymerase chain reaction, and direct fluorescent antibody staining: Accuracy and cost. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000;37:17-23.

Ward J, et al. Bordetella pertussis infections in vaccinated and unvaccinated adolescents and adults, as assessed in a national prospective randomized acellular pertussis vaccine trial (APERT). *Clin Infect Dis*. 2006;43:151-157.

Weyant R, et al. Bordetella holmesii sp. nov., a new gram-negative species associated with septicemia. *J Clin Microbiol*. 1995;33:1-7.

36 *Francisella* e *Brucella*

Francisella e *Brucella* são importantes **patógenos zoonóticos** que ocasionalmente causam doenças em seres humanos (Quadro 36-1). Esses microrganismos também ganharam notoriedade como agentes potenciais em bioterrorismo. Embora apresentem algumas propriedades em comum (p. ex., **cocobacilos muito pequenos**, fastidiosos e de crescimento lento, patógenos obrigatórios para o homem), não existe relação taxonômica entre eles. Na árvore filogenética da classificação bacteriana, as α-proteobactérias estão em um extremo e as γ-proteobactérias em outro. ***Brucella*** é membro do grupo das α-proteobactérias (com microrganismos como *Ricketssia, Ehrlichia, Bartonella* e outros gêneros), e ***Francisella*** é membro do grupo das γ-proteobactérias (com vários gêneros, incluindo *Legionella, Pasteurella* e *Pseudomonas*).

Quadro 36-1 Espécies importantes de *Brucella* e *Francisella*

Microrganismo	Etimologia
Brucella	Nome concedido em homenagem a Sir David *Bruce*; quem primeiramente reconheceu o microrganismo como causa da “febre ondulante”
B. abortus	*abortus*, aborto (esse microrganismo é responsável por aborto em animais infectados)

B. melitensis	*melitensis*, pertencendo à ilha de Malta (*Melita*), onde o primeiro surto foi descrito por Bruce
B. suis	*suis*, de “porco” (um pátogeno suíno)
B. canis	*canis*, de “cão” (um patógeno de cães)
Francisella	Nome concedido em homenagem ao microbiologista americano Edward *Francis*; quem primeiramente descreveu a tularemia
F. tularensis subsp. *tularensis (tipo A)*	*tularensis*, pertencente ao condado de *Tulare*, Califórnia, onde a doença foi primeiramente descrita
F. tularensis subsp. *holarctica (tipo B)*	*holos*, “inteiro”; *arctos*, “regiões norte” (referência à distribuição nas regiões do ártico e do norte)
F. tularensis subsp. *mediasiatica*	*media*, “meio”; *asiatica*, “Ásia” (pertencente à Ásia central)
F. tularensis subsp. *novicida*	*novus*, ”novo”; *cida*, para “morte” (um “novo assassino”)
F. philomiragia	*philos*, “amando”; *miragia*, “miragem” (amando as miragens, referência à presença na água)

Francisella tularensis (Quadro 36-2)

O gênero *Francisella* é composto por duas espécies, *Francisella tularensis* e *Francisella philomiragia*. *F. tularensis* é o agente etiológico da **tularemia** (também chamada **febre glandular, febre do coelho, febre do carrapato** e **febre da mosca do cervo**) que ocorre em animais e seres humanos. *F. tularensis* é subdividida em quatro subespécies que são classificadas de acordo com as propriedades bioquímicas. **A subespécie *tularensis* (tipo A)** e a **subespécie *holarctica*** (**tipo B**) são as mais importantes, enquanto *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* e subespécie *novicida* são raramente associadas com doença em seres humanos. *F. philomiragia* é também um patógeno oportunista raro associado à exposição a água salgada. Esta espécie tem particular predileção por pacientes com deficiências imunológicas (*i.e.*, doença granulomatosa crônica, doenças mieloproliferativas). Devido ao seu raro isolamento, esse agente não será mais discutido neste capítulo.

Quadro 36-2 Resumo: *Francisella tularensis*

Biologia, Virulência e Doença

Cocobacilos Gram negativos muito pequenos (0,2 × 0,2 a 0,7mm)

Aeróbio estrito, não fermentador
Requer meios de cultura especiais e incubação prolongada para crescimento em cultura
Cápsula antifagocítica
Patógeno intracelular resistente à ação bactericida do soro e de fagócitos
Sintomas clínicos e o prognóstico são determinados pela rota da infecção: ulceroglandular, oculoglandular, glandular, tifoide, orofaríngea, gastrointestinal, pneumônica (Quadro 36-3)

Epidemiologia

Mamíferos selvagens, animais domésticos, aves, peixes e artrópodes hematófagos são reservatórios; coelhos, gatos, carrapatos e insetos mordedores são mais comumente associados com a doença humana; os seres humanos são hospedeiros acidentais

Distribuição mundial; mais comum nos Estados Unidos (em Oklahoma, Missouri e Arkansas)

Aproximadamente 100 casos são observados nos Estados Unidos, embora os números atuais possam ser muito maiores

A dose infectante é pequena quando a exposição é por mordida cutânea por artrópode, ou por inalação; grande número de microrganismos deve ser ingerido para a ocorrência de infecção via digestiva

Diagnóstico

Microscopia tem baixa sensibilidade

Cultura em meio suplementado com cisteína (p. ex., agar chocolate, agar BCYE) é sensível e específica se for realizada incubação prolongada

Sorologia pode ser utilizada para confirmar o diagnóstico clínico; aumento de quatro vezes no título ou uma titulação única > 1:160; altos títulos podem persistir por meses a anos; reações cruzadas com *Brucella*

Tratamento, Prevenção e Controle

Gentamicina é o antibiótico de escolha; fluoroquinolonas (p. ex., ciprofloxacino) e doxiciclina apresentam boa atividade; penicilinas e algumas cefalosporinas são ineficazes

A doença é prevenida ao evitar os reservatórios e vetores da infecção; roupas e luvas são protetoras

Vacina viva atenuada são disponíveis mas raramente utilizadas na doença humana

Quadro 36-3 *Brucella* e *Francisella*: Resumos Clínicos

Brucella

Brucelose: Sintomas iniciais não específicos de mal-estar, calafrios, suores, fadiga, mialgias, perda de peso, artralgias, e febre; podem ser intermitentes (febre ondulante); pode progredir para envolvimento sistêmico (trato gastrintestinal, ossos ou articulações, trato respiratório, outros órgãos)

***Brucella melitensis*:** grave, doença aguda com complicações usuais
***Brucella abortus*:** doença suave com complicações supurativas
***Brucella suis*:** crônica, supurativa, doença destrutiva
***Brucella canis*:** doença suave com complicações supurativas

Francisella

Tularemia ulceroglandular: pápula dolorosa se desenvolve no local da inoculação e progride para ulceração; linfadenopatia localizada

Tularemia oculoglandular: segue a inoculação no olho (p. ex., ato de coçar o olho com dedo contaminado), desenvolvimento de conjuntivite dolorosa, com linfadenopatia regional

Tularemia pneumônica: pneumonite com sinais de sepse se desenvolve rapidamente após exposição a aerossóis contaminados; alta mortalidade evitada por rápido diagnóstico e tratamento

Fisiologia e Estrutura

F. tularensis consiste em cocobacilos Gram negativos **muito pequenos** (0,2 × 0,2 a 0,7µm) e pouco corados (Fig. 36-1). O microrganismo é imóvel, apresenta uma fina cápsula lipídica e apresenta exigências fastidiosas para o crescimento (*i. e*., a maioria das cepas **requer cisteína** para o crescimento). É **aeróbio estrito** e são necessários 3 ou mais dias para que o crescimento seja visivelmente detectado em cultura.

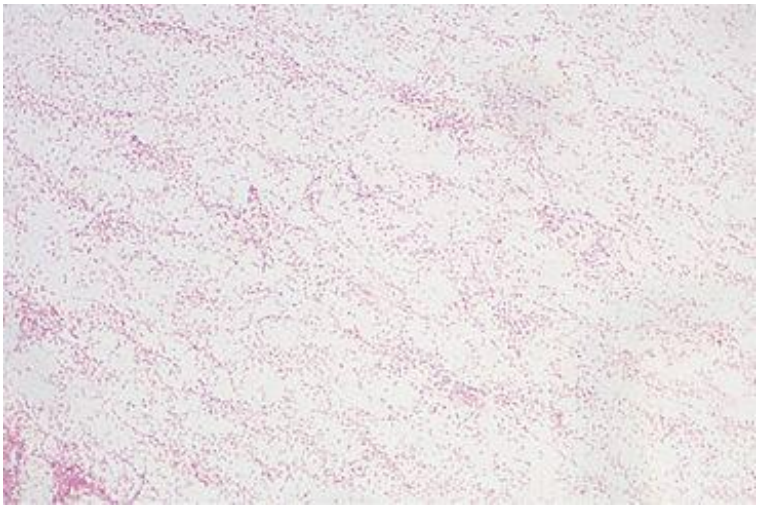


Figura 36-1 Coloração de Gram de *Francisella tularensis* isolada em cultura; observe que os cocobacilos extremamente pequenos têm aparência de areia fina.

Patogênese e Imunidade

F. tularensis é um **patógeno intracelular** que pode sobreviver por períodos prolongados em macrófagos do sistema reticuloendotelial devido à inibição da fusão fagossoma-lisossoma. As cepas patogênicas apresentam uma **cápsula antifagocitária rica em polissacarídeos**, e sua perda está associada à redução da virulência. A cápsula protege a bactéria da morte mediada por complemento durante a fase de bacteremia da doença. Similar aos bastonetes Gram negativos, esse microrganismo apresenta endotoxina, mas é consideravelmente menos ativa do que a endotoxina encontrada em outros bastonetes Gram negativos (p. ex., *Escherichia coli*).

Uma forte resposta imune natural com produção de interferon-γ e fator de necrose tumoral (TNF) é importante para o controle da replicação bacteriana em macrófagos na fase inicial da infecção. A imunidade específica mediada por células T é necessária para a ativação dos macrófagos e morte intracelular nos estágios tardios da doença. A imunidade mediada por células B é menos importante para a eliminação desse patógeno intracelular facultativo.

Epidemiologia

F. tularensis subsp. *tularensis* (tipo A) é restrita à América do Norte, mas a subsp. *holarctica* (tipo B) é endêmica em todo o hemisfério norte. As cepas do tipo A são subdivididas em **tipo A-oeste**, que predominam na região árida desde as Montanhas Rochosas até as Montanhas de Sierra Nevada, e **tipo A-leste**, que ocorrem nos estados de Arkansas, Missouri, Oklahoma e ao longo da costa do Atlântico. Cepas do **tipo B** se localizam ao longo das principais vias fluviais como na parte superior do rio Mississipi e nas áreas chuvosas como as do Pacífico Noroeste. A distribuição dessas cepas é importante porque as características epidemiológicas das doenças são distintas, assim como o seu curso clínico é significativamente diferente. A distribuição geográfica das cepas do tipo A-oeste, tipo A-leste e tipo B é definida pela distribuição dos reservatórios naturais e vetores de *F. tularensis*. Mais de 200 espécies de mamíferos, como aves e artrópodes hematófagos sugadores, são naturalmente infectados com *F. tularensis*. As infecções por cepas tipo A são mais comumente associadas a **lagomorfos** (coelhos e lebres) e **gatos**. As infecções pelo tipo B são associadas a **roedores** e gatos, mas não a lagomorfos. As infecções transmitidas por **artrópodes mordedores** (p. ex., carrapatos [*Ixodes, Dermacentor, Amblyomma* spp.], moscas de cervos) são mais comuns por cepas do tipo A do que do tipo B. A disseminação de cepas do tipo A dos estados do centro e sudeste para a costa do Atlântico ocorreu quando coelhos infectados foram importados destes estados para os clubes de caça da costa leste nas décadas de 1920 e 1930. As infecções por cepas do tipo A-leste são mais comumente associadas com a doença disseminada e alta taxa de mortalidade quando comparada com a doença causada pelas cepas do tipo A-oeste. O curso clínico da doença causada pelas cepas do tipo B é intermediário.

A incidência de notificação da doença é baixa. Em 2006, aproximadamente 100 casos foram notificados nos Estados Unidos, embora o número atual de infecções seja provavelmente maior, pois a tularemia é frequentemente subestimada e de difícil confirmação diagnóstica por testes laboratoriais. A maioria das infecções ocorre durante os meses do verão (quando a exposição a carrapatos infectados é maior) e do inverno (quando caçadores estão expostos a coelhos infectados). A incidência da doença aumenta dramaticamente quando um inverno relativamente quente é seguido por um verão úmido, causando proliferação da população de carrapatos. As pessoas de alto risco para a infecção são caçadores, profissionais de laboratório e aqueles expostos a carrapatos e outros artrópodes mordedores. Em áreas onde o microrganismo é endêmico, se diz que se um coelho está se movendo lentamente a ponto de ser alvo de um caçador ou ser capturado por um predador, o coelho pode estar infectado.

Doenças Clínicas (Quadro 36-3, Caso Clínico 36-1)

A doença causada por *F. tularensis* é subdividida em várias formas baseadas na apresentação clínica: **ulceroglandular** (úlcera cutânea e linfonodo edemaciado), **oculoglandular** (envolvimento ocular e linfonodos cervicais edemaciados), glandular (principalmente linfonodos edemaciados sem outros sintomas localizados), **tifoide** (sinais sistêmicos de sepse), **pneumônico** (sintomas pulmonares), **orofaríngea** e doença **gastrointestinal** após ingestão de *F. tularensis*. Variações nessas apresentações são também comuns (p. ex., tularemia pneumônica tipicamente apresenta sinais sistêmicos de sepse).

Caso Clínico 36-1 Tularemia Associada a Gatos

Capellan e Fong (Clin. Infect. Dis., 16: 472-475, 1993) descreveram um paciente de 63 anos de idade que desenvolveu tularemia ulceroglandular complicada com pneumonia após mordedura de gato. Ele apresentou inicialmente dor e edema localizado em seu polegar 5 dias após a mordida. Foram prescritas penicilinas orais, mas o quadro clínico do paciente piorou, com intensificação da dor localizada, edema e eritema no local da ferida e sinais sistêmicos (febre, mal-estar, vômito). A incisão da ferida foi realizada, mas nenhum abscesso foi encontrado; a cultura da ferida foi positiva para um crescimento pouco intenso de estafilococos coagulase-negativos. Foram prescritas penicilinas intravenosas, mas o paciente continuou apresentando piora, com o desenvolvimento de linfadenopatia axilar suave e sintomas pulmonares. A radiografia de tórax revelou infiltrado nos lobos médios e inferiores do pulmão direito. O tratamento foi substituído por clindamicina e gentamicina, o que resultou em diminuição da febre e melhora do estado clínico do paciente. Após 3 dias de incubação, colônias pequenas de cocobacilos Gram negativos fracamente corados foram observados na cultura original da ferida. O organismo foi enviado a um laboratório de referência nacional, onde foi identificado como *F. tularensis*. Um histórico mais completo revelou que o gato doméstico do paciente vivia na rua e se alimentava com roedores selvagens. Esse caso ilustra a dificuldade em determinar o diagnóstico de tularemia e a ausência de resposta a penicilinas.

A tularemia ulceroglandular é a manifestação mais comum. A lesão de pele, que se inicia como uma pápula dolorosa, desenvolve-se no local da mordida do carrapato ou da inoculação direta do microrganismo na pele (p. ex., um acidente laboratorial). A pápula evolui para ulceração e apresenta um centro necrótico e bordas elevadas. A linfadenopatia localizada e bacteremia também estão tipicamente presentes (embora a bacteremia possa ser difícil de documentar).

A tularemia oculoglandular (Fig. 36-2) é uma forma especializada de a doença e resulta da contaminação direta do olho. O microrganismo pode ser introduzido diretamente nos olhos, por exemplo, por dedos contaminados ou através da exposição a água ou aerossóis. Os pacientes afetados podem desenvolver conjuntivite dolorosa e linfadenopatia regional.

Figura 36-2 Paciente com tularemia oculoglandular.

A tularemia pneumônica (Fig. 36-3) resulta da inalação de aerossóis infectantes e está associada com alta morbidade e mortalidade a menos que o organismo seja isolado rapidamente em hemocultura (geralmente é difícil a detecção em culturas respiratórias). Existe uma preocupação adicional que *F. tularensis* possa ser utilizada como arma biológica. Para tal, a formação de aerossóis infectantes poderia ser a via mais provável de dispersão.

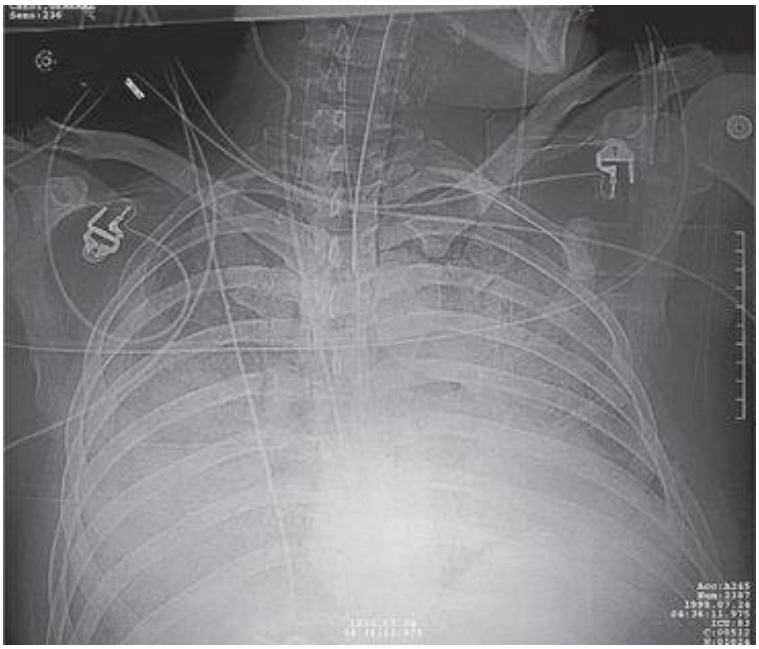


Figura 36-3 Radiografia de tórax de paciente com tularemia pulmonar.

Diagnóstico Laboratorial

Coleta do Espécime Clínico

A coleta e processamento dos espécimes para o isolamento de *F. tularensis* oferecem riscos tanto para o médico como para o profissional de laboratório. O microrganismo, devido a sua pequena dimensão, pode penetrar através de pele não íntegra e membranas mucosas durante a coleta do espécime, ou pode ser inalado se forem produzidos aerossóis (uma preocupação particular durante o processamento de espécimes no laboratório). Embora a tularemia seja rara, as infecções adquiridas em laboratório são desproporcionalmente comuns. Luvas devem ser utilizadas durante a coleta do espécime (p. ex., aspiração de uma úlcera ou linfonodo), e todo o trabalho laboratorial (tanto no processamento inicial como nos testes de identificação) deve ser realizado em câmara biológica.

Microscopia

A detecção de *F. tularensis* em aspirados submetidos à coloração de Gram a partir de nódulos infectados ou úlceras raramente é bem-sucedida, pois o microrganismo é extremamente pequeno e cora fracamente (Fig. 36-1). Um método mais sensível e específico é a coloração direta utilizando anticorpos marcados com fluoresceína contra o microrganismo. Os anticorpos reagentes para os tipos A e B estão disponíveis no Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e instituições estaduais de Saúde Pública, mas não são encontrados na maioria dos laboratórios clínicos.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes utilizando reação de polimerase em cadeia (PCR) estão em desenvolvimento mas não estão disponíveis no momento. Esse quadro pode mudar rapidamente com aumento no interesse de desenvolvimento de testes diagnósticos para esse microrganismo em um evento de ataque bioterrorista.

Cultura

Já foi determinado que *F. tularensis* não pode ser isolada em meios de cultura comuns de laboratório devido à necessidade de substâncias contendo radical sulfidrila (p. ex., **cisteína**) para o crescimento. Entretanto, *F. tularensis* pode crescer em **agar chocolate** ou em **agar carvão com extrato de levedura tamponado** (**BCYE**) suplementado com cisteína, que é utilizado na maioria dos laboratórios. Dessa forma, geralmente não é necessário o uso de meios especiais como agar sangue contendo cisteína ou agar glicose contendo cisteína. Assim, se houver suspeita de infecção por *F. tularensis*, o laboratório deve ser notificado devido ao lento crescimento de *F. tularensis* que pode ser subestimada se as culturas não forem incubadas por períodos prolongados. Além disso, como esse microrganismo é altamente infectante, são necessários cuidados especiais para a realização dos testes microbiológicos. As hemoculturas são geralmente negativas para o microrganismo a menos que sejam incubadas por uma semana ou por períodos maiores. As culturas dos espécimes respiratórios serão positivas se meios de cultura apropriados forem utilizados para suprimir as bactérias de crescimento rápido do trato respiratório superior. *F. tularensis* também cresce em meios de

cultura seletivos utilizados para *Legionella* (p. ex., agar BCYE). Os aspirados de linfonodos ou seios drenantes são geralmente positivos se as culturas forem incubadas por 3 dias ou mais.

Identificação

A identificação preliminar de *F. tularensis* é baseada no crescimento lento de cocobacilos Gram negativos muito pequenos. O crescimento em agar chocolate, mas não em agar sangue (o meio agar sangue não é suplementado com cisteína), também auxilia na identificação. A identificação é confirmada pela demonstração da reatividade da bactéria com antissoro específico (*i. e.*, aglutinação do microrganismo com anticorpos contra *Francisella*) . A identificação posterior através de testes bioquímicos não é considerada útil e pode apresentar risco ao manipulador.

Detecção de Anticorpos

A tularemia é diagnosticada na maioria dos pacientes pela detecção de um aumento de no mínimo quatro vezes no título de anticorpos durante a doença ou um único título de 1:160 ou maior. No entanto, anticorpos (incluindo IgG, IgM e IgA) podem persistir por vários anos, tornando difícil a diferenciação entre doença passada e atual. Os testes atualmente disponíveis reagem com as subespécies *tularensis* e *holarctica*, mas não com as outras subespécies ou com *F. philomiragia*. Anticorpos direcionados contra *Brucella* podem apresentar reação cruzada com *Francisella*. Consequentemente, o diagnóstico de tularemia não deveria ser baseado somente em testes sorológicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

A estreptomicina foi o antibiótico tradicional de escolha para o tratamento de todas as formas de tularemia; porém, esse antimicrobiano não é facilmente disponível e está associado com alto nível de toxicidade. A **gentamicina** é atualmente considerada o fármaco de escolha. As **fluoroquinolonas** (p. ex., ciprofloxacino) apresentam boa atividade bactericida *in vitro* e em modelo animal com camundongo. A doxiciclina é também bactericida em modelo animal. Cepas de *F. tularensis* produzem b-lactamases, o que tornam as penicilinas e cefalosporinas ineficazes. A taxa de mortalidade é menos de 1% se os pacientes forem tratados precocemente, mas é muito maior naqueles não tratados, particularmente os infectados com cepas tipo A–leste.

Para a prevenção da infecção, os indivíduos devem evitar os reservatórios e vetores de infecção (p. ex., coelhos, carrapatos, insetos mordedores), o que muitas vezes é difícil. No mínimo, os indivíduos não devem manipular coelhos aparentemente doentes e devem utilizar luvas quando em contato com a pele e vísceras desses animais. Como esses microrganismos estão presentes nas fezes dos artrópodes e não na saliva, o carrapato precisa se alimentar por um período prolongado antes da infecção ser transmitida. A remoção precoce do carrapato pode prevenir a infecção. O uso de roupa protetora e utilização de repelentes de insetos reduzem o risco de exposição. Os indivíduos que apresentam alto risco de exposição (p. ex., exposição a aerossóis infectantes) devem ser tratados com antibióticos profiláticos. As vacinas vivas atenuadas não são completamente efetivas na prevenção da doença, mas podem reduzir sua gravidade. Essas vacinas são recomendadas para indivíduos com risco significativo de exposição ao microrganismo. Vacinas inativadas não induzem imunidade celular protetora.

Brucella (Quadro 36-4)

Estudos moleculares envolvendo o gênero *Brucella* demonstraram uma estreita relação entre as cepas e são consistentes com a constituição de um único gênero, embora historicamente o gênero tenha sido subdividido em várias espécies. Atualmente, há seis espécies de *Brucella*, com quatro espécies associadas com doença em seres humanos: ***Brucella abortus, Brucella melitensis, Brucella suis*** e ***Brucella canis*** (Quadro 36-1). As doenças causadas pelos membros desse gênero são caracterizadas por várias designações, baseadas nos microbiologistas que primeiramente isolaram e descreveram os microrganismos (p. ex., Sir David Bruce [**brucelose**], Bernhard Bang [**Doença de Bang**]), apresentação clínica (**febre ondulante**) e os locais com surtos reconhecidos (p. ex., febre de Malta, febre do Mediterrâneo, febre de Gilbraltar, febre de Constantinopla, febre de Creta). O termo mais comumente utilizado é **brucelose**, e será utilizado neste capítulo.

Quadro 36-4 Resumo: *Brucella*

Biologia, Virulência e Doença

Cocobacilos Gram negativos muito pequenos (0,5 × 0,6 a 1,5µm)

Aeróbios estritos; não fermentadores
Requerem meios de cultura complexos e incubação prolongada para crescimento *in vitro*
Patógeno intracelular resistente à morte por ação do soro e por fagócitos
Colônias lisas associadas com a virulência
Consulte o Quadro 36-3 para obter informações sobre as doenças

Epidemiologia

Reservatórios animais são os ovinos (*B. melitensis*); bovinos e bisões americanos (*B. abortus*); suínos, cervos e alces (*Brucella suis*); cães, raposas e coiotes (*B. canis*)

Infectam tecidos animais ricos em eritritol (p. ex., seios, útero, placenta e epidídimo)

Distribuição mundial, particularmente na América Latina, África, costa do Mediterrâneo, Oriente Médio e Ásia Ocidental

Vacinação do gado tem controlado a doença nos Estados Unidos

A maioria das doenças nos Estados Unidos é notificada na Califórnia e Texas em viajantes provenientes do México

Indivíduos com maior risco para a doença são as pessoas que consomem produtos lácteos não pasteurizados, pessoas em contato direto com animais infectados e profissionais de laboratório

Diagnóstico

Microscopia tem baixa sensibilidade

Cultura (sangue, medula óssea, tecidos infectados se a infecção for localizada) tem maior sensibilidade e especificidade se for feita incubação prolongada (mínimo de 3 dias a 2 semanas)

Sorologia pode ser utilizada para confirmar o diagnóstico clínico com aumento de quatro vezes no título ou um único título > 1:160; altos títulos podem persistir de meses a anos; reações cruzadas com outras bactérias

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento recomendado é doxiciclina combinada com rifampina por no mínimo 6 semanas para mulheres não grávidas em idade adulta, trimetoprim-sulfametoxazol para grávidas e para crianças até 8 anos de idade

A doença humana é controlada pela erradicação da doença no reservatório animal através da vacinação e monitoramente sorológico dos animais para detecção da doença; pasteurização de produtos lácteos e uso de técnicas adequadas e seguras em laboratórios clínicos que trabalham com esse microrganismo

Fisiologia e Estrutura

Brucellae são cocobacilos Gram negativos pequenos (0,5 × 0,6 a 1,5µm), imóveis, não capsulados. Esses microrganismos crescem lentamente em meio de cultura (em período de 1 semana ou mais), e geralmente requerem meios de cultura complexos, são aeróbios estritos, com algumas cepas necessitando de dióxido de carbono para o crescimento, e não fermentam carboidratos.

As colônias podem assumir formas lisas (translúcidas, homogêneas) e rugosas (opacas, granulares), determinadas pelo antígeno O do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular. Antissoro para uma forma (p. ex., lisa) não reage cruzadamente com a outra forma (p. ex., rugosa). As espécies de *Brucella* podem ser caracterizadas pela proporção relativa dos epítopos antigênicos, referidos como **antígenos A** e **antígenos M** existentes na cadeira polissacarídica O do LPS da forma lisa.

Patogênese e Imunidade

Brucella não produz exotoxinas detectáveis, e a endotoxina apresenta menor toxicidade do que as produzidas por outros bastonetes Gram negativos. A conversão de cepas lisas para a morfologia rugosa está associada com a redução significativa da virulência, de modo que a cadeia O do LPS da forma lisa é um importante marcador de virulência. *Brucella* também é um **parasita intracelular** do **sistema reticuloendotelial**. Após a exposição inicial, os microrganismos são fagocitados por macrófagos e monócitos. Brucellae sobrevivem e se replicam em células fagocíticas através da inibição da fusão do fagolisossoma, impedindo a liberação de enzimas tóxicas presentes nos grânulos intracelulares, inibindo a produção de TNF-a, e produção de peróxido de hidrogênio e superóxido pela inibição de catalase e superóxido dismutase. As bactérias fagocitadas são carreadas para o baço, fígado, medula óssea, linfonodos e rins. As bactérias secretam proteínas que induzem a formação de granuloma nesses órgãos, e alterações destrutivas nesses e em outros tecidos, especialmente em pacientes com doença avançada.

Epidemiologia

As infecções por *Brucella* têm uma **distribuição mundial** sendo a doença endêmica mais comum na América Latina, África, costa do Mediterrâneo, Oriente Médio e oeste da Ásia. Mais de 500 mil casos documentados são notificados anualmente em todo o mundo. Em constraste, a incidência nos Estados Unidos é significativamente menor (121 infecções notificadas em 2006). O maior número de casos nos Estados Unidos é notificado na **Califórnia** e **Texas**, e a maioria dessas infecções ocorre em residentes ou visitantes do México. Os profissionais de laboratório também apresentam risco significativo de infecção através do contato direto ou inalação do microrganismo. A doença em bovinos, suínos e ovinos nos Estados Unidos tem sido efetivamente eliminada através da destruição dos animais infectados e a vacinação de animais domésticos. Dessa forma, infecções em veterinários, trabalhadores em abatedouros e fazendeiros têm sido pouco comuns que antes de 1980.

A brucelose em seres humanos pode ser adquirida por contato direto com o microrganismo (p. ex., exposição em laboratório), ingestão (p. ex., consumo de produtos alimentares contaminados), ou inalação. Uma preocupação particular envolve o uso potencial de *Brucella* como arma biológica, na qual a exposição provavelmente seria através da inalação.

Brucella causa doença leve ou assintomática em hospedeiros naturais: *B. abortus* infecta bovinos e bisões americanos; *B. melitensis* infecta ovinos e *B. canis* causa doença em cães, raposas e coiotes. Os microrganismos têm predileção pela infecção de órgãos ricos em **eritritol**, um carboidrato metabolizado por várias cepas de *Brucella* prioritariamente à glicose. Tecidos animais (mas não humanos), incluindo mama, útero, placenta e epidídimo, são ricos em eritritol. Os microrganismos, então, se localizam nesses sítios em reservatórios não humanos e podem causar esterilidade, aborto ou evolução para o estado assintomático de portador por toda a vida. *Brucellae* são excretados em grande concentração no leite, urina e produtos relacionados ao parto. A doença humana nos Estados Unidos é mais comumente causada por ***B. melitensis*** e resulta principalmente do consumo de leite não pasteurizado contaminado e outros **produtos lácteos**.

Doenças Clínicas (Quadro 36-3; Caso Clínico 36-2)

O espectro de manifestações relacionadas à brucelose depende do microrganismo infectante. *B. abortus* e *B. canis* estão associados à doença leve com raras complicações supurativas. Por outro lado, *B. suis* resulta na formação de lesões destrutivas e apresenta um curso prolongado. *B. melitensis* também pode causar doença grave com uma alta incidência de complicações significativas, pois os microrganismos podem apresentar altas concentrações em células fagocíticas.

Caso Clínico 35-1 Brucelose

Lee e Fung (Hong Kong Med J 11: 403-406, 2005) descreveram o caso de uma paciente de 34 anos de idade que desenvolveu brucelose causada por *Brucella melitensis*. A mulher apresentou cefaleia, febre e mal-estar recorrentes que se desenvolveram após a manipulação de placenta de cabra na China. As hemoculturas foram positivas para *B. melitensis* após incubação prolongada. Ela foi tratada por 6 semanas com doxiciclina e rifampicina, e apresentou uma resposta favorável. O caso foi uma descrição clássica da exposição a tecidos contaminados com alto conteúdo de eritritol, com apresentação de febre recorrente e cefaleia, e resposta à combinação de doxiciclina e rifampicina.

A doença aguda se desenvolve em aproximadamente metade dos pacientes infectados com *Brucella*, com sintomas típicos aparecendo de 1 a 3 semanas após exposição. Os sintomas iniciais não são específicos e consistem de mal-estar, calafrios, sudorese, fadiga, fraqueza, mialgias, perda de peso, artralgia e tosse não produtiva. A maioria dos pacientes apresenta febre, que pode ser intermitente em pacientes não tratados, origem da denominação **febre ondulante**. Pacientes com doença avançada podem apresentar sintomas gastrintestinais (70% dos pacientes), lesões osteolíticas ou efusão articular (20% a 60%), sintomas respiratórios (25%), e menos frequentemente lesões cutâneas, neurológicas, ou manifestações cardiovasculares. As infecções crônicas podem se desenvolver em pacientes tratados inadequadamente, com sintomas se desenvolvendo de 3 a 6 meses após a interrupção da terapia antimicrobiana. A recorrência está associada com um foco persistente de infecção (p. ex., no tecido ósseo, baço, fígado) e não com o desenvolvimento de resistência antimicrobiana.

Diagnóstico Laboratorial

Coleta do Espécime Clínico

Várias amostras de sangue devem ser coletadas para cultura e testes sorológicos. Culturas da medula óssea e de tecidos infectados podem também ser úteis. Para garantir a segurança na manipulação do espécime, o laboratório deverá ser notificado se houver suspeita de brucelose.

Microscopia

Microrganismos do gênero *Brucella* são corados usando técnicas convencionais, mas sua localização intracelular e as pequenas dimensões dificultam a detecção em espécimes clínicos. Atualmente, testes de imunofluorescência específicos não estão disponíveis.

Cultura

Microrganismos do gênero *Brucella* crescem lentamente durante o isolamento primário. Eles podem crescer na maioria dos meios de cultura enriquecidos com sangue e ocasionalmente em agar MacConkey; embora a incubação por períodos iguais ou superiores a 3 dias possam ser necessários. **Hemoculturas devem ser incubadas por 2 semanas** antes que sejam consideradas negativas. Aumento do tempo de incubação da hemocultura não é necessário se forem utilizados sistemas automatizados.

Identificação

A identificação preliminar de *Brucella* é baseada na observação microscópica e morfologia colonial, reações positivas nos testes de oxidase e de urease, e reatividade com anticorpos específicos contra *B. abortus* e *B. melitensis. B. melitensis, B. abortus* e *B. suis* reagem com antissoros preparados contra *B. abortus* ou *B. melitensis* (ilustrando a relação próxima entre essas espécies). Por outro lado, *B. canis* não reage com qualquer outro antissoro. A identificação do gênero pode ser conseguida através do sequenciamento do gene 16S do ácido ribonucleico (rRNA). Como a brucelose é pouco comum nos Estados Unidos, a maioria dos laboratórios encaminha o microrganismo para um laboratório de saúde pública para a identificação definitiva.

Detecção por Anticorpos

A brucelose subclínica e vários casos de doença aguda e crônica são identificados pela detecção da resposta humoral específica do paciente infectado. Os anticorpos são detectados em praticamente todos os pacientes. A resposta envolvendo a imunoglobulina M (IgM) é observada inicialmente após o que tanto os anticorpos IgG como IgA são produzidos. Os anticorpos podem persistir por vários meses ou anos, assim um aumento significativo dos títulos de anticorpos é necessário para proporcionar evidências sorológicas definitivas de doença atual. O **diagnóstico presuntivo** pode ser realizado pelo aumento de quatro vezes

no título ou por um único título maior ou igual a 1:160. Altos títulos de anticorpos (1:160 ou acima) são observados em 5% a 10% da população residente em áreas endêmicas. Dessa forma, os testes sorológicos devem ser utilizados para confirmar o diagnóstico clínico de brucelose e não para formar a base do diagnóstico. O antígeno utilizado no teste de aglutinação do soro (SAT) para *Brucella* é extraído de *B. abortus*. Anticorpos específicos para *B. melitensis* ou *B. suis* reagem cruzadamente com esse antígeno, embora não haja reatividade cruzada com *B. canis*. O antígeno específico de *B. canis* deve ser usado para o diagnóstico de infecções por esse microrganismo. Anticorpos direcionados contra outros gêneros bacterianos (p. ex., algumas cepas de *Escherichia, Salmonella, Vibrio, Yersinia, Stenotrophomonas* e *Francisella*) são também descritos como reatores cruzados com antígeno de *B. abortus*.

Tratamento, Prevenção e Controle

As tetraciclinas, com **doxiciclina** como agente de escolha, são geralmente ativas contra a maioria das cepas de *Brucella*, embora devido ao efeito bacteriostático do fármaco, a recorrência seja frequente após a resposta inicial bem-sucedida. A Organização Mundial de Saúde atualmente recomenda a combinação de **doxiciclina com rifampicina**. Como as tetraciclinas são tóxicas para criancas e fetos, a doxiciclina deve ser substituída por trimetoprim-sulfametoxazol para gestantes e crianças de até 8 anos de idade. O tratamento deve ser continuado por 6 semanas ou mais para sua efetividade. As fluoroquinolonas, macrolídeos, penicilinas e cefalosporinas são ineficazes ou apresentam atividade não previsível. A recorrência da doença é causada por terapia inadequada e não pelo desenvolvimento da resistência ao antibiótico.

O controle da brucelose humana é obtido através do controle da doença em zona rural, como demonstrado nos Estados Unidos. Esse programa requer a identificação sistemática (por testagem sorológica), eliminação dos rebanhos infectados e **vacinação animal** (atualmente com a cepa rugosa de *B. abortus* RB51). Evitar o consumo de produtos lácteos não pasteurizados, a aplicação de medidas de segurança adequadas em laboratórios clínicos e a vestimenta de roupas de proteção por trabalhadores de abatedouros são medidas adicionais na prevenção da brucelose. As vacinas vivas atenuadas de *B. abortus* e *B. melitensis* têm sido utilizadas com sucesso na prevenção da infecção em rebanhos animais. Não foram desenvolvidas vacinas contra *B. suis* ou *B. canis*, e as vacinas existentes não podem ser utilizadas em seres humanos devido à produção de doença sintomática. A ausência de uma vacina efetiva em seres humanos é uma preocupação, pois *Brucella* (assim como *Francisella*) pode ser utilizada como agente de bioterrorismo.

Estudo de Caso e Questões

Um paciente de 27 anos de idade estava ceifando seu campo quando atropelou dois coelhos jovens. Quando desligou o segador, ele observou que dois outros coelhos estavam mortos na parte não capinada do terreno. Ele removeu todos os coelhos e os enterrou. Três dias após o fato, ele apresentou febre, mialgia, desidratação e tosse não produtiva. Nas 12 horas seguintes, o quadro evoluiu e ele foi levado por sua esposa para o atendimento hospitalar. Os resultados do raio X de tórax indicaram infiltrações em ambos os campos pulmonares. Hemoculturas e secreções respiratórias foram coletadas, e antibióticos foram administrados. As hemoculturas se tornaram positivas com bastonetes pequenos Gram negativos após 3 dias de incubação, e o mesmo microrganismo cresceu a partir de espécimes respiratórios que foram inoculados em agar BCYE.

1. Que testes devem ser realizados para a confirmação do diagnóstico de *Francisella tularensis*?

1. O diagnóstico clínico de tularemia pode ser confirmado por microscopia, cultura, PCR ou sorologia. A microscopia é limitada pelo fato de os organismos serem extremamente pequenos e frequentemente passarem despercebidos em espécimes clínicos. Teste de imunofluorescência direta (IFD) está disponível, mas raramente é usado em laboratórios clínicos. A cultura tem sido considerada com baixa sensibilidade; entretanto, na experiência deste autor, o teste é sensível se for utilizado o meio adequado (agar carvão com extrato de levedura) com incubação prolongada. As culturas devem ser manuseadas com muito cuidado porque os organismos são extremamente infecciosos. Testes baseados no PCR são sensíveis e específicos, mas não estão amplamente disponíveis. Maioria dos diagnósticos é feita retrospectivamente, através de métodos sorológicos. Reação cruzadas podem ocorrer (p. ex., com Brucella), mas isso normalmente não constitui um problema diagnóstico.

2. Essa infecção foi supostamente adquirida por inalação de aerossol a partir do sangue contaminado. Quais as fontes mais comuns de infecções por *F. tularensis*, e quais as rotas mais comuns de exposição?

2. As fontes mais frequentes de tularemia nos Estados Unidos são o manuseio de animais (coelhos) ou carrapatos infectados. Os carrapatos necessitam de um contato longo para transmitir a bactéria, e a exposição a animais inclui tanto ingestão como exposição a aerossóis infecciosos durante a retirada do pelo do animal.

3. Quais são as manifestações clínicas diferenciais de *F. tularensis*?

3. Várias formas de tularemia são reconhecidas. Doença pulmonar após exposição a um aerossol infectante é a forma mais severa da doença. Outras formas são a doença ulcero-glandular (úlcera cutânea no local da inoculação com aumento dos linfonodos), óculo-glandular (envolvimento do olho com aumento dos gânglios cervicais), doença tifoide (septicemia e doença pulmonar) e doença gastrintestinal (após ingestão da bactéria).

Bibliografia

Boschiroli M. et al: Brucellosis: A worldwide zoonosis. *Curr Opin Microbiol*. 2001;4:58-64.

Dennis D. et al: Tularemia as a biological weapon: Medical and public health management. *J Am Med Assoc*. 2001;285:2763-2773.

Farlow J. et al: Francisella tularensis in the United States. *Emerg Infect Dis*. 2005;12:1835-1841.

Feldman K. et al: Outbreak of primary pneumonic tularemia on Martha's Vineyard. *N Engl J Med*. 2001;345:1601-1606.

Pappas G. et al: Brucellosis. *N Engl J Med*. 2005;352:2325-2336.

Staples J. et al: Epidemiologic and molecular analysis of human tularemia, United States, 1964–2004. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1113-1118.

37 Legionella

No verão de 1976, a atenção pública convergiu para um surto de pneumonia severa que provocou a morte de muitos membros da convenção da Legião Americana na Filadélfia. Após meses de intensas investigações, foi isolado um bacilo Gram negativo até então desconhecido. Estudos subsequentes encontraram este organismo, denominado ***Legionella pneumophila***, causando várias epidemias e infecções esporádicas. O organismo não foi previamente reconhecido, porque se corava fracamente com os corantes convencionais e não crescia nos meios usuais de laboratório. Apesar dos problemas iniciais no isolamento de *Legionella*, atualmente esse microrganismo é conhecido como um saprófito aquático ubíquo.

Família *Legionellaceae*

Estudos taxonômicos têm mostrado que a família *Legionellaceae* consiste em um único gênero, *Legionella*, com 50 espécies. Aproximadamente metade dessas espécies tem sido implicada em doenças humanas, enquanto as outras são encontradas em fontes ambientais. *L. pneumophila* representa a causa de 90% das infecções; os sorotipos 1 e 6 são isolados mais frequentemente (Fig. 37-1).

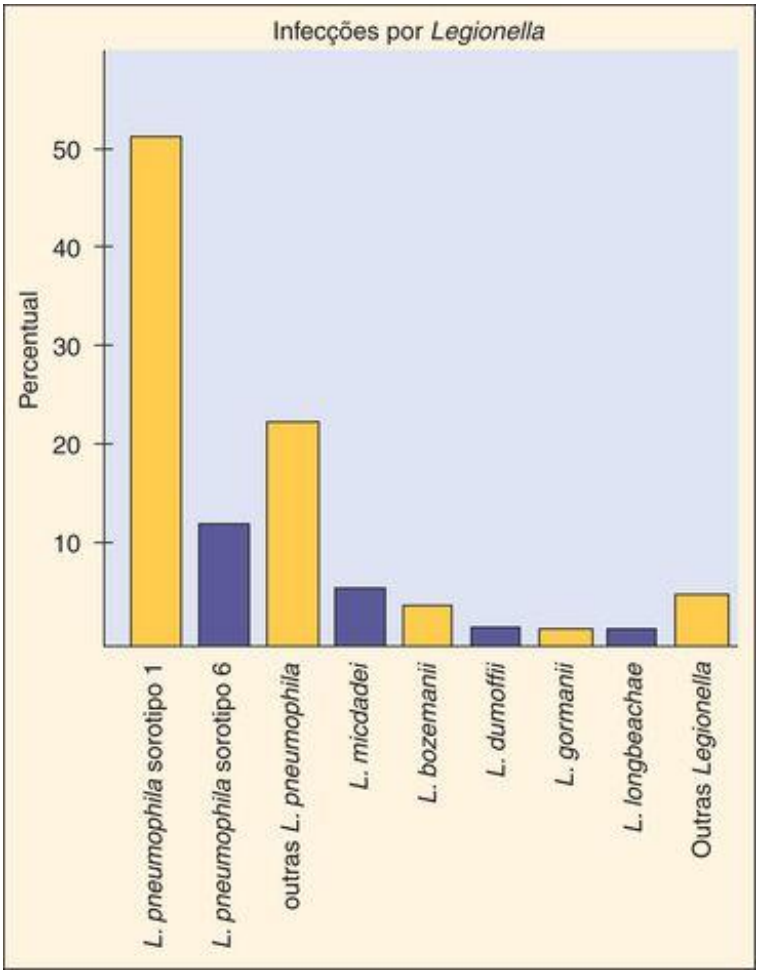


Figura 37-1 Espécies de *Legionella* associadas à doença humana.

Fisiologia e Estrutura

Os membros do gênero *Legionella* são bacilos Gram negativos finos, pleomórficos, medindo 0,3 a 0,9 × 2µm (Quadro 37-1). Estes organismos aparecem caracteristicamente como cocobacilos curtos quando observados em tecidos, mas são muito pleomórficos (com mais de 20µm de tamanho) após o cultivo em meios artificiais (Fig. 37-2). Em amostras clínicas, a bactéria não se cora com reagentes comuns, mas pode ser visualizada em tecidos corados com o método de coloração pela prata de Dieterle. Uma espécie, *L. micdadei*, também pode ser corada com coloração de acidorresistência fraca, mas perde essa propriedade quando é cultivado *in vitro*.

Quadro 37-1 Resumo: *Legionella*

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos, não fermentadores, pleomórficos, finos

Coram-se fracamente com reagentes comuns
Nutricionalmente fastidiosos requerem L-cisteína e concentrações aumentadas de sais de ferro
Capaz de se replicar em macrófagos alveolares (e em amebas, na natureza)
Inibem a fusão do fagolisossoma
Responsáveis pela doença dos legionários e febre de Pontiac

Epidemiologia

Causam infecções hospitalares, epidêmicas e esporádicas

Encontradas comumente em águas naturais, torres de resfriamento, condensadores e suprimentos de água (incluindo sistemas hospitalares)

Estima-se que ocorram entre 10 mil e 20 mil casos de infecção nos Estados Unidos anualmente

Pacientes com alto risco para aquisição da doença sintomática incluem os que têm função pulmonar comprometida e pacientes com imunidade celular diminuída (principalmente os pacientes transplantados)

Diagnóstico

Microscopia tem baixa sensibilidade

Testes antigênicos são sensíveis para *L. pneumophila* sorotipo 1 mas têm pouca sensibilidade para outros sorotipos ou espécies

A cultura em agar carvão extrato de levedura tamponado (BCYE) é o teste diagnóstico de escolha

A soroconversão deve ser demonstrada, pode demorar até 6 meses para se desenvolver; a sorologia positiva pode persistir por meses

Os testes de amplificação do ácido nucleico são tão sensíveis e específicos quanto a cultura

Tratamento, Controle e Prevenção

Macrolídeos modernos (p. ex., azitromicina, claritromicina) ou fluoroquinolonas (p. ex., ciprofloxacina, levofloxacina) são o tratamento de escolha

Diminuição da exposição ambiental reduz o risco da doença

Tratar as fontes ambientais associadas com a doença utilizando hipercloração da água, superaquecimento ou ionização por cobre-prata

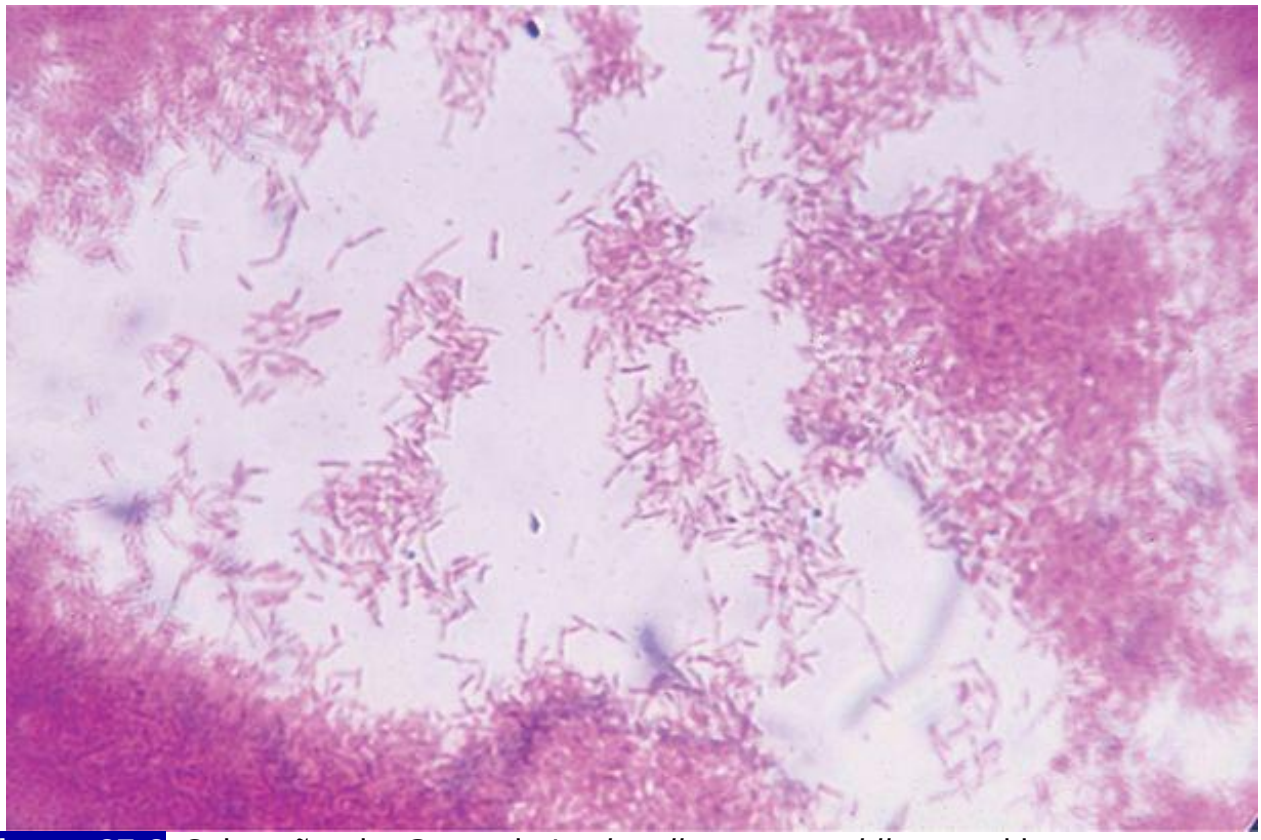


Figura 37-2 Coloração de Gram de *Legionella pneumophila* crescida em agar carvão extrato de levedura tamponado. Observe as formas pleomórficas características da *Legionella*.

(Cortesia de Dr. Janet Stout; Pittsburgh, Pennsylvania.)

Legionelas são aeróbios estritos, nutricionalmente fastidiosos. Para o isolamento primário, necessitam de meio suplementado com L-cisteína e ferro. O crescimento dessas bactérias em meios suplementados, mas não em meios de agar sangue convencional, tem sido utilizado como a base para a identificação preliminar de isolados clínicos. A bactéria desenvolveu múltiplos métodos para adquirir ferro das células hospedeiras ou nos meios de cultivo *in vitro*, e a perda dessa habilidade está associada com a perda da virulência. Os organismos não são fermentadores e obtêm energia a partir do metabolismo dos aminoácidos.

Patogênese e Imunidade

A doença do trato respiratório, causada por *Legionella*, desenvolve-se em pessoas suscetíveis que inalam aerossóis infecciosos. Legionelas são **parasitas intracelulares** facultativos que se multiplicam em amebas de vida livre na natureza e em macrófagos alveolares, monócitos e células epiteliais alveolares nos hospedeiros infectados. Esta habilidade para infectar e se multiplicar nos macrófagos é crítica para a patogênese. O ciclo replicativo se inicia pela ligação do complemento a uma porina de membrana externa e deposição do componente do complemento C3b na superfície bacteriana. A bactéria se liga a receptores CR3 do complemento na superfície de fagócitos mononucleares e, em seguida, os microrganismos penetram na célula hospedeira através de endocitose. As bactérias não são mortas no interior da célula pela exposição ao superóxido tóxico, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila, porque a **fusão do fagolisossoma é inibida**. Quimiocinas e citocinas liberadas pelos macrófagos infectados estimulam uma resposta inflamatória severa, característica das infecções por *Legionella*. Os organismos proliferam-se no vacúolo intracelular produzindo enzimas proteolíticas, fosfatase, lipase e nuclease, que eventualmente matam a célula hospedeira quando o vacúolo é lisado. A imunidade contra a doença é primariamente celular, com a imunidade humoral tendo uma função menos importante. As bactérias não são mortas até que células T-auxiliares sensibilizadas (TH1) ativem os macrófagos parasitados. A produção de interferon-γ (IFN-γ) é crítica para a disseminação da *Legionella*.

Epidemiologia

As legioneloses esporádicas e epidêmicas têm **distribuição mundial**. As bactérias são comumente encontradas em águas naturais como lagos e rios, assim como em torres de resfriamento e condensadores de ar-condicionado, e em sistemas de água (p. ex., chuveiros, canos de água quente). As infecções humanas são mais comumente associadas com a **exposição a aerossóis contaminados** (p. ex., torres de resfriamento de ar-condicionado, piscinas de hidromassagem, chuveiros ou borrifadores de água). Os organismos podem sobreviver em ambientes úmidos por longos períodos, em temperaturas relativamente altas e na presença de desinfetantes como o cloro. Uma razão para a sua sobrevivência é que a bactéria pode parasitar amebas da água e se multiplicar nesse ambiente protegido (similar a sua multiplicação em macrófagos humanos). A bactéria também sobrevive em biofilmes que se desenvolvem em canos de sistemas aquáticos.

A incidência das infecções causadas pelas espécies de *Legionella* é desconhecida porque a doença é difícil de ser documentada. O número de casos reportados tem aumentado de forma constante desde o ano 2000, com 2.834 casos relatados em 2006. Entretanto, o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estima ocorram que 10 mil a 20 mil casos por ano da doença dos legionários nos Estados Unidos. Estudos sorológicos têm mostrado que uma significativa parcela da população adquiriu imunidade para esse microrganismo. É razoável concluir que o contato com o microrganismo e a aquisição de imunidade após infecção assintomática sejam eventos comuns.

Embora ocorram surtos esporádicos da doença durante todo o ano, a maioria das epidemias ocorre no final do verão e no outono, provavelmente porque os organismos proliferam-se nos reservatórios de água durante os meses quentes. Nos Estados Unidos, mais de 80% das infecções documentadas ocorrem em indivíduos com 40 anos de idade ou mais, provavelmente porque são mais propensos a ter a imunidade celular diminuída e a função pulmonar comprometida. Quase 25% dos casos relatados são adquiridos em hospitais devido à predominância de pacientes de alto risco. Não tem sido demonstrada a disseminação pessoa a pessoa ou existência de reservatórios animais.

Doenças Clínicas

Acredita-se que infecções assintomáticas por *Legionella* sejam relativamente comuns. Infecções sintomáticas afetam primariamente os pulmões, apresentando-se em uma das duas formas (Tab. 37-1): (1) uma doença semelhante à gripe (referida como **febre de Pontiac**); e (2) uma forma de pneumonia severa (*i.e.*, **a doença dos legionários**).

Tabela 37-1 Comparação de Doenças Causadas por *Legionella*

	Doença dos Legionários	Febre de Pontiac
Epidemiologia		
Apresentação	Epidêmica, esporádica	Epidêmica
Taxa de incidência (%)	<5	>90
Transmissão de indivíduo para indivíduo	Não	Não
Doença pulmonar subjacente	Sim	Não
Época do início	Doença epidêmica no final do verão ou outono; doença endêmica durante todo o ano	Durante todo o ano
Manifestações Clínicas		
Período de incubação (dias)	2-10	1-2
Pneumonia	Sim	Não
Curso da doença	Requer antibioticoterapia	Autolimitada
Mortalidade (%)	15-20; maior se o diagnóstico for tardio	<1

Febre de Pontiac

Em 1968, *L. pneumophila* foi responsável por uma doença febril, autolimitada, em pessoas que trabalhavam no Departamento de Saúde Pública em Pontiac, Michigan. As características da doença foram febre, calafrios, mialgia, indisposição e cefaleia, sem evidência clínica de pneumonia Os sintomas desenvolveram-se após 12 horas, persistiram por 2 a 5 dias e então desapareceram espontaneamente sem tratamento com antibióticos, com morbidade mínima e sem mortes. Outros surtos de febre de Pontiac, com ou sem pneumonia por *Legionella*, têm sido relatados. A patogênese exata dessa síndrome não é conhecida, embora se acredite que a patologia da doença é causada por uma reação de hipersensibilidade à toxina bacteriana (p. ex., endotoxina).

Doença dos Legionários (Caso Clínico 37-1)

A **Doença dos Legionários (legionelose)** é caracteristicamente mais severa que a febre de Pontiac e, se não tratada, causa morbidez considerável rapidamente, frequentemente causando óbito de 15% dos indivíduos previamente sadios e mais de 75% dos pacientes imunocomprometidos. Após um período de incubação de 2 a 10 dias, sinais sistêmicos de uma doença aguda aparecem abruptamente (p. ex., febre, calafrios, tosse seca e não produtiva, cefaleia). A doença em vários órgãos envolvendo o trato gastrointestinal, sistema nervoso central, fígado e rins é comum. A manifestação primária é a pneumonia com consolidação multilobar evidente no raio X, e inflamação e formação de microabscessos no tecido pulmonar observados nos estudos histopatológicos. Na doença não tratada, a função pulmonar se deteriora linearmente nos pacientes suscetíveis. A apresentação clínica da pneumonia causada por *Legionella* não é peculiar, e testes laboratoriais são necessários para confirmar o diagnóstico.

Caso Clínico 37-1 Surto de Doença dos Legionários

Kirrage et al. (Respir Med, 101:1639, 2007) descreveram um surto de doença dos legionários (DL) ocorrido em Hereford, Inglaterra. Em 24 de outubro de 2007, a agência de saúde pública foi notificada de que um homem idoso havia falecido com DL. Três dias depois, a agência de saúde pública foi notificada de que uma mulher idosa também havia morrido com DL. Após uma investigação ativa de vigilância, dois pacientes adicionais com o teste de antígeno urinário para *Legionella* positivo foram identificados em um hospital local. Investigações posteriores identificaram 28 pacientes epidemiologicamente relacionados, com início da doença entre 8 de outubro a 20 de novembro. Todos os pacientes apresentaram testes de antígeno urinário positivo, quatro pacientes apresentaram títulos altos de anticorpos e dois apresentaram culturas positivas. A fonte implicada no surto foi uma torre de resfriamento que tinha sido recentemente reativada após um período de inatividade. Após o fechamento e limpeza da torre, a epidemia terminou. Esse surto ilustra a dificuldade de reconhecer o problema quando indivíduos infectados se apresentam em diferentes hospitais. Isso constitui um problema principalmente quando a fonte está localizada em um hotel ou local de férias.

Diagnóstico Laboratorial

A partir do primeiro isolamento de *Legionella*, o diagnóstico laboratorial das infecções causadas por esse microrganismo passou por uma mudança significativa. Os testes iniciais dependiam da microscopia, cultura e sorologia. Apesar de a cultura permanecer como o padrão-ouro para o diagnóstico, a microscopia e a sorologia têm sido substituídas por imunoensaios para a detecção de antígenos específicos para *Legionella* na urina e por testes de amplificação de ácido nucleico.

Microscopia

Nas amostras clínicas legionelas **coram-se fracamente** pelo método de Gram e as bactérias pequenas, intracelulares são raramente identificadas. Os organismos coram-se com métodos não específicos, como o método de coloração pela prata de Dieterle, mas essa coloração é utilizada apenas com amostras de tecido e não com escarro. O modo mais sensível de detectar legionelas microscopicamente em amostras clínicas é pelo uso de **imunofluorescência direta** (ID), no qual são utilizados anticorpos policlonais ou monoclonais marcados com fluoresceína direcionados para as espécies de *Legionella*. Os testes que utilizam anticorpos monoclonais são específicos; entretanto reações falso-positivas são comuns com os anticorpos policlonais. Infelizmente a sensibilidade da ID é baixa (variando entre 25% a 75%), porque (1) as preparações do anticorpo são específicas para a espécie ou o sorotipo; e (2) muitos microrganismos devem estar presentes para a detecção. O último problema é resultante do número relativamente pequeno e da localização intracelular da bactéria. Devido aos problemas com a ID, os testes de detecção dos antígenos são utilizados em muitos laboratórios.

Teste para Detecção de Antígenos Urinários

Os imunoensaios são utilizados para detectar antígenos **lipopolissacarídeos solúveis específicos do sorotipo 1 de *Legionella*** excretados na urina de pacientes infectados. A sensibilidade destes testes para *L. pneumophila* sorotipo 1 é relativamente alta (variando de 60% a 90%), particularmente com urinas concentradas. Entretanto este ensaio não pode ser utilizado para detectar outros sorotipos ou espécies de *Legionella*. Esta distinção é importante porque *L. pneumophila* sorotipo 1 é responsável por 80% a 90% das infecções adquiridas na comunidade mas é responsável por pouco mais que 50% das infecções hospitalares. Os antígenos persistem na urina dos pacientes tratados, com cerca de 50% dos pacientes permanecendo positivos por 1 mês e 25% por 2 meses. A persistência é particularmente comum em pacientes imunocomprometidos, nos quais os antígenos podem persistir por até 1 ano.

Teste de Amplificação do Ácido Nucleico

Os testes de amplificação do ácido nucleico (AAN) são altamente específicos e têm sensibilidade equivalente à cultura para a detecção das espécies de *Legionella* nas secreções respiratórias (p. ex., lavado broncoalveolar [LBA]). Embora estes testes não estejam amplamente disponíveis, antecipa-se que no futuro eles serão o método diagnóstico de escolha. A presença de inibidores nas secreções respiratórias pode causar reações falso-negativas, e todas as amostras devem ser cultivadas. Adicionalmente, a cultura tem demonstrado ser mais sensível que os testes AAN para amostras de tecidos.

Cultura

Embora legionelas sejam difíceis de crescer inicialmente, meios comercialmente disponíveis tornaram o cultivo mais fácil (sensibilidade de 80% a > 90%). Como mencionado antes, a bactéria requer L-cisteína e sais de ferro (fornecidos pela hemoglobina e pirofosfato férrico) para o isolamento primário. O meio mais comumente utilizado para o isolamento de legionelas é o **agar carvão extrato de levedura tamponado (BCYE)**, embora outros meios suplementados têm sido utilizados. Podem ser adicionados antibióticos para suprimir bactérias contaminantes de crescimento rápido. Legionelas crescem na presença de ar ou 3% a 5% de dióxido de carbono, a 35°C após 3 a 5 dias de incubação. As colônias são pequenas (1 a 3mm) e têm a aparência de vidro moído.

Identificação

É fácil identificar um isolado como *Legionella* a partir dos achados da morfologia típica e necessidades específicas para o seu crescimento. Legionelas aparecem como bacilos Gram negativos finos, pleomórficos, fracamente corados. O crescimento em agar BCYE, mas não em meio sem L-cisteína, é uma evidência presuntiva de que o microrganismo é *Legionella*. Colorações específicas com anticorpos marcados com fluoresceína podem confirmar a identidade dos microrganismos. Contrastando com a identificação do gênero, a classificação das espécies é problemática e geralmente realizada em laboratórios de referência. Embora testes bioquímicos e a capacidade dos bacilos se tornarem fluorescentes sob luz ultravioleta de onda longa sejam úteis para diferenciar as espécies, estas só podem ser identificadas definitivamente através da análise dos ácidos graxos de cadeia ramificada da parede celular e do sequenciamento de genes espécie-específicos.

Sorologia

A legionelose causada por *L. pneumophila* do sorotipo 1 é comumente diagnosticada pelo uso de testes imunoenzimáticos (TI) ou imunofluorescência indireta (II) para medir a resposta sérica à infecção. Um aumento no título de anticorpos de 4 vezes ou mais (a um título de 1:128 ou mais) é considerado diagnóstico. Entretanto, estes testes são pouco sensíveis e não são específicos, particularmente quando anticorpos policlonais são utilizados. A resposta pode ser tardia. Embora um aumento significativo no título possa ser detectado em 25% a 40% dos pacientes nas primeiras semanas da doença, para o restante dos pacientes pode ser necessário mais de 6 meses para a soroconversão. Títulos altos podem persistir por períodos prolongados de tempo, por isso um título alto de anticorpos não pode ser utilizado para definir a doença ativa.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os testes de suscetibilidade *in vitro* para *Legionella* não são realizados porque os microrganismos crescem pouco nos meios comumente utilizados para esses testes. Adicionalmente, alguns antibióticos que parecem ativos *in vitro* são ineficazes no tratamento das infecções. Uma explicação é que esses antibióticos não penetram nos macrófagos onde as legionelas sobrevivem e se multiplicam. As experiências clínicas indicam que os **macrolídeos** (p. ex., azitromicina, claritromicina) ou **fluoroquinolonas** (p. ex., ciprofloxacina, levofloxacina) podem ser utilizados para tratar as infecções por *Legionella*. Macrolídeos modernos têm substituído a eritromicina. Os antibióticos β-lactâmicos são ineficazes, pois a maioria dos isolados produz β-lactamases, e estes antibióticos não penetram nos macrófagos. Geralmente, a terapia específica para a febre de Pontiac é desnecessária, por ser uma doença de hipersensibilidade autolimitada.

A prevenção da legionelose requer identificação da fonte ambiental do microrganismo e redução da carga microbiana. A hipercloração do suprimento de água e a manutenção de temperaturas elevadas mostraram-se moderadamente eficazes. Entretanto, a eliminação de *Legionella* no suprimento de água frequentemente é difícil ou impossível. Como o microrganismo possui baixo potencial de causar doença, a redução do número de microrganismos no suprimento de água, frequentemente representa uma medida de controle adequada. Hospitais com pacientes de alto risco para a doença devem monitorar regularmente seu abastecimento de água e sua população hospitalar para a doença para a presença de *Legionella*. Se a hipercloração ou o superaquecimento da água não eliminar a doença (a eliminação completa dos microrganismos no suprimento de água provavelmente não é possível), a ionização contínua dos suprimentos de água pelo cobre-prata poderá ser necessária.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 73 anos de idade foi admitido no hospital com dificuldade de respirar, dor no peito, calafrios e febre, com vários dias de duração. Ele estava bem 1 semana antes da admissão, quando notou o início de uma dor de cabeça persistente e tosse produtiva. O paciente fumava dois maços de cigarros por dia há mais de 50 anos e bebia seis latas de cerveja diariamente; também tinha história de bronquite. Os resultados dos exames físicos revelaram sofrimento respiratório, temperatura de 39°C, pulso de 120 batimentos/minuto, frequência respiratória de 36 inspirações/minuto e pressão sanguínea de 145/95. A radiografia do peito mostrou um infiltrado nos lobos médio e inferior do pulmão direito. A contagem de leucócitos foi de 14.000 células/mm^3 (80% eram neutrófilos polimorfonucleares). A coloração de Gram do escarro evidenciou neutrófilos, mas não bactérias, e as culturas bacterianas de rotina do escarro e do sangue foram negativas para microrganismos. Suspeitou-se de infecção por *Legionella pneumophila*.

1. Quais testes laboratoriais poderiam ser utilizados para confirmar este diagnóstico? Por que a coloração de Gram e a cultura de rotina da amostra foram negativas para *Legionella*?

1. Uma variedade de testes laboratoriais pode ser usada para diagnosticar infecções por *Legionella*, incluindo microscopia, cultura, testes com antígenos, PCR e sorologia. A coloração de Gram (usada neste caso) geralmente é negativa porque os bacilos Gram negativos são delgados demais para serem observados em espécimes clínicos. Testes diretos com anticorpos fluorescentes, antes usados, foram abandonados pela maioria dos laboratórios devido à baixa sensibilidade e reações cruzadas com outros organismos. Cultivo em meio apropriado (BCYE) com incubação prolongada é um teste sensível e específico. A maioria dos pacientes terá cultura positiva quando as culturas forem incubadas por pelo menos uma semana. Uma vez que esta bactéria requer L-cisteína e sais de ferro para isolamento primário, não haverá crescimento em agar sangue ou agar chocolate. Foi desenvolvido um antígeno

urinário específico e sensível para *Legionella pneumophila* sorogrupo 1. Este é o sorogrupo mais frequentemente implicado na doença. O teste pode ter reação com outros grupos, mas não deve ser usado sem outros testes diagnósticos (cultura ou PCR). O teste de escolha é o PCR por ser sensível e específico; entretanto muitos laboratórios não realizam esse teste de rotina. A sorologia pode ser usada para confirmar exposição prévia à *Legionella* ou infecção corrente, se for observado um aumento significativo de anticorpos. A soroconversão pode demorar até 6 meses. Reações cruzadas podem ocorrer, de modo que a sorologia tem valor limitado na confirmação da infecção por *Legionella*.

2. Como as espécies de *Legionella* são capazes de sobreviver à fagocitose pelos macrófagos alveolares?

2.*Legionella* é capaz de penetrar nas células, inicialmente ligando o complemento a uma porina de membrana e depois com receptores na superfície dos fagócitos mononucleares. Após a fagocitose as bactérias inibem a fusão com o lisossomo. Assim, o organismo é capaz de se replicar nos vacúolos intracelulares sem exposição ao superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila tóxicos.

3. Quais os fatores ambientais implicados na disseminação das infecções por *Legionella*? Como este risco pode ser minimizado ou eliminado?

3.*Legionella* é capaz de sobreviver em reservatórios naturais de água, e em biofilme em unidades de ar condicionado e sistemas como chuveiros e canos de banheiras. A bactéria pode sobreviver à exposição com água quente e desinfetantes. Na natureza a bactéria parasita amebas de vida livre e pode sobreviver neste nicho protegido. Ainda que o organismo não possa ser eliminado das fontes naturais, os sistemas de água devem ser limpos usando hipercloração, superaquecimento ou ionização contínua do suprimento de água (para questões sérias como infecções nosocomiais documentadas).

Bibliografia

Edelstein P. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires disease: Time for a change. *Ann Intern Med*. 1998;129:328-330.

Edelstein P. Urine antigen tests positive for Pontiac fever: Implications for diagnosis and pathogenesis. *Clin Infect Dis*. 2007;44:229-231.

Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and legionnaires disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:506-526.

Greenberg D. et al: Problem pathogens: Paediatric legionellosis implications for improved diagnosis. *Lancet*. 2006;6:529-535.

Hayden RT. et al: Direct detection of Legionella species from bronchoalveolar lavage and open lung biopsy specimens: Comparison of LightCycler PCR, in situ hybridization, direct fluorescence antigen detection, and culture. *J Clin Microbiol*. 2001;39:2618-2626.

Helbig JH. et al: Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial legionnaires disease. *J Clin Microbiol*. 2003;41:837-840.

Kim MJ. et al: Characterization of a lipoprotein common to Legionella species as a urinary broad-spectrum antigen for diagnosis of legionnaires disease. *J Clin Microbiol*. 2003;41:2974-2979.

Modol J. et al: Hospital-acquired legionnaires disease in a university hospital: Impact of the copper-silver ionization system. *Clin Infect Dis*. 2007;44:263-265.

Sopena N. et al: Factors related to persistence of Legionella urinary antigen excretion in patients with legionnaires disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21:845-848.
Stout J, Yu V. Legionellosis. *N Engl J Med*. 1997;337:681-687.

38 Bastonetes Gram Negativos Diversos

Diversos bastonetes Gram negativos, clinicamente importantes, não discutidos nos capítulos anteriores são assunto deste capítulo (Quadro 38-1).

Quadro 38-1 Outros Bastonetes Gram Negativos com Importância Médica.

Microrganismo	Etimologia
Bartonella	*Bartonella*, nomeada devido a *Barton*, que originalmente descreveu *B. bacilliformis*
B. bacilliformis	*bacillus*, “bastonete”; *forma* “forma” (tem forma de bastonete)
B. henselae	*hensel*, nomeado devido a D.M. *Hensel* que trabalhou com esse microrganismo.
B. Quintana	*quintana*, “quinto” (refere-se à febre de 5 dias)
Cardiobacterium hominis	*cardia*, “coração”, *bakterion*, “pequenos bastonetes”; *hominis*, do “homem” (refere-se à predileção desse microrganismo em causar endocardite no homem).
Capnocytophaga	*capno*, “fumaça”; c*ytophaga*, “comedora” (literalmente comedora de fumaça, refere-se à necessidade de dióxido de carbono para seu crescimento).
Streptobacillus moniliformis	*streptos*, “torcido” ou “curvo”; *bacillus*, “bastonetes”; *monile*, “colar”; *forma* “forma” (bastonetes torcidos em forma de colar; refere-se à morfologia pleomórfica da bactéria).

Bartonella

Assim como para muitos grupos de bactérias estudadas nos últimos anos, a análise do gene do ácido ribonucleico ribossomal 16S (rRNA) levou à reorganização do gênero *Bartonella*. Atualmente, 19 espécies estão incluídas no gênero, com três espécies mais comumente associadas à doença humana: ***B. bacilliformis, B. henselae*** e ***B. quintana*** (Quadro 38-2). Os membros do gênero são bastonetes curtos (0,3 a 0,5 × 1,0 a 1,7μm), Gram negativos, aeróbicos, com exigências nutricionais para crescimento. Embora os microrganismos possam crescer em agar sangue enriquecido, a incubação prolongada (1 a 6 semanas) em atmosfera úmida (37°C) suplementada com dióxido de carbono é necessária para o seu isolamento inicial.

Quadro 38-2 Resumos Clínicos

Bartonella bacilliformis

Doença de Carrión: caracterizada por doença febril aguda, consistindo de anemia grave **(febre de Oroya)**, seguida de nódulos cutâneos, crônicos, preenchidos com sangue **(verruga peruana)**

Bartonella Quintana

Febre das trincheiras: doença caracterizada por cefaleia severa, febre, fraqueza e dor nos ossos longos; a febre reaparece em intervalos de cinco dias

Angiomatose bacilar: doença proliferativa vascular em pacientes imunocomprometidos; que afeta a pele, tecido subcutâneo e ossos

Endocardite subaguda: infecção branda, mas progressiva do endocárdio

Bartonella henselae

Angiomatose bacilar: o mesmo que acima, exceto pelo envolvimento inicial da pele, dos linfonodos, ou do baço e do fígado

Endocardite subaguda: o mesmo que acima

Doença da arranhadura do gato: linfadenopatia local crônica associada ao arranhão de gato

Cardiobacterium hominis

Endocardite subaguda: o mesmo que acima

Capnocytophaga spp

Infecções oportunistas: variedade de infecções, incluindo periodontite, bacteremia e endocardite (por espécies fermentadoras disgônicas 1 [DF-1]); feridas de mordidas de cão ou gato (por espécies do grupo DF-2)

Streptobacillus moniliformis

Febre da mordida do rato: febre irregular, cefaleia, calafrios, dores musculares e artralgia associada à mordida de roedor; faringite e vômitos estão associados à ingestão de alimentos ou água contaminados

Membros do gênero *Bartonella* são encontrados em uma variedade de reservatórios animais nos quais estão tipicamente presentes sem evidência de doença. A disseminação da maioria das espécies de *Bartonella* a partir de animais colonizados para seres humanos se dá tanto pelo contato direto como por **insetos vetores** (p. ex., *B. bacilliformis*, **flebotomínios**; *B quintana*, **piolho**; *B. henselae*, **pulgas)**. A maioria das infecções por *Bartonella* é caracterizada por **febres recorrentes** e/ou **lesões angioproliferativas** (cistos com sangue).

B. bacilliformis, o membro original do gênero, é responsável pela doença de Carrión, uma **doença febril aguda** que consiste em **anemia** grave **(febre de Oroya)** seguida por uma forma **cutânea** crônica (**verruga peruana**). A doença é restrita à região montanhosa do Andes do Peru, Equador e Colômbia, regiões endêmicas do vetor *Phlebotomus*. Após a picada de um mosquito infectado, as bactérias entram no sangue, multiplicam-se e penetram nos eritrócitos. Este processo aumenta a fragilidade das células infectadas e facilita sua remoção pelo sistema reticuloendotelial, levando à anemia aguda. Mialgia, artralgia, e cefaleia também são comuns. Esta fase da doença termina com o desenvolvimento de imunidade humoral. Na fase crônica da doença de Carrión, nódulos cutâneos de 1 a 2cm, frequentemente intumescido com sangue (angioproliferativo), aparecem no período de 1 a 2 meses e podem persistir por meses a anos. A associação entre as lesões de pele da verruga peruana e febre Oroya foi demonstrada pelo estudante peruano Daniel Alcides Carrión, no século XIX, que se autoinfectou com aspirados de lesões cutâneas e morreu de febre Oroya em 1885. Este ato de imprudência científica o imortalizou.

Bartonella quintana foi originalmente descrita como o microrganismo causador da **febre das trincheiras** (também chamada febre "**dos 5 dias**"; Quadro 38-2), uma doença prevalente durante a Primeira Guerra Mundial. A infecção pode variar de assintomática a doença debilitante grave. Tipicamente o paciente tem forte dor de cabeça, febre, fraqueza e dor nos ossos longos (particularmente a tíbia). Febre recorrente pode ocorrer em intervalos de 5 dias, daí o nome da doença. Embora a febre das trincheiras não cause morte, a doença pode ser muito grave. Nenhum reservatório animal desta doença foi identificado. Por outro lado, a exposição a fezes contaminadas do **piolho humano do corpo** dissemina a doença de pessoa a pessoa.

B. quintana está também associada com uma variedade de doenças em pacientes imunocomprometidos, particularmente pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). As infecções manifestam-se como **febre recorrente com bacteremia** (Caso Clínico 38-1) e **angiomatose bacilar**. A bacteremia é caracterizada por um início insidioso de mal-estar, dores no corpo, fadiga, perda de peso, dor de cabeça e febre recorrente. Isto pode levar à endocardite, ou mais comumente, a doenças proliferativas vasculares de pele (angiomatose bacilar; Fig. 38-1), tecidos subcutâneos, ou ossos. As lesões vasculares aparecem como nódulos múltiplos preenchidos de sangue (lembrando a verruga peruana). Como no caso da febre das trincheiras, o vetor desta doença parece ser o piolho humano, e a doença está primariamente restrita a pessoas sem moradia, nas quais a higiene pessoal é abaixo do padrão.

Caso Clínico 38-1 Febre e Bacteremia Causadas por *Bartonella*

Slater et al. (N Engl J Med 3323:1587-93,1990) descreveram o primeiro caso de infecção por *Bartonella henselae* em um paciente infectado com HIV. Um homem de 31 anos com infecção avançada por HIV apresentou febre, calafrios, sudorese e perda de peso. As hemoculturas foram negativas após 2 dias de incubação. A despeito da resposta inicial à terapia com antibiótico oral, a febre retornou após duas semanas. O paciente era pancitopênico e tinha níveis de enzimas hepáticas aumentados. Hepatomegalia foi a única

anormalidade detectada por tomografia computadorizada. Todos os testes diagnósticos foram negativos por mais de duas semanas de incubação, quando bastonetes Gram negativos foram recuperados nas hemoculturas. Estudos subsequentes caracterizaram a bactéria como um novo microrganismo que foi nomeado *B. henselae*. O paciente foi tratado com eritromicina parenteral e, apesar de febre recorrente, as culturas seguintes foram negativas. Este paciente ilustra a suscetibilidade de pacientes com HIV a infecções por este microrganismo bem como o início insidioso e o curso prolongado da doença.

Figura 38-1 Lesões cutâneas de angiomatose bacilar causadas por *Bartonella henselae*.

(De Cohen J, Powderly WG: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

B. henselae também é responsável por angiomatose bacilar; entretanto, compromete primariamente a pele, os linfonodos, o fígado (**peliose hepática**) ou baço (**peliose esplênica**). As razões para esta afinidade tecidual diferencial não são conhecidas. Assim como *B. quintana, B. henselae* pode causar endocardite subaguda. Os reservatórios de *B. henselae* são gatos e seus piolhos. A bactéria é carreada assintomaticamente na orofaringe do felino e pode causar bacteremia transitória, particularmente em gatos jovens ou selvagens. *B. henselae* é responsável por outra doença adquirida após exposição a gatos (p. ex., arranhões, mordidas, contato com fezes contaminadas das pulgas de gatos): **doença da arranhadura do gato**. Tipicamente, esta doença é uma infecção benigna em crianças, caracterizada por **adenopatia regional crônica** dos linfonodos que drenam a região de contato. Embora a bactéria possa ser visualizada nos tecidos do linfonodo, a cultura é quase sempre negativa. O diagnóstico definitivo é baseado na apresentação clínica característica e evidência sorológica de infecção recente. Culturas não são úteis, porque relativamente poucos microrganismos estão presentes nos tecidos como resultado da forte resposta imune celular nos pacientes imunocompetentes. Em contraste, *B. henselae* pode ser isolada de sangue coletado de pacientes imunocomprometidos com bacteremia crônica, se as culturas forem incubadas por 3 semanas ou mais (Fig. 38-2).

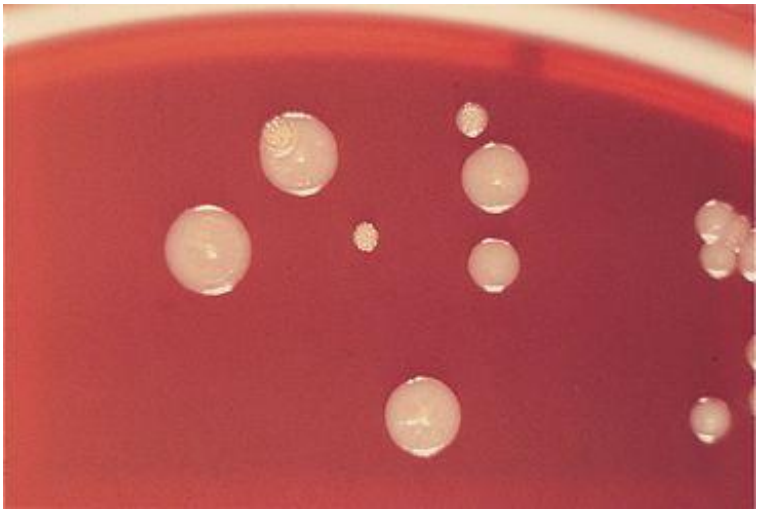


Figura 38-2 Crescimento de *B. henselae* em placa de agar sangue; observar as duas morfologias típicas das colônias.

(De Cohen J, Powderly WG: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

O tratamento das infecções por *B. bacilliformis* é com cloranfenicol oral, doxiciclina ou rifampicina. A eritromicina oral ou a doxiciclina são mais comumente usadas para o tratamento de infecções por outras espécies de *Bartonella*. Embora o valor do tratamento da doença da arranhadura do gato seja controverso, a azitromicina é o fármaco de escolha se o tratamento for prescrito. As penicilinas penicilinase-resistente, cefalosporinas de primeira geração e clindamicina parecem não ter atividade *in vitro* contra *Bartonella*. A incidência de infecções por *Bartonella* em pacientes infectados pelo HIV tem diminuído nos últimos anos devido ao tratamento desses pacientes de forma rotineira com azitromicina ou claritromicina para prevenção de infecções por *Mycobacterium avium*.

Cardiobacterium

Cardiobacterium hominis recebe este nome pela predileção desta bactéria para causar endocardite em seres humanos. Estas bactérias são bastonetes Gram negativos ou Gram variáveis, pleomórficos, imóveis, anaeróbios facultativos e caracteristicamente pequenos (1 × 1 a 2µm). As bactérias são fermentativas, oxidase positivas, e catalase negativas. *C. hominis* está presente no trato respiratório superior de aproximadamente 70% dos indivíduos sadios.

Embora incomum, a **endocardite** é a principal doença humana causada por *C. hominis* (Caso Clínico 38-2). Muitas infecções tendem a não ser reportadas ou não diagnosticadas devido à baixa virulência deste microrganismo e do seu crescimento lento *in vitro*. Muitos dos pacientes com endocardite por *C. hominis* têm **doença cardíaca preexistente** e história de doença oral, ou submeteram-se a procedimentos odontológicos antes de desenvolverem os sintomas clínicos. Os microrganismos são capazes de entrar no sangue a partir da orofaringe, aderir ao tecido cardíaco danificado, e então se multiplicar lentamente. A evolução da doença é insidiosa e subaguda; pacientes tipicamente têm sintomas (p. ex., fadiga, mal-estar e febre baixa) durante meses antes de procurarem cuidados médicos. Complicações são raras, e a recuperação completa após antibioticoterapia apropriada é frequente.

Caso Clínico 38-2 Endocardite por *Cardiobacterium*

Hoover et al. (Ann Intern Med 142(3):229-230,2005) descreveram o primeiro caso de paciente infectado com *Cardiobacterium valvarum* (uma nova espécie descrita no gênero *Cardiobacterium*). O paciente era um homem de 46 anos de idade que durante o período de um mês desenvolveu anorexia e fadiga. Os sintomas apareceram duas semanas após uma extração dentária. Ao exame físico apresentava fadiga importante, edema nas extremidades inferiores e um novo sopro cardíaco. Efusões bilaterais na pleura foram observadas na radiografia de tórax. Todas as culturas de sangue coletadas no período de 24 horas foram positivas para um bastonete Gram negativo pleomórfico, identificado posteriormente como *C. valvarum*. O manejo do paciente incluiu a substituição da válvula aórtica por uma prótese e tratamento com ceftriaxona por 4 semanas. As visitas de acompanhamento do paciente documentaram a recuperação completa. Este caso ilustra a apresentação subaguda e a evolução geralmente bem-sucedida para pacientes com endocardite por *Cardiobacterium*. O que é único neste caso é o fato de que o paciente não tinha história prévia de doença cardíaca, embora seja provável que estivesse presente.

O isolamento de *C. hominis* a partir de culturas de sangue confirma o diagnóstico de endocardite. O microrganismo cresce lentamente em cultura, exigindo uma semana ou mais para que seu crescimento seja detectado. Nas culturas em meio líquido *C. hominis* aparece sob a forma de discretos grumos que podem facilmente não ser percebidos. O microrganismo exige a presença de dióxido de carbono e níveis de umidade aumentados para crescer em meios contendo agar, sendo observadas colônias puntiformes (1mm) em placas de agar sangue e agar chocolate após 2 dias de incubação. O microrganismo não cresce em agar MacConkey ou outros meios seletivos comumente usados para bastonetes Gram negativos. *C. hominis* pode ser facilmente identificado por suas propriedades de crescimento, morfologia microscópica e reatividade em testes bioquímicos

C. hominis é suscetível a muitos antibióticos, e muitas infecções são tratadas com sucesso com **penicilina ou ampicilina** por duas a seis semanas (embora amostras resistentes à penicilina tenham sido descritas). Endocardite por *C. hominis* em pessoas com cardiopatia preexistente é prevenida pela manutenção da higiene oral e o uso de profilaxia com antibióticos no momento de procedimentos odontológicos. Penicilinas de absorção lenta constituem profilaxia eficaz, porém a eritromicina não deve ser usada, porque *C. hominis* comumente é resistente a este antibiótico.

Capnocytophaga e *Dysgonomonas*

Membros do gênero ***Capnocytophaga*** são bastonetes Gram negativos filamentosos, capazes de crescimento aeróbio ou anaeróbio, na presença de dióxido de carbono. O gênero é subdivido em dois grupos: (1) fermentadores disgônicos 1 (DF-1), com cinco espécies; e (2) fermentadores disgônicos 2 (DF-2), com duas espécies. As amostras DF-1 colonizam a orofaringe humana e estão associadas à periodontite, septicemia (particularmente em pacientes que tenham se submetido à esplenectomia prévia ou que tenham as funções hepáticas comprometidas [cirrose]), e, raramente, endocardite. As amostras DF-2 colonizam as cavidades orais de gatos e cães e estão associadas à mordida desses animais. Um terceiro grupo de três espécies foi transferido para um novo gênero, ***Dysgonomonas*.** Estas bactérias estão associadas à gastrenterite em pacientes imunocomprometidos.

Capnocytophaga inicia lentamente o crescimento em cultura, levando pelo menos 2 dias antes das colônias serem observadas em placas de agar sangue. As células bacterianas são longas e finas com extremidades em forma de fuso (fusiformes). Devido à produção de betalactamases por algumas cepas de *Capnocytophaga*, o tratamento com a combinação de β-lactâmicos inibidores de β-lactamases, como **amoxacilina-clavulanato**, é recomendado. A resistência de algumas cepas a fluoroquinolonas tem sido relatada e a maioria é resistente aos aminoglicosídeos.

Streptobacillus

***Streptobacillus moniliformis*, o** agente causador da **febre da mordida do rato**, é um bacilo Gram negativo longo, fino (0,1 a 0,5 × 1 a 5µm), que tende a corar-se pouco e a ser mais pleomórfico em culturas antigas. Grânulos, intumescimentos bulbosos semelhantes a um cordão de contas e filamentos extremamente longos podem ser observados (Fig. 38-3).

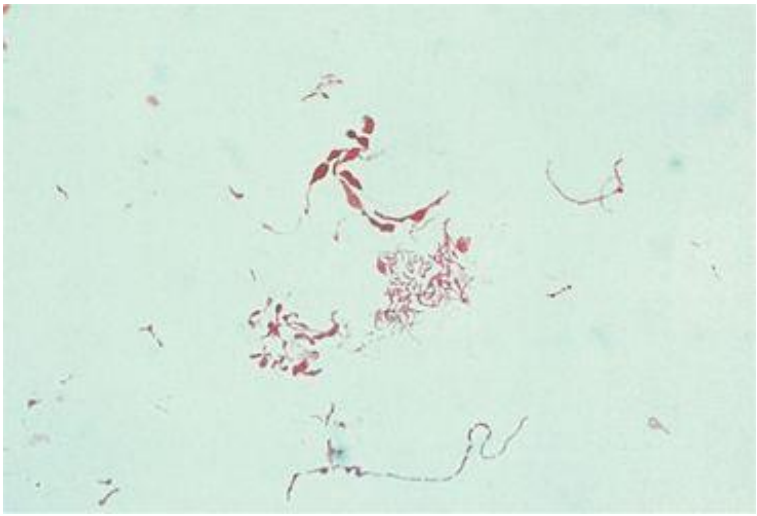


Figura 38-3 Coloração de Gram de *Streptobacillus moniliformis*; observar as formas pleomórficas e dilatações em forma de bulbo.

Streptobacillus é encontrado na nasofaringe de ratos e outros pequenos roedores, assim como transitoriamente em animais que se alimentam de roedores (p. ex., cães, gatos). As infecções humanas são resultantes de mordidas de roedores (**febre da mordida do rato**; Caso Clínico 38-3) ou, menos comumente, pelo consumo de alimentos ou água contaminados (**febre de Haverhill**). A maioria dos casos de febre da mordida do rato, nos Estados Unidos, ocorre em crianças que têm hamsters de estimação, profissionais de laboratório e empregados de lojas de animais. Após um período de incubação de 2 a 10 dias, o início da febre da mordida do rato é abrupto, caracterizado por febre irregular, dor de cabeça, calafrio, dores musculares e dor migratória em múltiplas articulações (poliartralgias). Erupções cutâneas maculopapulares ou petequiais desenvolvem-se poucos dias depois, com o envolvimento se estendendo para mãos e pés. Essas erupções hemorrágicas em pacientes com história recente de mordida de rato e poliartralgia migratória fornecem o diagnóstico. Na ausência de antibióticos eficazes, a febre da mordida do rato está associada a 10% de mortalidade. Apesar da antibioticoterapia eficaz, alguns pacientes têm poliartralgia persistente, fadiga, e uma resolução arrastada das erupções. *S.moniliformis* é suscetível a muitos antibióticos, incluindo **penicilina** (não ativa contra formas deficientes em parede celular) e **tetraciclina**.

Caso Clínico 38-3 Febre da Mordida do Rato

Irvine (Clin Microbiol Newsl 28:15-17,2006) descreveu um homem de 60 anos de idade que desenvolveu a febre da mordida do rato. O paciente foi admitido no hospital com queixa de febre, confusão, dores de cabeça e lesões pustulares em ambas as mãos. O diagnóstico de sepse foi feito, e culturas de sangue, LCR e material purulento das lesões foram coletados. As células predominantes no LCR foram os linfócitos, e nenhuma bactéria foi observada na coloração de Gram, o que era consistente com meningite asséptica. A coloração de Gram do material purulento mostrou bastonetes Gram negativos pleomórficos. Após três dias de incubação, a bactéria cresceu nas culturas do sangue e das lesões. O crescimento no meio líquido da hemocultura era formado de grumos de organismos com aparência de migalhas de pão. O microrganismo foi identificado como *Streptobacillus moniliformis*. O paciente foi tratado

com penicilina, e em 24 horas teve resolução da febre e restabelecimento da consciência. Uma história social mais completa mostrou que o paciente tinha uma cobra de estimação, e que mantinha ratos para alimentar a cobra. Embora ele não se lembrasse de mordidas recentes de rato, a exposição de cortes abertos em suas mãos a roedores é suficiente para o desenvolvimento da infecção.

A confirmação laboratorial das infecções por *Streptobacillus* é difícil. Sangue e líquidos articulares devem ser coletados, e o laboratório deve ser informado sobre a suspeita de *S.moniliformis*, uma vez que o microrganismo requer o uso de meios enriquecidos suplementados com 15% de sangue, 20% de soro de cavalo ou vitelo, ou 5% de líquido de ascite. *S. moniliformis* cresce lentamente, levando pelo menos 3 dias para ser isolado. Quando cultivados em meios líquidos, têm aspecto semelhante a "cogumelos"; em meios com agar são observadas colônias pequenas, arredondadas, e colônias com aspecto de ovo frito, características das formas deficientes em parede celular. É difícil identificar esses microrganismos, pois eles são relativamente inativos, embora ocorra a produção de ácidos a partir da glicose e outros carboidratos selecionados. O método mais confiável para a sua identificação é o sequenciamento do gene 16S rRNA.

Estudo de Caso e Questões

Uma menina de 12 anos de idade previamente sadia desenvolveu uma linfadenopatia axilar de aumento lento. Uma semana antes do início da doença, ela havia sofrido um arranhão ao brincar com um gatinho. O diagnóstico suspeito pelo seu médico foi de doença da arranhadura do gato.

1. Qual o teste diagnóstico mais sensível para confirmar esta suspeita?

1. A maioria dos casos de doença da arranhadura do gato é causada por *Bartonella henselae*. Geralmente poucos organismos estão presentes nos tecido, de modo que a microscopia e a cultura raramente são úteis. Em contraste, nas infecções em pacientes HIV as culturas têm valor na confirmação de septicemia por *Bartonella*. O diagnóstico definitivo da doença da arranhadura do gato é feito por evidência sorologia de uma infecção recente. Podem ocorrer infecções cruzadas com *Coxiella* e *Chlamydia*.

2. Que infecções são causadas por *Bartonella quintana* e *Bartonella henselae*? De que modo a epidemiologia dessas infecções difere-se?

2 . *Bartonella quintana* causa febre das trincheiras, endocardite bacteriana subaguda e angiomatose bacilar. *B. henselae* causa doença da arranhadura do gato, angiomatose bacilar, peliose hepática, endocardite bacteriana subaguda e bacteremia crônica em pacientes imunocomprometidos. A doença da arranhadura do gato (como sugere o nome) está associada com a exposição a gatos (arranhões, mordidas, contato com mosca do gato). *Bartonella* está na orofaringe do gato e é transferida para as garras durante procedimentos de limpeza e manuseio. Não existe reservatório animal de *B. quintana*, as infecções são transmitidas de pessoa a pessoa através do piolho humano.

3. Que infecções são causadas por *Cardiobacterium*? E por *Streptobacillus*?

3.*Cardiobacterium* (como o nome sugere) causa endocardite. *Streptobacillus* é um dos agentes etiológicos da febre da mordedura do rato. O consumo de alimentos ou água contaminada pode produzir uma doença (febre de Haverhill) caracterizada por faringite e vômito.

Bibliografia

Agan BK, Dolan MJ. Laboratory diagnosis of Bartonella infections. *Clin Lab Med*. 2002;22:937-962.

Anderson B, Neuman M. Bartonella spp. as emerging human pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10:203-219.

Elliott S. Rat bite fever and Streptobacillus moniliformis. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:13-22.

Koehler J. et al: Molecular epidemiology of Bartonella infections in patients with bacillary angiomatosis-peliosis. *N Engl J Med*. 1997;337:1876-1883.

Koehler J. et al: Prevalence of Bartonella infection among human immunodeficiency virus-infected patients with fever. *Clin Infect Dis*. 2003;37:550-666.

La Scola B, Raoult D. Culture of Bartonella quintana and Bartonella henselae from human samples: A 5-year experience (1993 to 1998). *J Clin Microbiol*. 1999;37:1899-1905.

Malani A. et al: Cardiobacterium hominis endocarditis: Two cases and a review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:587-595.

Maurin M, Raoult D. Bartonella (Rochalimaea) quintana infections. *Clin Microbiol Rev*. 1996;9:273-292.

Metzkor-Cotter E. et al: Long-term serological analysis and clinical followup of patients with cat scratch disease. *Clin Infect Dis*. 2003;37:1149-1154.

Resto-Ruiz S, Burgess A, Anderson B. The role of the host immune response in pathogenesis of Bartonella henselae. *DNA Cell Biol*. 2003;22:431-440.

Spach D. et al: Bartonella (Rochalimaea) species as a cause of apparent “culture-negative” endocarditis. *Clin Infect Dis*. 1995;20:1044-1047.

Zeaiter Z. et al: Phylogenetic classification of Bartonella species by comparing groEL sequences. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002;52:165-171.

39 Clostridium

Historicamente, todos os bacilos anaeróbios Gram positivos formadores de endósporos eram alocados no gênero *Clostridium*. A definição desse gênero era baseada em quatro propriedades: (l) presença de endósporos; (2) metabolismo anaeróbio obrigatório; (3) impossibilidade de reduzir sulfato a sulfito; e (4) estrutura de parede celular de Gram positivos. Mesmo com a utilização deste amplo sistema de classificação, alguns membros clinicamente significativos desse gênero podem ser erroneamente classificados. A presença de esporos é raramente demonstrada em algumas espécies (*C. perfringens, C. ramosum*), algumas são aerotolerantes e podem crescer em agar exposto ao ar (p. ex., *C. tertium, C. histolyticum*) e outras espécies se coram como Gram negativos (p. ex., *C. ramosum, C. clostridioforme*). O método tradicional para classificar um isolado no gênero *Clostridium* era baseado em uma combinação de testes diagnósticos, incluindo a demonstração de esporos, crescimento ótimo em condições anaeróbias, um padrão complexo de reatividade bioquímica e a detecção de ácidos graxos voláteis característicos através de cromatografia gasosa. Com essa metodologia, 191 espécies foram definidas, embora a maioria dos isolados clinicamente importantes represente poucas espécies (Tab. 39-1). Não foi surpreendente que o sequenciamento de genes tenha levado à reorganização desta coleção heterogênea de organismos em vários grupos para representar adequadamente novos gêneros. No entanto, a maioria das espécies de *Clostridium* clinicamente significativas é homóloga ao grupo I e permaneceram no gênero *Clostridium*.

Tabela 39-1 Clostrídios Patogênicos e Doenças Humanas Associadas*

Espécie	Doença Humana	Frequência
C. difficile	Diarreia associada a antibióticos, colite pseudomembranosa	Comum
C. perfringens	Infecções de tecidos moles (p. ex., celulite, miosite supurativa, mionecrose, gangrena gasosa), intoxicação alimentar, enterite necrotizante, septicemia	Comum
C. septicum	Gangrena gasosa, septicemia	Incomum
C. botulinum	Botulismo	Incomum
C. tetani	Tétano	Incomum
C. tertium	Infecções oportunistas	Incomum
C. baratii	Botulismo	Rara
C. butyricum	Botulismo	Rara
C. clostridioforme	Infecções oportunistas	Rara
C. histolyticum	Gangrena gasosa	Rara
C. innocuum	Infecções oportunistas	Rara
C. novyi	Gangrena gasosa	Rara
C. sordellii	Gangrena gasosa, síndrome de choque séptico	Rara
C. sporogenes	Infecções oportunistas	Rara

***** *Outras espécies de* Clostridium *têm sido associadas a doenças humanas, mas principalmente como patógenos oportunistas. Adicionalmente, algumas espécies (p. ex.*, C. clostridioforme, C. innocuum, C. ramosum*) são comumente isoladas, mas raramente associadas a doenças.*

Esses organismos são **ubíquos** no solo, água e esgotos e fazem parte da microbiota gastrintestinal residente em seres humanos e outros animais. A maioria é saprófita e inofensiva, mas alguns são patógenos humanos bem reconhecidos e com histórico claramente documentado por causar doenças como o **tétano** (*C. tetani*), **botulismo** (*C. botulinum, C. baratii, C. butyricum*), mionecrose ou **gangrena gasosa** (*C. perfringens, C. novyi, C. septicum, C. histolyticum*) e **diarreia** e **colite** (*C. perfringens, C. difficile*). A maioria das infecções observadas hoje em dia é de pele, tecidos moles, intoxicação alimentar e diarreia, e colite associada ao tratamento com antibióticos. A notável capacidade de *Clostridium* ssp. em

causar doenças é atribuída a: (1) habilidade de sobreviver em condições ambientais adversas, graças à formação de esporos; (2) um rápido crescimento em ambiente nutricionalmente rico e privado de oxigênio; e (3) produção de inúmeras toxinas histolíticas, enterotoxinas e neurotoxinas. Os patógenos humanos mais frequentes ou importantes do gênero são discutidos neste capítulo (Quadro 39-1).

Quadro 39-1 Clostrídios Importantes

Organismo	Etimologia
Clostridium	*closter*, um “fuso”
C. botulinum	*botulus*, “salsicha” (o primeiro grande surto foi associado com salsicha insuficientemente defumada)
C. difficile	*difficile* “difícil” (difícil de isolar e crescer; refere-se à extrema sensibilidade deste organismo ao oxigênio)
C. perfringens	*Perfringens* “quebrando através” (associado à necrose tecidual altamente invasiva)
C. septicum	*septicum*, “putrefativo” (associada com sepse e elevada taxa de mortalidade)
C. sordellii	*sordellii*, em homenagem ao bacteriologista *Sordelli*, quem primeiro descreveu o organismo
C. tertium	*tertium*, “terceiro” (historicamente, o terceiro anaeróbio mais comumente isolado de feridas de guerra)
C. tetani	*tetani*, relacionado com a “tensão” (a doença causada por este organismo é caracterizada por espasmos musculares)

Clostridium perfringens (Quadro 39-2)

Fisiologia e Estrutura

C. perfringens pode ser associado a uma simples colonização ou pode causar doença grave e letal. *C. perfringens* é um bacilo grande (0,6 a 2,4 × 1,3 a 19,0µm), retangular e Gram positivo (Fig. 39-1), **com esporos raramente observados** *in vivo* ou após o cultivo *in vitro*. Este organismo é um dos poucos clostrídios imóveis, mas o **crescimento rápido e espalhado** em meios de laboratório (lembrando o crescimento de organismos móveis) (Fig. 39-2) é característico. Essa bactéria cresce rapidamente em tecidos e culturas, é hemolítica e metabolicamente ativa, características que tornam possível a identificação em laboratório. A produção de uma ou mais toxinas "letais" pelo *C. perfringens* (toxinas alfa, beta, épsilon e iota) é utilizada para subdividir os isolados em cinco tipos (de A a E).

Quadro 39-2 Resumo: *Clostridium perfringens*

Biologia, Virulência e Doença

Organismos se multiplicam rapidamente em cultura e no paciente

Produz muitas toxinas e enzimas que lisam células sanguíneas e destroem tecidos, levando a doenças como a sepse devastadora, hemólise massiva, e mionecrose

Produz uma enterotoxina de termolábil que se liga a receptores no epitélio do intestino delgado, levando à perda de fluidos e íons (diarreia aquosa)

Epidemiologia

Ubíquo; presente no solo, água e trato intestinal de seres humanos e outros animais.

Cepas tipo A são responsáveis pela maioria das infecções humanas

Infecções de tecidos moles tipicamente associadas à contaminação bacteriana de feridas ou traumas localizados

Intoxicação alimentar associada a produtos de carne contaminados, armazenados a temperaturas inferiores a 60°C, que permitem o crescimento em grande número

Diagnóstico

Adequadamente observado na coloração de Gram em amostras de tecidos (bacilos Gram positivos grandes)

Cresce rapidamente em cultura

Tratamento, Prevenção e Controle

Tratamento rápido é essencial para infecções graves

Infecções severas requerem debridamento cirúrgico e tratamento com altas doses de penicilina

Tratamento sintomático para a intoxicação alimentar

Tratamento adequado da ferida e uso criterioso de antibióticos profiláticos previnem a maioria das infecções

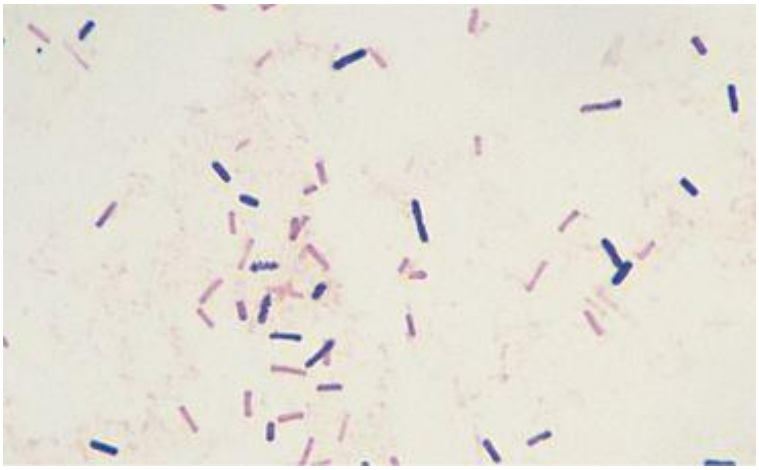


Figura 39-1 Coloração de Gram de *Clostridium perfringens* em amostra de ferida. Observe a forma retangular dos bastões, a presença de diversos bastões descorados parecendo Gram negativos e a ausência de células sanguíneas.

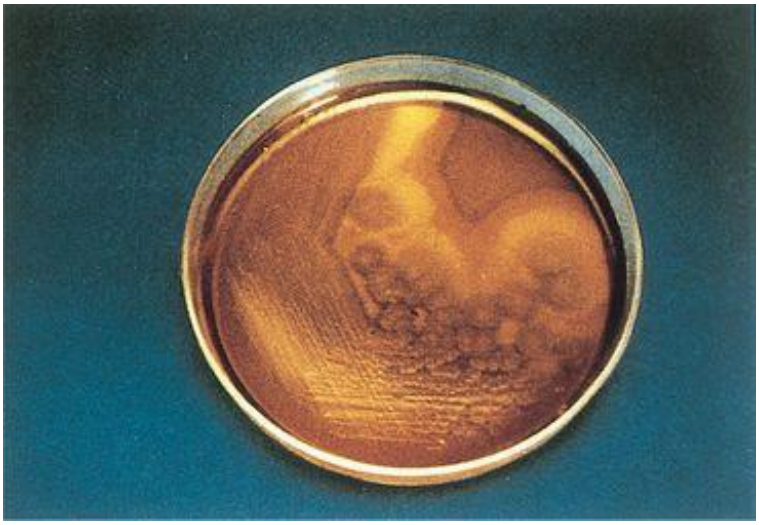


Figura 39-2 Crescimento de *Clostridium perfringens* em agar sangue de carneiro. Observe as colônias planas e espalhadas e a atividade hemolítica do organismo. A identificação presuntiva de *C. perfringens* pode ser realizada pela detecção de uma zona de hemólise total (causada pela toxina teta) e uma extensa zona de hemólise parcial (causada pela toxina alfa), combinadas com a morfologia microscópica característica.

Patogênese e Imunidade

C. *perfringens* pode causar um amplo espectro de doenças, de gastrenterite autolimitada até uma devastadora destruição do tecido (p. ex., mionecrose clostridial) associada à mortalidade muito elevada, mesmo em pacientes que recebem assistência médica precoce. Este potencial patogênico é atribuído, primariamente, a pelo menos 12 toxinas e enzimas produzidas por este organismo. **Toxina Alfa** , a toxina mais importante e produzida por todos os cinco tipos de C. *perfringens*, é uma lecitinase (fosfolipase C) que lisa hemácias, plaquetas, leucócitos e células endoteliais. Esta toxina provoca hemólise massiva, aumento da permeabilidade vascular e hemorragia (agravada por destruição de plaquetas), destruição tecidual (como a encontrada na mionecrose), toxicidade hepática e disfunção miocárdica (bradicardia, hipotensão). As maiores quantidades de alfa toxinas são produzidas por *C. perfringens* tipo A. Toxina Beta é responsável por estase intestinal, perda de mucosa com formação de lesões necróticas e progressão de enterite necrosante (**enterite necrotizante ou doença de pig-bel**). A **toxina Epsilon** é uma pró-toxina ativada pela tripsina que aumenta a permeabilidade vascular da parede gastrintestinal. **Toxina Iota**, a quarta toxina mais letal, é produzida por *C. perfringens* tipo E. Esta toxina apresenta atividade necrótica e aumenta a permeabilidade vascular.

A **enterotoxina** de *C. perfringens* é produzida principalmente por cepas do tipo A. Essa toxina termolábil é suscetível à enzima pronase. A exposição à tripsina aumenta três vezes sua toxicidade. A enterotoxina é produzida durante a transição da fase vegetativa para a fase estacionária e é liberada juntamente com os esporos maduros no estágio final da **esporulação**. O meio alcalino do intestino delgado estimula a esporulação. A enterotoxina liberada liga-se a receptores presentes nas microvilosidades da membrana das células epiteliais do intestino delgado, no íleo (principalmente) e jejuno, mas não no duodeno. A inserção da toxina na membrana celular resulta na alteração da permeabilidade e perda de fluidos e íons. A enterotoxina também atua como um superantígeno, simulando atividade de linfócitos T. Anticorpos contra enterotoxina, indicando exposição previa, são comumente encontrados em adultos, mas não são protetores.

Epidemiologia

C. perfringens tipo A comumente habita o trato intestinal de seres humanos e outros animais e é amplamente distribuído na natureza, especialmente no **solo e água contaminados com fezes** (Quadro 39-2). Esporos são formados sob condições ambientais adversas e podem sobreviver por períodos prolongados. Cepas dos tipos B a E não sobrevivem no solo, mas colonizam o trato intestinal de animais e, ocasionalmente, de seres humanos. ***C. perfringens* tipo A** é responsável pela maioria das infecções humanas, incluindo infecções em tecidos moles, intoxicação alimentar e septicemia primária. *C. perfringens* tipo C é responsável por uma outra infecção importante em seres humanos – **a enterite necrotizante**.

Doenças Clínicas (Quadro 39-3)

Infecções de Tecidos Moles

Infecções em tecidos moles causadas por *C. perfringens* são subdivididas em (1) celulite; (2) fasciite ou miosite supurativas; e (3) mionecrose ou gangrena gasosa. Clostrídios podem colonizar feridas e a pele sem consequências clínicas. Na verdade, a maioria das cepas de *C. perfringens* e de outras espécies de clostrídios isoladas de feridas não tem significado. No entanto, estes organismos também podem dar início à **celulite** (Fig. 39-3) com formação de gás em tecidos moles. Este processo pode progredir para **miosite supurativa**, caracterizada por acúmulo de pus na musculatura lisa, com ausência de necrose muscular e sintomas sistêmicos.

Quadro 39-3 Doenças Clostridiais: Sínteses de Manifestações Clínicas

Clostridium perfringens

Infecções de tecidos moles

Celulite: edema e eritema localizados com formação de gás nos tecidos moles; geralmente sem dor

Miosite supurativa: acúmulo de pus (supuração) nos músculos lisos, sem necrose muscular ou sintomas sistêmicos

Mionecrose: dolorosa, rápida destruição do tecido muscular; disseminação sistêmica com alta mortalidade

Gastroenterites

Intoxicação alimentar: rápido aparecimento de cólicas abdominais e diarreia aquosa sem febre, náuseas ou vômitos; curta duração e autolimitada

Enterite Necrotizante: aguda, destruição necrosante do jejuno com dor abdominal, vômito, diarreia sanguinolenta e peritonite

Clostridium tetani

Tétano generalizado: espasmo muscular generalizado e envolvimento do sistema nervoso autônomo em casos severos da doença (p. ex., arritmias cardíacas, flutuações da pressão arterial, sudorese profunda, desidratação)

Tétano localizado: espasmo muscular restrito à área da infecção primária

Tétano neonatal: infecção neonatal envolvendo primariamente o cordão umbilical; taxa de mortalidade muito elevada

Clostridium botulinum

Botulismo alimentar: apresentação inicial de visão turva, boca seca, constipação intestinal e dor abdominal; progressão para fraqueza descendente da musculatura periférica com paralisia flácida

Botulismo infantil: inicialmente sintomas inespecíficos (p. ex., constipação, choro fraco, atraso de crescimento), que progridem para paralisia flácida e parada respiratória

Botulismo de feridas: quadro clínico semelhante ao da doença de origem alimentar, embora o período de incubação seja mais longo e os sintomas gastrintestinais mais brandos

Botulismo por inalação: é esperado que a inalação da toxina botulínica leve a um rápido início de sintomas (paralisia flácida, insuficiência pulmonar) e alta mortalidade

Clostridium difficile

Diarreia associada ao uso de antimicrobianos: desenvolvimento de diarreia aguda geralmente 5 a 10 dias após o início do tratamento com antibiótico (especialmente clindamicina, penicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas); pode ser breve e autolimitada ou mais prolongada

Colite pseudomembranosa: forma mais grave da doença provocada por *C. difficile* com diarreia profusa, cólicas abdominais e febre; placas esbranquiçadas (pseudomembranas) sobre o tecido intacto do cólon é observado na colonoscopia

Figura 39-3 Celulite clostridial. Clostrídios podem ser introduzidos no tecido durante cirurgia ou por uma lesão traumática. Este paciente sofreu uma fratura composta da tíbia. Cinco dias após a lesão, a pele se tornou descorada e ocorreu desenvolvimento de bolhas e necrose. Um exsudato sorossanguinolento e gás subcutâneo estavam presentes, mas não houve evidência de necrose muscular. O paciente teve uma recuperação sem intercorrências.

(De Lambert H, Farrar W (eds): Infectious Diseases Ilustrated. London, Gower, 1982.)

Mionecrose clostridial é uma doença letal, que ilustra o enorme potencial de virulência de clostrídios histotóxicos. O surgimento da doença, caracterizada por dor intensa, geralmente ocorre dentro de uma semana após a introdução do clostrídio nos tecidos, por trauma ou cirurgia. O início é rapidamente seguido por extensa necrose muscular, choque, insuficiência renal e morte, muitas vezes 2 dias após a manifestação inicial. Exame macroscópico do músculo revela tecido necrótico desvitalizado. O gás encontrado no tecido é oriundo da atividade metabólica das bactérias que se multiplicam rapidamente (daí o nome **gangrena gasosa**). O exame microscópico revela numerosos bacilos retangulares e Gram positivos e ausência de células inflamatórias (resultante da lise por toxinas clostridiais). As toxinas clostridiais, caracteristicamente, causam hemólise e hemorragia extensa. Mionecrose clostridial é mais comumente causada por *C. perfringens*, embora outras espécies (p. ex., *C. septicum, C. histolyticum, e C. novyi*) também possam causar esta doença.

Intoxicação Alimentar (Caso Clínico 39-1)

Intoxicação alimentar por clostrídios, uma intoxicação relativamente comum, mas subestimada, é caracterizada por: (1) um curto período de incubação (8 a 24 horas); (2) uma apresentação clínica que inclui cólicas abdominais e diarreia aquosa, sem febre, náuseas ou vômitos; e (3) um curso clínico com duração de 24 a 48 horas. A doença resulta da ingestão de produtos à base de carne (p. ex., boi, frango, peru) contaminada com grande número (10^8 a 10^9 células) de *C. perfringens* contendo enterotoxina tipo A. O armazenamento de alimentos contaminados em temperatura inferior a 60°C (46°C é a ideal) permite que os esporos, que sobreviveram ao processo de cozimento, germinem e se multipliquem em números elevados. A rápida refrigeração dos alimentos após a preparação previne esse crescimento bacteriano. Alternativamente, o reaquecimento do alimento a 74°C pode destruir as enterotoxinas termolábeis.

Caso Clínico 39-1 Gastrenterite por *Clostridium Perfringens*

O Centers for Disease Control and Prevention descreveu um surto de gastrenterite por *C. perfringens* associada à ingestão de carne em conserva servida na celebração do dia de São Patrício (Morb Mortal Wkly Rep -MMWR 43:137, 1994). Em 18 de março de 1993, o Departamento de Saúde da Cidade de Cleveland recebeu telefonemas de 15 pessoas que adoeceram após comerem carne em conserva comprada em uma *delicatessen*. Após a divulgação pública do surto, 156 pessoas contataram o Departamento de Saúde com histórias semelhantes. Além de história de diarreia, 88% queixaram-se de cólicas abdominais e 13% de vômitos, que teve início em média 12 horas após a ingestão da carne suspeita. Uma investigação revelou que a loja havia comprado 636 quilogramas de carne crua, salgada, e a partir de 12 de março porções da carne conservada foram fervidas durante três horas, deixadas esfriar a temperatura ambiente, e então refrigeradas. Nos dias 16 e 17 de março, a carne foi retirada da geladeira, aquecida a 48,8°C e servida. Culturas de amostras da carne resultaram em > 10^5 colônias de *C. perfringens* por grama. O Departamento de Saúde recomendou que, se a carne não pudesse ser servida imediatamente após o cozimento, deveria ser rapidamente resfriada em gelo e refrigerada. E que antes de ser servida, a carne deveria ser aquecida a, pelo menos, 74°C para destruir a enterotoxina termossensível.

Enterite Necrosante

Enterite necrotizante (também conhecida como necrosante ou **doença de pig-bel**) é uma doença rara, com processo necrosante agudo no jejuno, caracterizada por dores abdominais agudas, vômitos, diarreia sanguinolenta, ulceração do intestino delgado e perfuração da parede intestinal, levando à peritonite e choque. A mortalidade em pacientes com esta infecção chega a 50%. A toxina Beta produzida por *C. perfringens* tipo C é responsável por esta doença. Enterite necrotizante é mais comum em Papua Nova Guiné, com relatos esporádicos de casos em outros países. A doença é associada à ingestão de carne de porco contaminada malcozida junto com batata-doce, que contém um inibidor de tripsina resistente ao calor. Esse inibidor protege a inativação da toxina beta pela ação da tripsina. Outros fatores de risco para a doença são a exposição a um número elevado desse organismo e má nutrição (com perda da atividade proteolítica que inativa a toxina).

Septicemia

O isolamento de *C. perfringens* e de outras espécies de clostrídios em hemocultura pode ser alarmante. No entanto, mais da metade dos isolados não tem significado clínico, representando uma bacteremia transitória, ou mais provavelmente, o resultado da contaminação da cultura por clostrídios colonizadores da pele. O significado de um isolado deve ser visto à luz de outros achados clínicos. Quando *C. perfringens* é isolado do sangue de

pacientes com infecções significativas (p. ex., mionecrose, enterite necrosante), o organismo é associado à hemólise massiva.

Diagnóstico Laboratorial

O laboratório realiza apenas um papel confirmatório no diagnóstico de doenças clostridiais de tecidos moles, porque a terapêutica deve ser iniciada imediatamente. A detecção microscópica de bastonetes Gram positivos em amostras clínicas, geralmente na ausência de leucócitos, pode ser um achado muito útil, uma vez que estes organismos apresentam uma morfologia característica. Também é relativamente simples cultivar esses anaeróbios. *C. perfringens* pode ser detectado em meio mínimo após incubação por 1 dia ou menos. Sob condições adequadas, *C. perfringens* se divide a cada 8 a 10 minutos, portanto, o crescimento em agar ou em caldo de hemocultura pode ser detectado em apenas algumas horas de incubação. O papel de *C. perfringens* na intoxicação alimentar é documentado pela recuperação de mais de 10^5 células por grama de alimento ou mais de 10^6 bactérias por grama de fezes, coletadas no prazo de um dia após o aparecimento da doença. Também foram desenvolvidos imunoensaios para a detecção de enterotoxinas em amostras fecais, embora cultura ou imunoensaios não sejam comumente realizados em laboratórios clínicos para esse diagnóstico.

Tratamento, Prevenção e Controle

Infecções causadas por *C. perfringens* em tecidos moles, como miosite supurativa e mionecrose, devem ser tratadas agressivamente com **debridamento cirúrgico** e **alta dose de penicilina**. O tratamento hiperbárico com oxigênio tem sido utilizado para controlar estas infecções, no entanto, os resultados são não conclusivos. O tratamento com antissoro contra toxina alfa também não tem sido bem-sucedido e já não é mais disponível. Apesar de todos os esforços terapêuticos, o prognóstico em pacientes com estas doenças é pobre, com relatos de mortalidade variando de 40% a quase 100%. Menos grave, as infecções localizadas em tecidos moles podem ser tratadas com sucesso utilizando penicilina.

Antibioticoterapia para intoxicação alimentar causada por clostrídios é desnecessária, pois esta é uma doença autolimitada (*i.e.*, a diarreia "lava" os clostrídios para fora do intestino e a microbiota intestinal normal se restabelece).

A prevenção e o controle de infecções por *C. perfringens* são difíceis porque esse organismo é ubíquo. A doença requer a introdução do organismo em tecidos desvitalizados e a manutenção de um ambiente anaeróbio, favorável ao crescimento bacteriano. Assim, cuidados apropriados com feridas e utilização criteriosa de antibióticos profiláticos podem ser muito eficazes para evitar a maioria das infecções.

Clostridium tetani (Quadro 39-4)

Fisiologia e Estrutura

C. tetani é um bacilo de grande porte (0,5 a 2 × 2 a 18µm), formador de esporos e móvel. Esse organismo produz esporos terminais arredondados, semelhantes a uma raquete.

Quadro 39-4 Resumo: *Clostridium tetani*

Biologia, Virulência e Doença

Organismo extremamente sensível à presença de oxigênio, o que torna difícil a detecção em meio de cultura

O principal fator de virulência é a tetanospasmina, uma neurotoxina termolábil que bloqueia a liberação de neurotransmissores (*i.e.*, ácido gama-aminobutírico, glicina) para sinapses inibitórias

A doença é caracterizada por espasmos musculares e envolvimento do sistema nervoso autônomo

Epidemiologia

Ubíqua; esporos são encontrados na maioria dos solos e podem colonizar o trato gastrintestinal de seres humanos e outros animais

A exposição a esporos é comum, mas é uma doença incomum, a não ser em países em desenvolvimento, onde a população tem acesso limitado a vacinas e cuidados médicos

O risco é maior para as pessoas com imunidade inadequada induzida por vacina

A doença não assegura a imunidade

Diagnóstico

O diagnóstico é baseado no quadro clínico e não em exames laboratoriais

Microscopia e cultura são insensíveis e nem toxina tetânica nem anticorpos são normalmente detectados

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento requer debridamento, antibioticoterapia (metronidazol), imunização passiva com antitoxina glubulínica e vacinação com toxoide tetânico

A prevenção pela vacinação consiste de três doses de toxoide tetânico, seguida por doses de reforço a cada 10 anos

Diferentemente do *C. perfringens*, o *C. tetani* é de difícil cultivo. O organismo é extremamente sensível ao oxigênio e, quando o crescimento é detectado em meio sólido, se apresenta como um filme sobre a superfície de agar, em vez de colônias definidas. Essa bactéria é proteolítica, mas incapaz de fermentar carboidratos.

Patogênese e Imunidade

Embora as células vegetativas de *C. tetani* se tornem rapidamente inviáveis quando expostas ao oxigênio, a formação de esporos permite ao organismo sobreviver nas condições mais adversas. Importância é o fato de *C. tetani* produzir duas toxinas, uma hemolisina sensível ao oxigênio (**tetanolisina**) e uma neurotoxina termolábil codificada por plasmídeos (**tetanospasmina**). O plasmídeo portador do gene codificador da tetanoespasmina não é conjugativo, assim, uma cepa não tóxica de *C. tetani* não pode ser convertida em toxigênica. A tetanolisina é sorologicamente relacionada com a estreptolisina O e com as hemolisinas de *C. perfringens* e *Listeria monocytogenes*. Entretanto, o significado clínico desta enzima é desconhecido, porque ela é inibida pelo oxigênio e colesterol do soro.

A tetanoespasmina, produzida durante a fase estacionária do crescimento, é liberada para o meio quando a célula é lisada e é responsável pelas manifestações clínicas do tétano. A tetanoespasmina (uma **toxina A-B**) é sintetizada como um único peptídeo com 150.000 Da, que é clivado por uma protease endógena em uma subunidade leve (cadeia A) e uma subunidade pesada (cadeia B) após a liberação da neurotoxina pela célula. Uma ponte dissulfeto e forças não covalentes mantêm as duas cadeias unidas. O domínio de ligação a carboidratos da cadeia pesada (100.000 Da), localizado na porção carboxiterminal, liga-se a receptores específicos de ácido siálico (p. ex., polisialogangliosídeos) e glicoproteínas adjacentes na superfície de neurônios motores. As moléculas de toxina intactas são internalizadas nas vesículas endossomais e transportadas por axônios para o corpo dos neurônios motores localizados na medula espinhal. Nesse local, o endossoma torna-se acidificado, resultando em uma mudança conformacional no domínio N-terminal da cadeia pesada, seguido por sua inserção na membrana do endossoma e na transferência da cadeia leve da toxina para citoplasma da célula. A cadeia leve é uma **zinco endopeptidase** que cliva proteínas-chave envolvidas no transporte e liberação de neurotransmissores. Especificamente, a tetanoespasmina **inativa proteínas que regulam a liberação dos neurotransmissores inibitórios** glicina e ácido gama-aminobutírico (GABA). Essa inativação leva à desregulação da atividade sináptica excitatória em neurônios motores, resultando em **paralisia espástica**. A ligação da toxina é irreversível, portanto, a recuperação depende da formação de novos axônios terminais.

Epidemiologia

C. tetani é **ubíquo**. É encontrado em solos férteis e, transitoriamente, coloniza o trato gastrintestinal de muitos animais, incluindo seres humanos. As formas vegetativas de *C. tetani* são extremamente suscetíveis à presença de oxigênio, mas esse organismo esporula prontamente e pode sobreviver por muito tempo na natureza. A doença é relativamente rara nos Estados Unidos, em virtude da alta incidência de imunidade induzida por vacina. Menos de 40 casos são relatados anualmente e a doença ocorre principalmente em pacientes idosos com imunidade reduzida. No entanto, o tétano ainda é responsável por muitas mortes em países em desenvolvimento, onde a vacinação não está disponível ou as práticas médicas não são satisfatórias. Estima-se que mais de 1 milhão de casos ocorram no mundo, com uma taxa de mortalidade variando entre 30% a 50%. Pelo menos, metade das mortes ocorre em recém-nascidos.

Doenças Clínicas (Quadro 39-3; Caso Clínico 39-2)

O período de incubação do tétano varia de poucos dias a semanas. Sua duração está diretamente relacionada com a distância entre a localização da infecção primária e o sistema nervoso central.

Caso Clínico 39-2 Tétano

A história a seguir é típica de um paciente com tétano (Morb Mortal Wkly Rep -MMWR 51:613-615, 2002). Um homem com 86 anos de idade procurou um médico para cuidar de uma ferida na mão direita, adquirida 3 dias antes por introdução de uma lasca de madeira, enquanto trabalhava no jardim. Ele não tinha sido tratado com vacina contra toxoide tetânico ou imunoglobulina tetânica. Sete dias mais tarde, desenvolveu faringite e, mais 3 dias depois, ele procurou o hospital local com dificuldade de fala, deglutição e respiração e com dor torácica e desorientação. Ele foi hospitalizado com diagnóstico de acidente vascular cerebral. No quarto dia de hospitalização, o paciente tinha desenvolvido rigidez no pescoço e insuficiência respiratória, necessitando de traqueostomia e ventilação mecânica. Foi transferido para a unidade de tratamento intensivo, na qual foi feito diagnóstico clínico de tétano. Apesar do tratamento com toxoide tetânico e imunoglobulina, o paciente faleceu um mês após sua entrada no hospital. Esse caso ilustra que o *C. tetani* é ubíquo no solo, pode contaminar feridas relativamente pequenas e iniciar uma progressão implacável de doença neurológica em pacientes não tratados.

O **tétano generalizado** é a forma mais comum. O acometimento dos músculos masseteres (trismo mandibular) é o sinal de apresentação na maioria dos pacientes. O sorriso sardônico característico que resulta da contração sustentada da musculatura facial é conhecido como **riso sardônico** (Fig. 39-4). Outros sinais precoces são salivação, sudorese, irritabilidade e espasmos dorsais persistentes (**opistótono**) (Fig. 39-5). O sistema nervoso autônomo é acometido em pacientes com doença mais grave, os sinais e sintomas incluem arritmia cardíaca, flutuações da pressão arterial, sudorese profunda e desidratação.

Figura 39-4 Espasmo facial e riso sardônico em um paciente com tétano.

De Cohen J, Powderly WG: Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis, Mosby, 2004.)

Figura 39-5 Uma criança com tétano e opistótonos resultante de espasmos persistentes dos músculos dorsais.

(De Emond RT, HAK Rowland, Welsby P: Colour Atlas of Infectious Diseases, 3th ed. London, Wolfe, 1995.)

Outra forma de doença causada pelo *C. tetani* é o **tétano localizado**, onde a doença permanece confinada à musculatura no local da infecção primária. Uma variante é o **tétano cefálico**, no qual o local da infecção primária é a cabeça. Em contraste com o prognóstico de pacientes com tétano localizado, o prognóstico de pacientes com tétano cefálico é muito sombrio.

Tétano neonatal (*tetanus neonatorum*) é tipicamente associado a uma infecção inicial no cordão umbilical, que progride até tornar-se generalizada. A taxa de mortalidade em crianças ultrapassa 90% e defeitos de desenvolvimento estão presentes nos sobreviventes. Essa é quase que, exclusivamente, uma doença de países em desenvolvimento.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de tétano, como a maioria das doenças por clostrídios, é realizado com base na apresentação clínica. A detecção microscópica de *C. tetani* ou o isolamento em cultura é útil, mas frequentemente mal-sucedido. A detecção por cultura é positiva em apenas 30% dos pacientes com tétano, porque a infecção pode ser causada por poucas células e a bactéria, de crescimento lento, pode ser inviabilizada rapidamente quando exposta ao ar. Nem a toxina tetânica, nem anticorpos contra a toxina são detectáveis nos pacientes, pois a toxina se liga rapidamente aos neurônios motores e é internalizada. Se o organismo é recuperado em cultura, a produção de toxina pelo isolado pode ser confirmada pelo teste de neutralização com a antitoxina em camundongos (um procedimento realizado apenas em laboratórios de referência de saúde pública).

Tratamento, Prevenção e Controle

A mortalidade associada ao tétano diminuiu consideravelmente no século passado, em grande parte devido à diminuição da incidência de tétano nos Estados Unidos. A mortalidade é mais elevada nos recém-nascidos e em pacientes com período de incubação inferior a uma semana.

O tratamento do tétano requer **debridamento** da ferida primária (que pode parecer inócua), administração de **metronidazol, imunização passiva** com imunoglobulina humana tetânica e **vacinação** com toxoide tetânico. O tratamento da ferida e a terapia com metronidazol eliminam a forma vegetativa da bactéria, que produz toxina enquanto os anticorpos antitoxina atuam pela ligação a moléculas de tetanospasmina livres. Metronidazol e penicilina apresentam atividades equivalentes contra *C. tetani*; no entanto, a penicilina, como a tetanospasmina, inibe a atividade do GABA e não deve ser utilizada. A toxina, ligada a terminações nervosas, é protegida da ação dos anticorpos. Assim, os efeitos tóxicos devem ser controlados sintomaticamente até que a normalização da transmissão sináptica seja restaurada. A vacinação com uma série de três doses de toxoide tetânico, seguida por doses de reforço a cada 10 anos, é altamente eficaz na prevenção do tétano.

Clostridium botulinum (Quadro 39-5)

Fisiologia e Estrutura

C. botulinum, o agente etiológico do botulismo, é um grupo heterogêneo de bacilos grandes (0,6 a 1,4 × 3,0 a 20,2µm) anaeróbios, fastidiosos e formadores de esporos. Com base em propriedades fenotípicas e genéticas, esta bactéria é subdividida em quatro grupos que, certamente, representam quatro espécies distintas embora tenham sido historicamente classificadas como uma única espécie. Sete toxinas botulínicas (de A a G) antigenicamente distintas foram descritas; a doença humana está associada aos tipos A, B, E e F. Outras espécies de clostrídios produzem toxinas botulínicas, incluindo *C. butyricum* (toxina tipo E), *C. baratii* (toxina tipo F) e *C. argentinense* (toxina tipo G). Doenças humanas raramente têm sido associadas ao *C. butyricum* e *C. baratii* e, definitivamente, não associadas ao *C. argentinense*.

Quadro 39-5 Resumo: *Clostridium botulinum*

Biologia, Virulência e Doença

Sete toxinas botulínicas distintas (A a G) são produzidas, sendo a doença humana mais comumente causada aos tipos A e B; tipos E e F também são associados a doenças humanas

Toxina botulínica impede a libertação do neurotransmissor acetilcolina, bloqueando assim a neurotransmissão colinérgica para as sinapses periféricas, levando a uma paralisia flácida

Epidemiologia

Esporos de *C. botulinum* são encontrados no solo em todo o mundo

Relativamente poucos casos de botulismo são descritos nos Estados Unidos, mas a doença é prevalente em países em desenvolvimento

Nos Estados Unidos o botulismo infantil é mais comum do que outras formas

Diagnóstico

Diagnóstico de botulismo alimentar é confirmado se a atividade da toxina é demonstrada no alimento suspeito ou no soro, fezes ou líquido gástrico dos pacientes

Botulismo infantil é confirmado se a toxina é detectada nas fezes ou soro das crianças ou se o organismo é isolado a partir de amostra de fezes

Botulismo de ferida é confirmado se a toxina é detectada no soro ou ferida do paciente ou se o organismo é isolado a partir da ferida

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento envolve administração de metronidazol ou penicilina, antitoxina botulínica trivalente e suporte ventilatório

Germinação de esporos em alimentos é prevenida pela manutenção do alimento em pH ácido, em alta concentração de açúcar (p. ex., frutas cristalizadas) ou por armazenamento a 4°C ou temperaturas inferiores

Toxina é termolábil e, portanto, pode ser destruída pelo aquecimento dos alimentos durante 10 minutos entre 60°C a 100°C

Botulismo infantil está associado à ingestão de solo ou alimentos contaminados (principalmente mel)

Patogênese e Imunidade

Tal como a toxina tetânica, a toxina de *C. botulinum* é uma pró-toxina com 150.000 Da (toxina A-B), constituída por uma subunidade pequena (cadeia leve ou A) com atividade de **zinco endopeptidase** e uma subunidade não tóxica maior (cadeia pesada ou B). Em contraste com a neurotoxina tetânica, a toxina botulínica forma um complexo com outras proteínas não tóxicas que protegem essa neurotoxina durante a passagem através do trato digestivo (o que é desnecessário para neurotoxina tetânica). A porção carboxi terminal da cadeia pesada dessa toxina se liga, especificamente, a receptores de ácido siálico e glicoproteínas (diferentes daquelas que são alvos da tetanospasmina) situados sobre a superfície dos neurônios motores e estimula a endocitose da molécula de toxina. Ainda em contraste com tetanospasmina, a neurotoxina botulínica permanece na junção neuromuscular. A acidificação do endossoma estimula a porção N-terminal da cadeia pesada a promover a liberação da cadeia leve. A endopeptidase botulínica, então, **inativa as proteínas que regulam a liberação de acetilcolina**, bloqueando a neurotransmissão nas sinapses colinérgicas periféricas. Em virtude de a acetilcolina ser necessária para a excitação dos músculos, a apresentação clínica resultante do botulismo é uma **paralisia flácida**. Como no tétano, a recuperação dessa função, após o botulismo, exige regeneração das terminações nervosas.

Epidemiologia

C. botulinum é comumente isolado de amostras de solo e água em todo o mundo. Nos Estados Unidos, cepas do tipo A são encontradas principalmente em solos neutros ou alcalinos, situados a oeste do rio Mississipi; as do tipo B são encontradas principalmente na parte oriental do país, rica em solos orgânicos, e as cepas do tipo E são encontradas apenas em solo úmido. Embora *C. botulinum* seja comumente encontrada no solo, a doença é incomum nos Estados Unidos.

Quatro formas de botulismo foram identificadas: (1) botulismo clássico ou alimentar; (2) botulismo infantil; (3) botulismo de ferida; e (4) botulismo por inalação. Nos Estados Unidos, menos de 30 casos de **botulismo alimentar** são observados anualmente, a maioria associada ao consumo de alimentos domésticos em conserva (toxinas tipos A e B) e, ocasionalmente, ao consumo de conservas de peixe (toxina tipo E). O alimento pode não parecer deteriorado, mas mesmo uma leve alteração de sabor pode indicar risco de instalação da doença. **Botulismo infantil** é mais comum (embora menos de 100 casos sejam notificados por ano) e tem sido associado ao consumo de alimentos (mel, leite em pó para criança) contaminados com esporos botulínicos e com a ingestão de solo e poeira contaminados com esses esporos (atualmente a fonte predominante de exposição infantil). A incidência de **botulismo por feridas** é desconhecida, mas a doença é muito rara. **Botulismo por inalação** é a principal preocupação da era do bioterrorismo. A toxina botulínica tem sido concentrada para a utilização como arma biológica em forma de aerossol. Quando administrada dessa maneira, a doença por inalação tem um início rápido e mortalidade potencialmente elevada.

Doenças Clínicas (Quadro 39-3)

Botulismo Alimentar (Caso Clínico 39-3)

Pacientes com botulismo alimentar, tipicamente, ficam enfraquecidos e apresentam tonturas um a três dias após consumir alimentos contaminados. Os sinais iniciais incluem visão turva, com pupilas fixas e dilatadas, boca seca (indicativo dos efeitos anticolinérgicos da toxina), constipação e dor abdominal, mas ausência de febre. Fraqueza descendente bilateral dos músculos periféricos é observada em pacientes com doença progressiva (paralisia flácida) e a morte é mais frequentemente atribuída à paralisia respiratória. Os pacientes mantêm o estado mental claro durante toda a doença. Apesar do tratamento intensivo, a doença pode progredir, porque a neurotoxina é irreversivelmente ligada e inibe a liberação de neurotransmissores excitatórios por período prolongado. A recuperação completa dos pacientes frequentemente requer muitos meses a anos ou até que as terminações nervosas afetadas se regenerem. A mortalidade em pacientes com botulismo alimentar, que era de cerca de 70%, foi reduzida para 5% a 10% pelo tratamento de suporte mais apropriado, notadamente das complicações respiratórias.

Caso Clínico 39-3 Botulismo Alimentar com Suco de Cenoura Comercial

O Centers for Disease Control and Prevention descreveu um surto de botulismo de origem alimentar associada a suco de cenoura contaminado (Morb Mortal Wkly Rep - MMWR 55:1098, 2006). Em 8 de setembro de 2006, três pacientes foram a um hospital em Washington County, Georgia, com paralisia dos nervos cranianos e paralisia flácida descendente progressiva resultando em insuficiência respiratória. Os pacientes tinham partilhado refeições no dia anterior. Uma vez que se suspeitava de botulismo, os pacientes foram tratados com a antitoxina botulínica. Os pacientes não tiveram progressão de sintomas neurológicos, mas permaneceram hospitalizados e sob ventilação mecânica. Uma investigação determinou que eles haviam consumido suco de cenoura comercial contaminado. Toxina botulínica tipo A foi detectada no soro e fezes de todos os três pacientes e no restante de suco de cenoura. Na Flórida, outro paciente também foi internado com insuficiência respiratória e paralisia descendente após beber suco de cenoura comercial. Em virtude do suco de cenoura apresentar baixa acidez (pH 6,0), os esporos de *C. botulinum* podem germinar e produzir toxinas se o suco contaminado for mantido à temperatura ambiente.

Botulismo Infantil (Caso Clínico 39-4)

O botulismo infantil foi reconhecido pela primeira vez em 1976 e, no momento, é a forma mais comum de botulismo nos Estados Unidos. Em contraste com o botulismo alimentar, esta doença é causada por uma neurotoxina produzida *in vivo* pelo *C. botulinum* que coloniza o trato gastrointestinal de crianças. Embora os adultos sejam expostos ao organismo pela dieta, o *C. botulinum* não consegue sobreviver e multiplicar-se no intestino desses últimos. No entanto, na ausência de competição com a microbiota intestinal residente a bactéria pode se estabelecer no trato gastrointestinal de crianças. Tipicamente, a doença afeta crianças com menos de 1 ano (a maioria entre 1 e 6 meses), e os sintomas não são, inicialmente, específicos (p. ex., constipação, choro fraco ou “atraso no crescimento”). Doença progressiva com paralisia flácida e interrupção da respiração pode se manifestar, no entanto, a mortalidade em casos documentados de botulismo infantil é muito baixa (l% a 2%). Alguns óbitos de crianças, atribuídos a outras condições (p. ex., síndrome de morte súbita do lactente), podem ser na realidade causados por botulismo.

Caso Clínico 39-4 Botulismo Infantil

Em janeiro de 2003, quatro casos de botulismo infantil foram descritos pelo Centers for Disease Control and Prevention (Morb Mortal Wkly Rep - MMWR 52:24, 2003). O que se segue é o relato sobre uma das crianças. Uma criança com 10 semanas, apresentando histórico de constipação no primeiro mês de vida foi admitido em hospital após ter tido dificuldade de sucção e deglutição durante 2 dias. O bebê estava irritável e teve perda da expressão facial, fraqueza muscular generalizada e constipação. Em virtude de insuficiência respiratória, foi necessária a utilização de ventilação mecânica por 10 dias. O diagnóstico do botulismo infantil foi estabelecido 29 dias após o início dos sintomas através da detecção de toxina tipo B produzida por *C. botulinum* em coprocultura realizada em meio de enriquecimento. O paciente foi tratado com Imunoglobulina Antibotulismo Intravenosa (IGB-IV) e teve alta totalmente recuperado após 20 dias. Em contraste com o diagnóstico de botulismo alimentar, o diagnóstico de botulismo infantil pode ser realizado pela detecção da bactéria nas fezes de bebês.

Botulismo de Ferida

Como o nome indica, botulismo de ferida se desenvolve a partir da produção de toxina por *C. botulinum* em feridas contaminadas. Embora os sintomas da doença sejam idênticos aos do botulismo alimentar, o período de incubação é geralmente mais longo (4 dias ou mais), e os sintomas do trato gastrointestinal são menos intensos.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico clínico do botulismo alimentar é confirmado se a atividade da toxina é demonstrada no alimento implicado ou no soro, fezes ou líquido gástrico do paciente. Botulismo infantil é confirmado pela detecção da toxina nas fezes ou no soro da criança ou pelo isolamento em coprocultura. Botulismo de ferida é confirmado pela detecção da toxina no soro ou na ferida do paciente ou crescimento em cultura inoculada com amostra da ferida. A detecção da atividade da toxina é mais encontrada na fase inicial da doença. Nenhum teste para botulismo alimentar tem sensibilidade superior a 60%; por outro lado, a toxina é detectada no soro de mais de 90% de crianças com botulismo.

O isolamento de *C. botulinum* a partir de amostras contaminadas com outros organismos pode ser otimizado pelo aquecimento da amostra durante 10 minutos a 80°C, para inviabilizar todos os microrganismos não clostridiais. A cultura da amostra tratada por calor em meio enriquecido, em condições anaeróbias, permite que os esporos termorresitentes de *C. botulinum* germinem. A demonstração da produção de toxina (normalmente realizadas em laboratórios de saúde pública) deve ser realizada por bioensaio, utilizando camundongo. Este procedimento consiste na preparação de duas alíquotas do isolado, misturando uma alíquota com antitoxina, seguida da inoculação intraperitoneal das misturas em camundongo. Se o tratamento com antitoxina proteger os camundongos, a atividade da toxina é confirmada. Amostras de alimentos suspeitos, fezes e soro do paciente também devem ser testados para a atividade da toxina.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com botulismo requerem as seguintes medidas de tratamento: (1) **suporte ventilatório** adequado; (2) a eliminação do organismo do trato gastrintestinal pela utilização criteriosa de lavagem gástrica e terapia com **metronidazol ou penicilina**; e (3) administração de **antitoxina botulínica trivalente** contra as toxinas A, B e E para neutralizar a toxina circulante na corrente sanguínea. Suporte ventilatório é extremamente importante na redução de mortalidade. A produção de anticorpos em níveis protetores não é observada após a doença, assim os pacientes são suscetíveis a infecções múltiplas.

Previne-se a doença com a destruição dos esporos em alimentos (quase impossível por questões práticas), impedindo a germinação desses (mantendo a comida em um pH ácido ou armazenamento a temperatura de 4°C ou inferior) ou pela destruição das toxinas pré-formadas (todas as toxinas botulínicas são inativadas por aquecimento entre 60°C e 100°C, por 10 minutos). Botulismo infantil tem sido associado ao consumo de mel contaminado com esporos de *C. botulinum*, assim, crianças menores de um ano não devem ingerir mel.

Clostridium difficile (Quadro 39-6)

Até meados da década de 1970 a importância clínica de *C. difficile* não era considerada. Este microrganismo era raramente isolado de coprocultura e o papel em doenças humanas era desconhecido. Entretanto, estudos sistemáticos recentes mostram claramente que *C. difficile* produtor de toxina é responsável por doenças gastrintestinais associadas a antibióticos, variando de diarreia autolimitada, relativamente benigna, até a colite pseudomembranosa grave e potencialmente letal (Figs. 39-6 e 39-7).

Quadro 39-6 Resumo: *Clostridium difficile*

Biologia, Virulência e Doença

A maioria das cepas produz duas toxinas: uma enterotoxina que atrai neutrófilos e estimula a liberação de citocinas, e uma citotoxina que aumenta a permeabilidade da parede intestinal, com consequente diarreia

A formação de esporos permite a persistência do organismo em ambiente hospitalar e a resistência aos esforços de descontaminação

Resistência a antimicrobianos como clindamicina, cefalosporinas e fluoroquinolonas permite ao *C. difficile* sobrepujar as bactérias intestinais normais e instalar a doença em pacientes expostos a esses fármacos

Epidemiologia

Coloniza o intestino de um pequeno percentual de indivíduos saudáveis (< 5%)

Exposição a antimicrobianos está associada ao crescimento rápido de *C. difficile* e subsequente instalação da infecção (infecção endógena)

Esporos podem ser detectados em quartos hospitalares de pacientes infectados (particularmente em torno de leitos e banheiros), podendo ser uma fonte exógena de infecção

Uma cepa altamente virulenta de *C. difficile* atualmente provoca doença em hospitais e comunidades no Canadá, nos Estados Unidos e na Europa

Diagnóstico

Doença causada por *C. difficile* é confirmada pela detecção de citotoxina ou enterotoxina em fezes de pacientes

Tratamento, Prevenção e Controle

A administração de fármacos antimicrobianos deve ser interrompida

Tratamento com metronidazol ou vancomicina deve ser utilizado em doença grave

Recaídas são comuns, em virtude dos fármacos antimicrobianos não inviabilizarem os esporos; um segundo tratamento com antimicrobianos normalmente é bem-sucedido, embora várias repetições possam ser necessárias

Os quartos de hospitais devem ser cuidadosamente limpos após alta de um paciente infectado

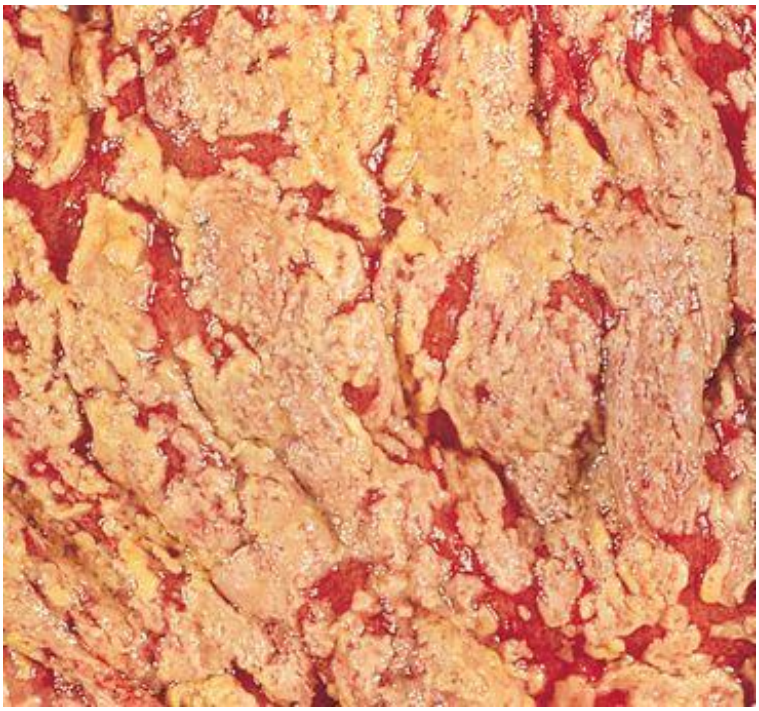


Figura 39-6 Colite associada a antibióticos: plano total do lúmen do cólon. Observe as placas brancas de fibrina, muco, células inflamatórias sobrepondo à mucosa intestinal vermelha normal.

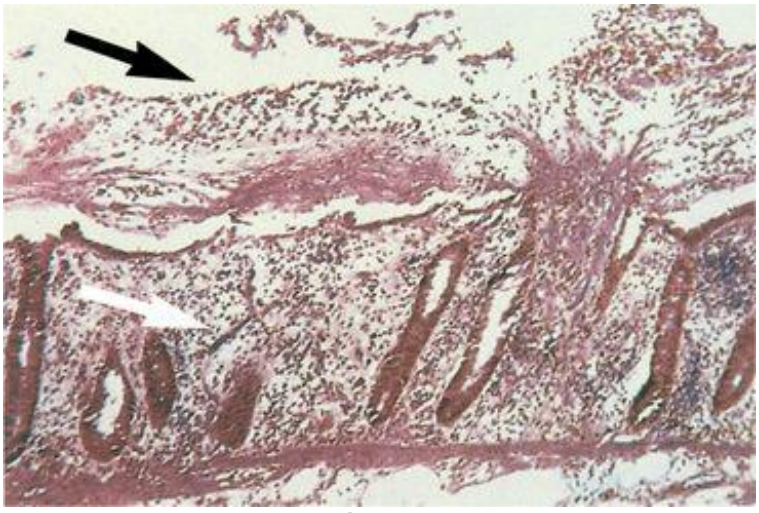


Figura 39-7 Colite associada a antibióticos causada por *Clostridium difficile*. Corte histológico do cólon mostra resposta inflamatória intensa, com “placa” característica (*seta*

preta) recobrindo a mucosa intestinal intacta (*seta branca*).

(Coloração por hematoxilina e eosina) (De Lambert HP, Farrar WE (eds): Infectious Diseases Ilustrated. Londres, Gower, 1982.)

C. difficile produz duas toxinas, uma **enterotoxina** (**toxina A**) e uma **citotoxina** (**toxina B**). A enterotoxina é quimiotática para neutrófilos, estimulando a infiltração de neutrófilos polimorfonucleares no íleo, com liberação de citocinas. A toxina A também produz um efeito citopático, resultando no rompimento da junção célula-célula, aumentando a permeabilidade da parede intestinal com subsequente diarreia. A citotoxina leva à despolimerização de actina com a destruição do citoesqueleto celular, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Embora ambas as toxinas aparentem interagir sinergicamente na patogênese, isolados que não produzem a enterotoxina A podem causar a doença. Além disso, a produção de uma ou de ambas as toxinas parece não ser suficiente para provocar a doença (p. ex., a presença de *C. difficile* e altos níveis de toxinas são comuns em crianças de tenra idade, mas a doença é rara). As "proteínas bacterianas de superfície" (SLPs) são importantes para a ligação de *C. difficile* ao epitélio intestinal, levando à produção localizada de toxinas e dano tecidual.

C. difficile é um componente da microbiota intestinal residente em um pequeno número de pessoas saudáveis e pacientes hospitalizados. A doença se desenvolve em pessoas submetidas à antibioticoterapia, pois o fármaco altera a microbiota entérica normal, tanto permitindo o crescimento desses organismos, relativamente resistentes, como tornando o paciente mais suscetível à aquisição exógena de *C. difficile*. A doença ocorre quando a bactéria prolifera no cólon e produz as respectivas toxinas.

Em 2003, a doença causada por uma cepa altamente virulenta de *C. difficile* foi relatada em hospitais e comunidades no Canadá, Estados Unidos e Europa. Esta cepa é responsável por doença mais severa, com alta taxa de mortalidade, aumento do risco de recaída e outras complicações. O aumento da virulência desta cepa é o resultado de uma mutação no gene que regula a produção de enterotoxina e citotoxina. Em virtude de o gene regulador ser não funcional ocorre aumento de 16 a 23 vezes na **produção da toxina**. Esta nova cepa de *C. difficile* também produz outro tipo de toxina, uma toxina binária, que é um marcador útil para esta cepa, mas com significado clínico desconhecido. Ao contrário da maioria dos isolados de *C. difficile*, esta cepa é resistente à fluoroquinolona. Acredita-se que a ampla utilização das fluoroquinolonas na comunidade e em hospitais tenha levado à seleção da cepa virulenta.

O diagnóstico da infecção por *C. difficile* é confirmado pela demonstração da presença de enterotoxina ou citotoxina em amostras de fezes de pacientes apresentando sintomas clínicos compatíveis. O isolamento do organismo em cropocultura documenta a colonização, mas não a doença. A enterotoxina e a citotoxina podem ser detectadas com uma variedade de imunoensaios comerciais. Estes testes variam em sensibilidade e especificidade, por isso a seleção de testes adequados deve ser criteriosa e um resultado negativo não exclui o diagnóstico.

A citotoxina também pode ser detectada por um ensaio de citotoxicidade *in vivo*, utilizando cultura de tecido e anticorpos neutralizantes para citotoxina, no entanto, é uma técnica complexa e requer de 1 a 2 dias para disponibilizar os resultados. A maioria dos laboratórios substituíram o ensaio de citotoxicidade por métodos imunoenzimáticos.

Em geral, a interrupção do fármaco antimicrobiano (p. ex., ampicilina, clindamicina, fluoroquinolona) é suficiente para aliviar a doença leve. No entanto, uma terapia específica com **metronidazol ou vancomicina** é necessária para o tratamento de diarreia severa ou colite. Recidivas após o término da terapia podem ocorrer em até 20% a 30% dos pacientes, pois só as formas vegetativas de *C. difficile* são inviabilizadas pelos antimicrobianos; os esporos são resistentes. A repetição do tratamento com o mesmo fármaco é, frequentemente, bem-sucedida, embora várias recaídas sejam bem documentadas em alguns pacientes. É difícil prevenir a doença, porque o organismo normalmente existe em hospitais, particularmente nas áreas adjacentes aos pacientes infectados (p. ex., camas, banheiros). Os esporos de *C. difficile* são difíceis de eliminar, a menos que medidas de limpeza completa sejam utilizadas. Assim, o organismo pode contaminar um ambiente por muitos meses e pode ser uma importante fonte de surtos nosocomiais da doença causada por *C. difficile*.

Outras Espécies de Clostrídios

Muitos outros clostrídios têm sido associados com doenças clinicamente significativas. A virulência desses microrganismos é resultado da capacidade de sobreviver à exposição ao oxigênio, formando esporos e produzindo diversas toxinas e enzimas. ***C. septicum*** (Figs. 39-8 e 39-9) é um patógeno especialmente importante, porque produz mionecrose não traumática e, muitas vezes, ocorre em pacientes com câncer oculto de colo, leucemia aguda ou diabetes. Se a integridade da mucosa intestinal é comprometida e o organismo do paciente tem menor capacidade de responder eficientemente à presença do microrganismo, *C. septicum* pode se espalhar rapidamente e proliferar nos tecidos, produzindo gás e destruição tecidual (Fig. 39-10). Na maioria dos pacientes a progressão é fulminante, levando ao óbito dentro de 1 a 2 dias após a apresentação inicial. ***C. sordellii*** é relacionado com a síndrome de choque tóxico fatal, associada ao parto natural ou aborto induzido (Caso Clínico 39-5) . ***C. tertium*** é outro clostrídio importante, comumente isolado de amostras de solo. Ele é primariamente associado a infecções de ferida traumática (p. ex., ferida de guerra, ferida contaminada por solo). Este organismo pode representar um desafio de diagnóstico, já que pode crescer em meio sólido incubado em condições aeróbias. A identificação correta pode ser obtida quando os esporos são observados e quando se determina que o organismo cresce melhor anaerobicamente.

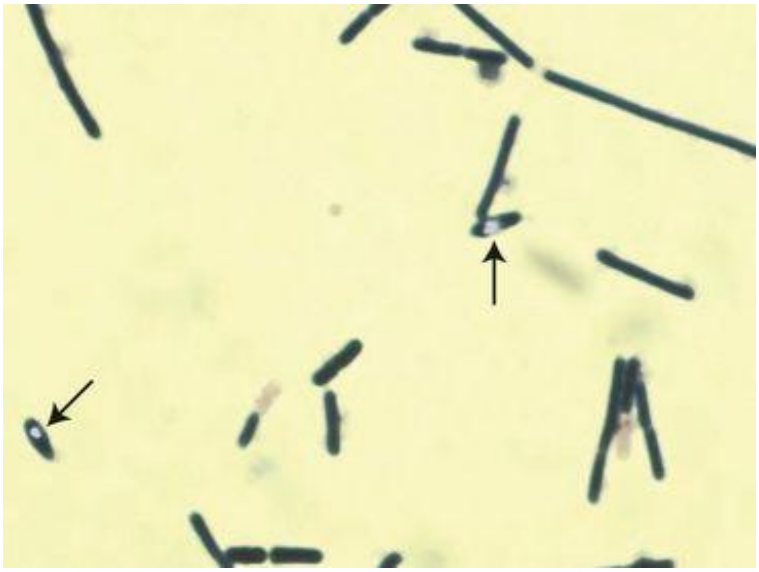


Figura 39-8 *Clostridium septicum*: observe os esporos (*setas*) no interior dos bacilos.

Figura 39-9 *Clostridium septicum*. Observe como o crescimento se espalha através da superfície da placa de agar sangue (*seta*). Este rápido crescimento espalhado é também característico da rápida progressão da doença em um paciente infectado.

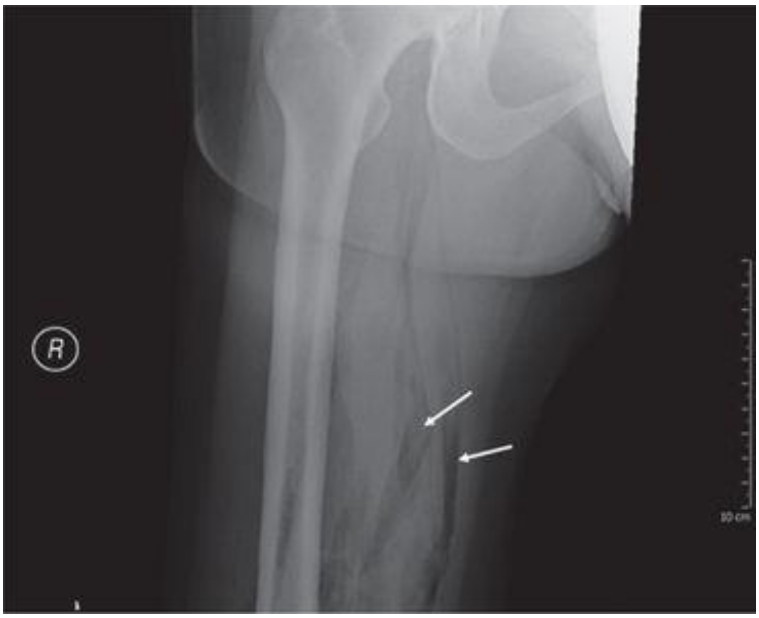


Figura 39-10 Radiografia da perna de um paciente com mionecrose causada por *C. septicum*. Observe o gás (*setas*) no tecido.

Caso Clínico 39-5 Síndrome de Choque Tóxico Provocada por *Clostridium Sordellii* Associada a Aborto

Uma síndrome de choque tóxico fatal causada por *C. sordellii* foi associada a abortos médicos. Essa é a descrição desta doença (Fischer et al., N Engl J Med 353:2352-2360, 2005). Uma mulher de 22 anos de idade, previamente saudável, sofreu um aborto induzido com 200mg de mifepristona por via oral, seguida por 800µg de misoprostol por via vaginal. Cinco dias depois, a paciente procurou o departamento de emergência local com náuseas, vômitos, diarreia e fortes dores abdominais. Estava sem febre, com taquicardia e normotensa. No dia seguinte, a taquicardia (130 a 140 batimentos por minuto) permaneceu persistente e apresentou hipotensão (pressão arterial, 80/40 mm Hg) e diminuição do volume urinário. Os achados laboratoriais demonstraram hemoconcentração com aumento na contagem de neutrófilos (reação leucemoide) e acidose metabólica severa. Uma laparotomia de emergência revelou edema generalizado dos órgãos abdominais e pélvicos e um litro de líquido peritoneal seroso. A paciente morreu durante o procedimento, 23 horas após a apresentação inicial. O exame histopatológico do útero demonstrou extensa inflamação, formação de abscesso, edema, necrose e hemorragia. Numerosos bacilos Gram positivos foram observados no endométrio e DNA de *C. sordellii* foi encontrado no tecido uterino através de testes específicos de PCR. Endometrite e síndrome do choque tóxico causada por *C. sordellii* são incomuns, mas são complicações bem documentadas em partos naturais e abortos. Característica dessa doença é o curso fulminante, sem apresentação de febre e hemoconcentração.

Estudo de Caso e Questões

Uma mulher de 61 anos de idade com dor no lado esquerdo do rosto procurou a emergência de um hospital local. Ela não conseguia abrir a boca por causa de espasmos musculares faciais e estava incapaz de se alimentar por 4 dias em virtude da dor em seu

maxilar. O médico observou trismo e riso sardônico. A paciente relatou que uma semana antes ela sofrera ferimento no dedo do pé enquanto caminhava em seu jardim. Ela limpou a ferida e removeu pequenos pedaços de madeira, mas não procurou atendimento médico. Embora tivesse recebido imunização contra o tétano quando criança, ela não tinha tido reforço de vacinação desde os 15 anos de idade. O diagnóstico presuntivo de tétano foi realizado.

1. Como este diagnóstico deve ser confirmado?

1. O diagnóstico de tétano é baseado na apresentação clínica e dados clínicos (p. ex., história de ferimento penetrante em indivíduo não imune). Testes laboratoriais que podem ser usados para confirmar o diagnóstico incluem microscopia (útil se positivo, mas geralmente não são observadas bactérias no tecido) e cultura (baixa sensibilidade porque os organismos são extremamente sensíveis ao oxigênio). Sorologia não é útil (não se desenvolvem anticorpos contra a toxina).

2. Qual é o procedimento recomendado para o tratamento deste paciente?

O tratamento deve esperar os resultados laboratoriais? Qual é o prognóstico a longo prazo para este paciente?

2. O tratamento deve iniciar imediatamente na suspeita de tétano. Ele inclui desbridamento da ferida primária, uso de metronidazol, imunização passiva com imunoglobulina humana e vacinação com toxoide tetânico. O desbridamento do tecido e a terapia antibiótica eliminam as células vegetativas que produzem toxina, a imunização passiva inativa a toxina livre (a toxina ligada não pode ser eliminada), e a vacinação protege o paciente de futura exposição à toxina. O prognóstico depende do local do ferimento inicial e da rapidez dos procedimentos de tratamento adequados. No EUA a mortalidade é relativamente baixa porque o diagnóstico geralmente é rápido e medidas adequadas estão disponíveis. Em países menos desenvolvidos a mortalidade associada ao tétano é alta.

3. Compare o modo de ação das toxinas produzidas por *C. tetani* e *C. botulinum*.

3. Tetanoespasmina e toxina botulínica são ambas toxinas A-B. A subunidade B da tetanoespasmina se liga a receptores do ácido siálico e glicoproteínas adjacentes na superfície dos neurônios motores. As toxinas são então internalizadas em vesículas endossomais e transportadas pelo axônio até o corpo do neurônio motor localizado na coluna espinhal. Neste local o endossomo se torna acidificado, levando a alteração da conformação da cadeia B, facilitando o transporte da cadeia A para o citoplasma da célula. A cadeia A é uma endopeptidase que degrada proteínas que regulam os transmissores inibitórios glicina e ácido amino-gama-butírico. Isto ocasiona excitação desregulação da atividade sináptica do neurônio motor. A toxina botulínica também se liga a receptores siálicos específicos e glicoproteínas na superfície nos neurônios motores (alvos diferentes da tetanoespasmina) e se internaliza. A toxina botulínica permanece no endossomo na junção neuromuscular (ao invés de se mover para a coluna espinhal), onde após acidificação, a endopeptidase A inativa as proteínas que regulam a liberação de acetilcolina. Como a acetilcolina não é liberada, a neurotransmissão é bloqueada resultando em paralisia flácida.

4. Que fatores de virulência são produzidos por *C. perfringens*?

4.*Clostridium perfringens* produz numerosas toxinas e enzimas citotóxicas. A toxina mais importante é a alfa toxina, uma fosfolipase responsável pela lise de eritrócitos, plaquetas, leucócitos e células endoteliais. Isto leva à hemólise intensa e destruição tecidual

característica da devastação que esta doença ocasiona no organismo. Outras toxinas citotóxicas produzidas pelo *C. perfringens* incluem a toxina beta, épsilon e iota. Este microrganismo também produz colagenases, proteases, hialuronidase, neuraminidase e enterotoxina.

5. Quais são as doenças provocadas por *C. perfringens*?

5.*C. perfringens* causa uma variedade de doenças incluindo infecções de tecido mole (celulite, fasciite, mionecrose), intoxicação alimentar, enterite necrotizante e septicemia primária.

6. Quais são as doenças provocadas por *C. difficile*? Por que é difícil tratar infecções causadas por esse organismo?

6.*Clostridium difficile* é o agente etiológico de doenças gastrintestinais, de diarreias associadas a antibiótico e a colite pseudomembranosa de risco. A infecção pode ser de difícil manejo. Ainda que as formas vegetativas do bacilo sejam suscetíveis a metronidazol ou vancomicina, os esporos são resistentes. Assim, o tratamento irá eliminar as formas vegetativas, mas os esporos podem persistir no intestino e germinar, formando células produtoras de toxina, quando a terapia for descontinuada. Além disso, os esporos podem contaminar quartos hospitalares, servindo como fonte de infecção para outros pacientes.

Referência para a Animação do Student Consult

Acesse o site ***www.StudentConsult.com*** e assista à animação com as funções da enterotoxina e citotoxina de *Clostridium difficile* e das toxinas de *C. botulinum* e *C. tetani*.

Bibliografia

Boone J, Carman R. Clostridium perfringens: Food poisoning and antibioticassociated diarrhea. *Clin Microbiol Newsl*. 1997;19:65-67.

Bryant A. et al: Clostridial gas gangrene, I and II. *J Infect Dis*. 2000;182:799-807. 808–815

Calabi E. et al: Binding of Clostridium difficile surface layer proteins to gastrointestinal tissues. *Infect Immun*. 2002;70:5770-5778.

Fischer M. et al: Fatal toxic shock syndrome associated with Clostridium sordellii after medical abortion. *N Engl J Med*. 2005;353:2352-2360.

Gergen P. et al: A population-based serologic survey of immunity to tetanus in the United States. *N Engl J Med*. 1995;332:761-766.

Kelly C, LaMont JT. Clostridium difficile infection. *Annu Rev Med*. 1998;49:375-390.

Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. Emergence of Clostridium difficile associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(6):2-18.

Lalli G. et al: The journey of tetanus and botulinum neurotoxins in neurons. *Trends Microbiol*. 2003;11:431-437.

Lindstrom M, Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:298-314.

Midura T. Update: Infant botulism. *Clin Microbiol Rev*. 1996;9:119-125.

Shapiro R, Hatheway C, Swerdlow D. Botulism in the United States: A clinical and epidemiologic review. *Ann Intern Med*. 1998;129:221-228.

Stevens DL, Bryant AE. The role of clostridial toxins in the pathogenesis of gas gangrene. *Clin Infect Dis*. 2002;35(Suppl 1):S93-S100.

Voth DE, Ballard JD. Clostridium difficile toxins: Mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:247-263.

Wilkins TD, Lyerly DM. Clostridium difficile testing: After 20 years, still challenging. *J Clin Microbiol*. 2003;41:531-534.

40 Bactérias Gram Positivas Anaeróbicas Não Formadoras de Esporos

Os cocos e os bastonetes Gram positivos anaeróbios não formadores de esporos constituem um grupo de bactérias que coloniza a superfície da pele e mucosas. Estes microrganismos são patógenos oportunistas, tipicamente responsáveis por infecções de natureza endógena, usualmente isolados de infecções mistas constituídas por bactérias aeróbias ou facultativas e anaeróbias. A maioria dos microrganismos anaeróbios possui requerimentos nutricionais que os torna fastidiosos, crescendo lentamente nos meios de cultura empregados em laboratório. Assim, o isolamento e a identificação das cepas clínicas constituem procedimento difícil, e muitas vezes demorado. Felizmente, o acompanhamento e a terapia da maioria das infecções causadas por tais organismos podem ser baseados no conhecimento de que uma mistura de microrganismos aeróbios e anaeróbios está presente nos espécimes clínicos e não necessita do isolamento e identificação de cada um dos microrganismos.

Cocos Gram Positivos Anaeróbios (Quadro 40-1)

Durante um período de tempo, todos os cocos anaeróbios de significado clínico foram incluídos no gênero *Peptostreptococcus*. Infelizmente, foi reconhecido posteriormente que tais organismos foram incluídos em um único gênero baseado fundamentalmente nas características morfotintoriais observadas na coloração de Gram e por sua inabilidade em crescer em atmosfera de aerobiose. Desde então, métodos mais sofisticados têm sido utilizados para reclassificar muitas das espécies em seis gêneros. Os isolados mais comuns estão listados na Tabela 40-1. Embora alguns cocos anaeróbicos sejam mais virulentos do que outros, e que alguns estejam associados com doenças específicas, a identificação bioquímica dos diferentes gêneros de modo geral é desnecessária. O conhecimento de que um coco anaeróbio está associado com um processo infeccioso é suficiente.

Quadro 40-1 Bactérias Gram Positivas Anaeróbias Estritas de Importância

Organismo	Etimologia
Cocos Anaeróbios	
Anaerococcus	*an*, “sem”; *aer*, “ar”; *coccus*, “cocos” (cocos anaeróbios)
Finegoldia	Em reconhecimento ao microbiologista americano S. *Finegold*
Micromonas	*micro*, “minúsculo”; *monas*, “células” (células minúsculas)
Peptostreptococcus	*pepto*, “cozer” ou “digerir” (os estreptococos digestores)
Schleiferella	Em reconhecimento ao microbiologista alemão K.H. *Schleifer*
Bastonetes Anaeróbios	
Actinomyces	*aktinos*, “raios”; *mykes*, “fungo” (fungos em raios, referindo-se ao arranjo radial dos filamentos nos grânulos)
Bifidobacterium	*bifidus*, “fendidos”; *bakterion*, “pequeno bastão” (pequenos bastonetes fendidos ou bifurcados)
Eubacterium	*eu*, “bom” ou “benéfico”(bastonete benéfico; isto é, bastonete normalmente presente)
Lactobacillus	*lacto*, “leite” (bacilos do leite; organismo originalmente isolado do leite; além disso o ácido lático é o produto metabólico primário a partir da fermentação)
Mobiluncus	*mobilis*, “capaz de mover-se” ou “estar ativo”; *uncus*, “gancho” (bastonete curvo, móvel)
Propionibacterium	*propionicum*, ácido propiônico (o ácido propiônico é o produto metabólico primário do processo de fermentação)

Tabela 40-1 Nova classificação de Alguns Cocos Anaeróbios Anteriormente Descritos no Gênero *Peptostreptococcus*

Classificação Anterior	Classificação Atual
P. anaerobius	Sem alteração
P. asaccharolyticus	*Peptoniphilus asaccharolyticus*
P. magnus	*Finegoldia magna*
P. micros	Sem alteração
P. parvulus	*Atopobium parvulum*
P. prevotii	*Anaerococcus prevotii*

Os cocos Gram positivos anaeróbios normalmente colonizam a cavidade oral, o trato gastrintestinal, o trato geniturinário e a pele. Eles produzem infecção quando ocorre disseminação destes nichos para sítios normalmente estéreis. Por exemplo, bactérias que colonizam as vias aéreas superiores podem causar sinusite e infecções pleuropulmonares; bactérias presentes no intestino podem causar infecções intra-abdominais; bactérias do trato geniturinário podem causar endometrites, abscessos pélvicos e salpingites; bactérias da pele podem causar celulites e infecções de tecido mole; bactérias que alcançam a corrente sanguínea podem causar infecções ósseas e em órgãos sólidos (Fig. 40-1).

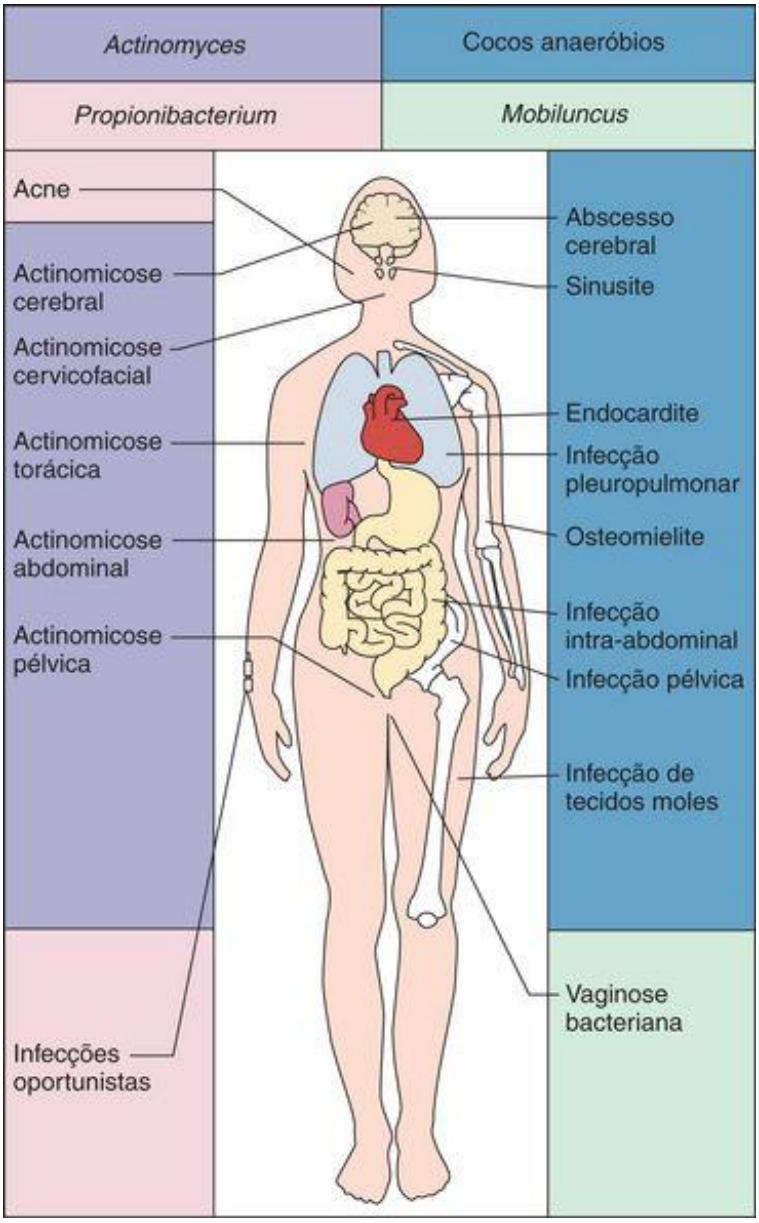


Figura 40-1 Doenças associadas com cocos anaeróbios e com bastonetes Gram positivos anaeróbios não formadores de esporos: *Actinomyces, Propionibacterium* e *Mobiluncus*.

A confirmação laboratorial das infecções por cocos anaeróbios é complicada devido a três fatores principais: (1) devem ser tomados cuidados para prevenir a contaminação do espécime clínico com cocos anaeróbios que normalmente colonizam a pele e as superfícies mucosas; (2) o espécime coletado deve ser transportado em recipiente livre de oxigênio de modo a prevenir a perda da viabilidade bacteriana; e (3) os espécimes devem ser cultivados em meios nutricionalmente enriquecidos por períodos de tempo prolongado (*i.e.*, 5 a 7 dias). Além disso, algumas espécies de estafilococos e estreptococos crescem inicialmente apenas em atmosfera de anaerobiose e podem ser confundidos com cocos anaeróbios. Contudo, como esses organismos crescem bem em atmosfera de aerobiose suplementada com 10% de dióxido de carbono (CO_2) não podem ser classificados como anaeróbios estritos.

Os cocos anaeróbios são usualmente sensíveis à **penicilina** e aos **carbapenêmicos** (p. ex., imipenem e meropenem). Eles apresentam sensibilidade intermediária às cefalosporinas de amplo espectro, clindamicina, eritromicina, tetraciclinas, sendo resistentes aos aminoglicosídeos (como todos os microrganismos anaeróbios estritos). Terapia específica é geralmente indicada em infecções monomicrobianas, contudo, já que a maioria das infecções por estes microrganismos e polimicrobiana, a terapia de amplo espectro contra bactérias aeróbias e anaeróbias é usualmente escolhida.

Bastonetes Gram Positivos Anaeróbios, não Formadores de Esporos (Quadro 40-1)

Os bastonetes Gram positivos não formadores de esporos correspondem a uma diversidade de bactérias anaeróbias facultativas ou estritas que colonizam a pele e superfícies de mucosa (Tab. 40-2) .*Actinomyces, Mobiluncus, Lactobacillus* e *Propionibacterium* são reconhecidamente patógenos oportunistas, enquanto outros gêneros como *Bifidobacterium* e *Eubacterium* podem ser isolados de espécimes clínicos, porém raramente causam doenças em seres humanos.

Tabela 40-2 Bastonetes Gram Positivos Anaeróbios, Não Formadores de Esporos

Organismo	Doenças em Seres Humanos
Actinomyces spp.	Infecções orais localizadas, actinomicose(cervicofacial, torácica, abdominal, pélvica, sistema nervoso central)
Propionibacterium spp.	Acne, canaliculite lacrimal, infecções oportunistas
Mobiluncus spp.	Vaginose bacteriana, infecções oportunistas
Lactobacillus spp.	Endocartite, infecções oportunistas
Eubacterium spp.	Infecções oportunistas
Bifidobacterium spp.	Infecções oportunistas

Actinomyces

Fisiologia e Estrutura

Actinomyces são bastonetes Gram positivos anaeróbios facultativos ou estritos. Tais organismos não apresentam alcool-ácidoresistência (ao contrário das espécies de *Nocardia*, similares morfologicamente), crescem lentamente em cultura e apresentam tendência de produzir **processos infecciosos crônicos de desenvolvimento lento**. Eles desenvolvem formas filamentosas delicadas ou hifas (lembrando fungos filamentosos) em espécimes clínicos ou quando isolados em cultura (Fig. 40-2). Entretanto estes microrganismos são bactérias verdadeiras uma vez que não possuem mitocôndrias nem membrana nuclear, replicam-se por fissão binária e são inibidos pela penicilina e resistentes aos agentes antifúngicos. Numerosas espécies têm sido descritas: *Actinomyces israelli, A. naeslundii, A. radingae* e *A. turicensis* são responsáveis pela maioria das infecções em seres humanos.

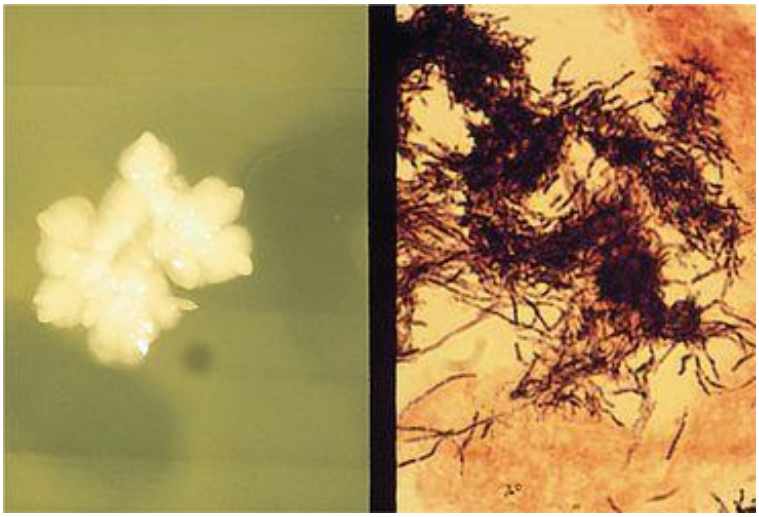


Figura 40-2 Aspecto macroscópico da colônia (*à esquerda*) e coloração de Gram (*à direita*) de *Actinomyces*.

Patogênese e Imunidade

Os organismos do gênero *Actinomyces* colonizam o trato respiratório superior, gastrintestinal e genital feminino. Estes organismos não estão normalmente presentes na superfície da pele. Os organismos possuem um baixo potencial de virulência e causam doença somente quando as barreiras da mucosa normal são rompidas por trauma, cirurgia ou infecção.

A doença clássica causada por *Actinomyces* é denominada **actinomicose** (mantendo a ideia inicial de que tais microrganismos seriam fungos "micose"). A actinomicose é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões crônicas granulomatosas que se tornam supurativas e formam abscessos relacionados com fístulas de drenagem. Colônias macroscópicas de organismos similares a grânulos podem ser frequentemente observadas nos abscessos e fístulas de drenagem. Estas colônias, denominadas de **grânulos de enxofre** devido a sua aparência amarelada ou alaranjada, são massas de microrganismos filamentosos unidos por fosfato de cálcio (Fig. 40-3). As áreas de supuração são circundadas por tecido de granulação fibroso, que confere uma consistência rígida à superfície que cobre os tecidos envolvidos. Atualmente a actinomicose é relativamente incomum. Hoje, a maior parte das infecções envolvendo *Actinomyces* é de natureza polimicrobiana relacionada à cavidade oral, como infecções endodônticas, abscessos odontogênicos e infecções relacionadas a implantes dentários.

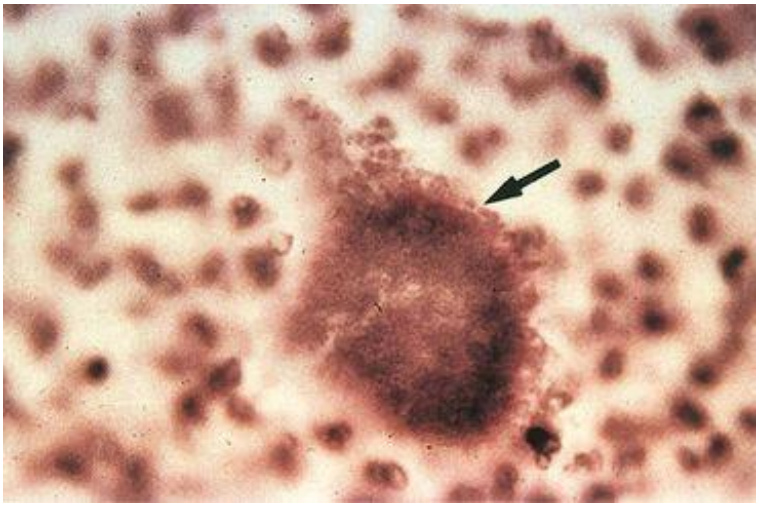


Figura 40-3 Grânulo de enxofre coletado de uma fístula de drenagem de um paciente com actinomicose. Bastonetes filamentosos delicados (*seta*) são observados na periferia do grânulo prensado.

Epidemiologia

As infecções causadas por *Actinomyces* são **endógenas**, sem evidência de disseminação pessoa-pessoa ou de doença envolvendo uma fonte externa como solo ou água. As infecções cervicofaciais são frequentemente observadas em pacientes com deficiência de higiene oral ou que tenham sido submetidos a procedimentos dentários invasivos ou trauma na cavidade oral. Nestes pacientes, *Actinomyces* presentes na cavidade oral invadem o tecido traumatizado e iniciam o processo infeccioso.

Pacientes com infecção torácica geralmente apresentam histórico de aspiração, com estabelecimento da doença nos pulmões e posterior disseminação para os tecidos adjacentes. As infecções abdominais ocorrem mais comumente em pacientes submetidos a cirurgias gastrintestinais ou que sofreram trauma intestinal. Infecção pélvica pode ocorrer de forma secundária à actinomicose abdominal ou infecção primária em mulheres com dispositivos intrauterinos (DIU) (Fig. 40-4). Infecções do sistema nervoso central usualmente decorrem da disseminação hematogênica a partir de outros tecidos infectados, tais como pulmão.

Figura 40-4 *Actinomyces* pode colonizar a superfície de corpos estranhos, como este dispositivo intrauterino, acarretando o desenvolvimento de actinomicose pélvica.

(De Smith E: In Lambert H, Farrar W (eds): Infectious Diseases Illustrated. London, Gower, 1982.)

Doenças Clínicas (Caso Clínico 40-1)

A maior parte das infecções por *Actinomyces* é de natureza **cervicofacial** (Fig. 40-5). A doença pode ocorrer como infecção aguda piogênica, ou como processo de evolução lenta e relativamente indolor. O achado clínico de tecido edemaciado acompanhado de fibrose e escara, bem como fístulas de drenagem na região da mandíbula e pescoço, deve alertar ao clínico da possibilidade de actinomicose. Os sintomas da **actinomicose torácica** são inespecíficos. Os abscessos podem se formar no tecido pulmonar no início da doença e então disseminar aos tecidos adjacentes com progressão da doença. A **actinomicose abdominal** pode-se espalhar através do abdômen, podendo envolver qualquer sistema orgânico. A **actinomicose pélvica** pode ocorrer como uma forma relativamente benigna de vaginite ou mais comumente acompanhada de destruição tecidual extensa, incluindo o desenvolvimento de abscesso tubo-ovariano ou obstrução ureteral. A manifestação mais comum da **actinomicose do sistema nervoso central** é o abscesso cerebral solitário, contudo meningite, empiema subdural e abscesso epidural também podem ser observados.

Caso Clínico 40-1 Actinomicose Pélvica

Quercia et al. (Med Mal Infect 36:393-395, 2006) descreveram uma apresentação clássica de actinomicose pélvica associada com um dispositivo contraceptivo intrauterino uterino (DIU). A paciente de 41 anos de idade apresentando histórico de 5 meses de dor abdominal e pélvica, perda de peso, mal-estar e corrimento vaginal amarelado. Ela utilizava um DIU desde 1994, que tinha sido removido em junho de 2004. Os sintomas iniciaram-se logo após a remoção do DIU. A tomografia computadorizada revelou uma grande massa pélvica envolvendo as trompas de Falópio, assim como numerosos abscessos hepáticos. A biópsia cirúrgica foi realizada e *Actinomyces* isolados em cultura. A paciente foi submetida ao debridamento cirúrgico e recebeu quimioterapia antimicrobiana oral com penicilina por 1 ano. A equipe médica acreditava que a pelve da mulher tinha sido infectada com *Actinomyces* na época da remoção do DIU. Este episódio ilustra a natureza crônica da actinomicose e a necessidade da drenagem cirúrgica e a terapia antimicrobiana de longo curso.

Figura 40-5 Paciente com actinomicose cervicofacial. Observar a fístula de drenagem.

Diagnóstico Laboratorial

A confirmação laboratorial da actinomicose é frequentemente difícil. Devem ser dispensados cuidados durante a coleta dos espécimes clínicos de modo a que o material coletado não seja contaminado com *Actinomyces* da microbiota das superfícies mucosas. Não é possível determinar o significado clínico de *Actinomyces* isolado de espécimes contaminados. Devido aos microrganismos estarem concentrados nos grânulos de enxofre e serem distribuídos nos tecidos envolvidos, quantidades significativas de pus ou tecido devem ser coletados. Caso os grânulos de enxofre sejam detectados nas fístulas de drenagem ou nos tecidos devem ser prensados entre duas lâminas de vidro, corados e examinados sob microscopia. Bastonetes Gram positivos, delgados e ramificados podem ser observados na periferia dos grânulos.

Actinomyces são organismos fastidiosos, crescendo lentamente em condições de anaerobiose; pode levar duas ou mais semanas para o isolamento dos microrganismos. As colônias possuem aparência branca com a superfície dividida em domos, podendo se tornar irregular após incubação por uma semana ou mais, lembrando a superfície de um dente molar (Fig. 40-6). As espécies individuais de *Actinomyces* podem ser diferenciadas através de testes bioquímicos; contudo, este processo pode ser demorado. Geralmente, a determinação do isolado como um membro do gênero *Actinomyces* é suficiente.

Figura 40-6 Aparência de dente molar da colônia de *Actinomyces israelii* após incubação por 1 semana. A morfologia colonial serve para lembrar que as bactérias são normalmente encontradas na boca.

O isolamento de *Actinomyces* a partir de hemocultura deve ser avaliado com cuidado. Na maioria dos casos pode representar bacteremia transitória não significativa a partir da orofaringe ou trato gastrintestinal. Caso o isolamento apresente significado clínico, evidências de patologia tecidual devem ser obtidas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da actinomicose envolve a combinação de drenagem dos abscessos localizados ou o **debridamento cirúrgico** dos tecidos envolvidos e a administração de antibióticos por períodos prolongados. *Actinomyces* são uniformemente suscetíveis à **penicilina** (considerado o antibiótico de escolha), carbapenêmicos, macrolídeos e clidamicina. A maioria das espécies é resistente ao metronidazol, e as tetraciclinas apresentam atividade variável. Focos não drenados devem ser suspeitos em pacientes com infecções que parecem não responder após terapia prolongada (4 a 12 meses). A resposta clínica é geralmente boa, mesmo em pacientes que sofreram destruição tecidual extensa. A manutenção da boa higiene oral e o uso de profilaxia antimicrobiana apropriada nos traumatismos da cavidade oral e do trato gastrintestinal podem reduzir o risco de infecção.

Propionibacterium

Propionibacterium são bastonetes Gram positivos pequenos frequentemente arranjados em cadeias curtas ou aglomerados (Fig. 40-7). São comumente encontrados na pele (ao contrário de *Actinomyces*), conjuntiva, ouvido externo, orofaringe e no trato genital feminino. Os microrganismos são anaeróbios estritos ou aerotolerantes, imóveis, catalase positivos e utilizam carboidratos produzindo ácido propiônico como principal produto final de fermentação (daí o nome do gênero). As duas espécies mais isoladas são ***Propionibacterium acnes*** e ***Propionibacterium propionicum***.

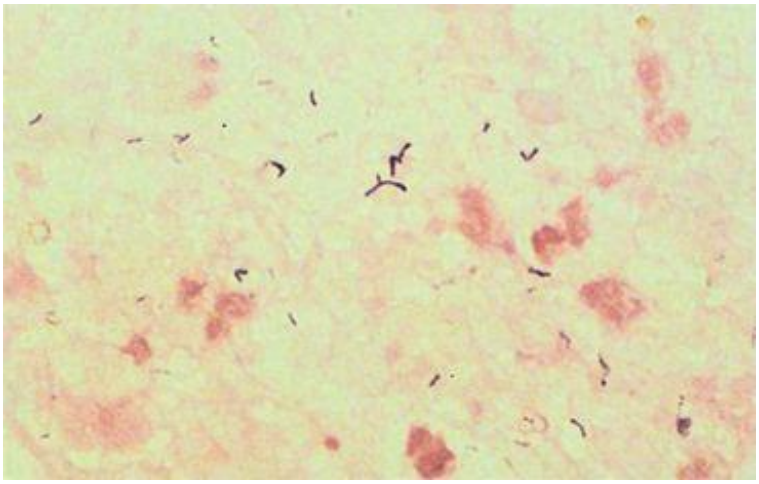


Figura 40-7 Coloração de Gram de *Propionibacterium* em cultura de sangue.

P. acnes é responsável por dois tipos de infecção: (1) **acne vulgar** (como o nome indica) em adolescentes e adultos jovens; e (2) **infecções oportunistas** (Caso Clínico 40-2) em pacientes com próteses (válvulas cardíacas artificiais ou próteses articulares) ou dispositivos intravasculares (cateteres e válvulas de drenagem de líquido cefalorraquidiano, *shunts*). Propionibactérias também são comumente isoladas de hemoculturas, porém este achado usualmente representa a contaminação com bactérias presentes na pele no local da flebotomia.

Caso Clínico 40-2 *Shunt* Infectado por *Propionibacterium*

Chu et al. (Neurosurgery 49:717-720, 2001) reportaram casos clínicos de três pacientes com infecção do sistema nervoso central (SNC) causados por *Propionibacterium acnes*. O caso descrito ilustra os problemas relacionados ao microrganismo. Uma mulher de 38 anos de idade, com hidrocefalia congênita, apresentou-se com histórico de uma semana de redução do nível de consciência, dores de cabeça e vômitos. Ela tinha sido submetida à instalação de diversos *shunts* ventrículo-peritoniais, o último 5 anos antes da apresentação do quadro. A paciente estava afebril e sem sinais de alterações meningeais, porém estava sonolenta e despertava somente por estímulos profundos. O líquor coletado do *shunt* não continha eritrócitos, mas apresentava 55 leucócitos; os níveis de proteína estavam altos e glicose ligeiramente baixos. Bastonetes Gram positivos pleomórficos foram observados após coloração de Gram, e *P. acnes* cresceu após o cultivo do líquor em anaerobiose. Após 1 semana de terapia com altas doses de penicilina, o líquor permanecia positivo pelo Gram e pela cultura. A paciente foi submetida à cirurgia para a remoção de todo material estranho e tratada com penicilina por mais 10 semanas. O quadro observado com esta paciente ilustra a natureza crônica e relativamente assintomática da doença, a necessidade da remoção do *shunt* e outros corpos estranhos e a necessidade do tratamento por períodos de tempo prolongados.

O papel central de *P. acnes* na acne é o de estimular resposta inflamatória. A produção de peptídeos de baixo peso molecular pelos microrganismos localizados nos folículos sebáceos atrai leucócitos. As bactérias são fagocitadas e, após liberação de enzimas bacterianas hidrolíticas (lipases, proteases, neuraminidase e hialuronidase), estimulam resposta inflamatória localizada. *P. propionicum* está associado com abscessos endodônticos e canaliculite lacrimal (inflamação dos ductos lacrimais).

As propionibactérias são capazes de crescer na maioria dos meios de cultura usuais, embora possam levar de 2 a 5 dias para aparecimento do crescimento. Devem se dispensados cuidados para evitar a contaminação do espécime com organismos normalmente presentes na pele. O significado do isolamento de uma cepa clínica também deve ser interpretado de acordo com a apresentação clínica (p. ex., cateter, ou outros corpos estranhos podem servir como foco para estes patógenos oportunistas).

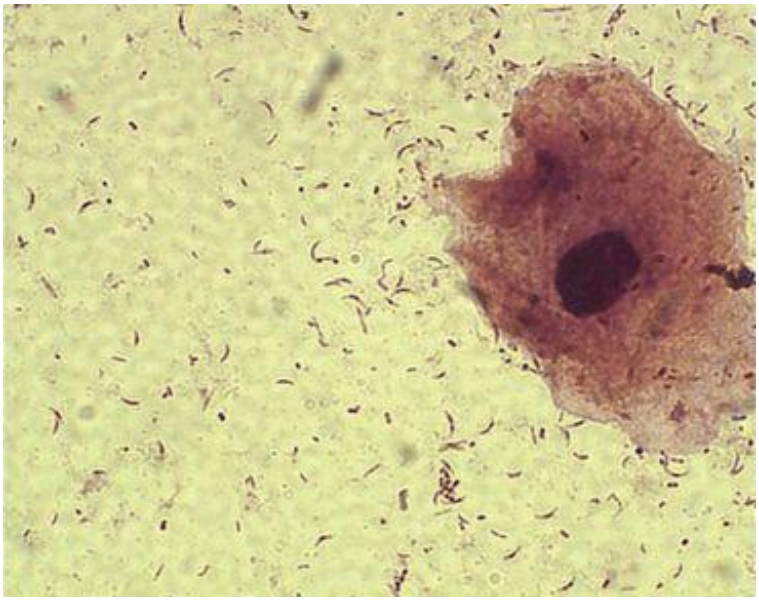


Figura 40-8 Coloração de Gram de *Mobiluncus*. As células são curvas com extremidades afiladas.

A acne não está relacionada com a efetividade da limpeza da pele, pois a lesão se desenvolve no interior dos folículos sebáceos. Por esta razão a acne é primariamente tratada através da aplicação tópica de peróxido de benzoila e antibióticos. Antibióticos como eritromicina e clindamicina apresentam efetividade comprovada para o tratamento.

Mobiluncus

Os membros do gênero *Mobiluncus* são bastonetes curvos de extremidades afiladas, Gram variáveis ou Gram negativos, anaeróbios estritos. Apesar de sua aparência nos espécimes corados pelo Gram, são classificados como bastonetes Gram positivos porque (1) possuem uma parede com estrutura de Gram positivos; (2) ausência de endotoxina; e (3) são suscetíveis a vancomicina, clindamicina, eritromicina, ampicilina mas resistentes à colistina. Os organismos são fastidiosos, crescendo lentamente, mesmo em meios enriquecidos suplementados com soro de cavalo ou de coelho.

Das duas espécies de *Mobiluncus*, ***M. curtisii*** é raramente encontrado em vagina de mulheres saudáveis, porém é abundante nos casos de **vaginose bacteriana** (vaginite). Sua aparência microscópica é um marcador usual da doença, porém o papel exato dos organismos na patogênese da vaginose bacteriana ainda não foi definido.

Lactobacillus

As espécies de *Lactobacillus* são bastonetes anaeróbios facultativos ou estritos. Eles são encontrados como parte da microbiota normal da cavidade oral, estômago, intestino e trato geniturinário. Os organismos são comumente encontrados em espécimes de urina e sangue (hemocultura). Uma vez que lactobacilos são predominantes na uretra, o seu isolamento de cultura de urina usualmente é o resultado de contaminação do espécime, mesmo quando existe grande número de microrganismos. A razão dos lactobacilos raramente causarem infecções urinárias se deve à sua inabilidade de crescer na urina. Invasão da corrente sanguínea pode ocorrer devido a três fatores: (1) **bacteremia transitória** a partir de sítios do trato geniturinário (p. ex., após o parto ou procedimentos ginecológicos); (2) **endocardite** (Caso Clínico 40-3); e (3) **septicemia oportunista** em pacientes imunocomprometidos. Cepas de lactobacilos são utilizadas como probióticos e têm sido ocasionalmente relacionadas com infecções em seres humanos.

Caso Clínico 40-3 Endocardite por *Lactobacillus*

O caso clínico é uma descrição clássica de endocardite causada por *Lactobacillus* (Salvana & Frank, J Infect 53:5-10, 2006). Uma mulher de 62 anos foi admitida com fibrilação atrial e histórico de duas semanas de sintomas de resfriado. A paciente tinha sido submetida a tratamento odontológico 4 semanas antes da admissão e não tinha sido administrada profilaxia antimicrobiana, apesar de histórico prévio de febre reumática na infância com prolapso e regurgitação valvular mitral. Durante o exame, a paciente estava afebril, taquicárdica, e ligeiramente taquipneica. O exame cardiológico demonstrou murmúrio sistólico. Três culturas de sangue (hemoculturas) foram coletadas e em todas ocorreu o crescimento de *Lactobacillus acidophilus*. A paciente foi tratada com a combinação de penicilina e gentamicina por um período de 6 semanas com recuperação completa. Este caso ilustra a necessidade da profilaxia antimicrobiana durante o tratamento odontológico para pacientes que apresentam distúrbios em válvulas cardíacas, assim como a necessidade de terapia antibiótica combinada para o tratamento bem-sucedido das infecções sérias causadas pelos lactobacilos.

O tratamento da endocardite e das infecções oportunistas é difícil devido ao fato de os lactobacilos serem resistentes à vancomicina (um antibiótico comumente ativo contra bactérias Gram positivas), além de serem inibidos, mas não mortos por outros agentes antimicrobianos. A associação de **penicilina e aminoglicosídeo** é necessária para a atividade bactericida.

Bifidobacterium e *Eubacterium*

As espécies de *Bifidobacterium* e *Eubacterium* são encontradas comumente na orofaringe, intestino grosso e vagina. Estas bactérias podem ser isoladas de espécimes clínicos, porém apresentam potencial de virulência muito baixo e usualmente representam contaminantes sem significado clínico. A confirmação do seu papel etiológico no processo infeccioso requer o isolamento em grande número repetitivamente de espécimes múltiplos, e ausência de outros organismos patogênicos.

Estudo de Caso e Questões

Paciente do sexo masculino de 41 anos de idade internado em hospital universitário para tratamento de uma ferida crônica supurada na mandíbula. O paciente tinha sido submetido a extração de vários dentes 3 meses antes e tinha higiene oral deficiente e hálito fétido no momento da admissão hospitalar. Múltiplos nódulos pustulares foram observados em volta de dentes cariados, sendo alguns rompidos. O material drenado era constituído de fluido soro-sanguinolento contendo pequenos grânulos duros.

1. Foi considerado diagnóstico de actinomicose. Como você coletaria e transportaria o espécime para confirmação desse diagnóstico? Quais testes diagnósticos devem ser realizados?

1. O diagnóstico de actinomicose pode ser de difícil confirmação. O material deve ser colhido evitando a contaminação oral porque *Actinomyces* fazem parte da microbiota normal da orofaringe. Além disso, relativamente poucos organismos estão presentes no espécime e a cultura deve ser incubada por no mínimo uma semana. Por estes motivos, muitos diagnósticos de actinomicose não são confirmados. Os grânulos presentes no material (chamados grânulos de enxofre) devem ser esmagados e examinados microscopicamente. Bacilos Gram positivos embebidos em substância mineral amorfa deve ser observada.

2. Descreva a epidemiologia da actinomicose. Qual o fator de risco deste paciente?

2.*Actinomyces* coloniza a orofaringe, trato gastrintestinal e vagina. As infecções geralmente são crônicas, de desenvolvimento lento, ocorrendo após trauma que introduz o organismo da mucosa para tecidos profundos. A infecção é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões granulomatosas crônicas que se tornam supurativas e formam abscessos. Actinomicose pélvica é frequentemente associada com a presença de um dispositivo intrauterino. A pouca higiene oral deste paciente predispõe a actinomicose cervical.

3. Quais doenças são causadas por *Propionibacterium*? Qual a fonte mais comum desse microrganismo?

3.*Propionibacterium acnes* é responsável pela acne e infecções oportunistas em pacientes com próteses ou linhas intravasculares. *Propionibacterium propionicus* causa canaliculite lacrimal (inflamação do canal lacrimal) e abscesso. Ambos colonizam a superfície da pele e membranas mucosas.

Bibliografia

Brook I, Frazier EH. Infections caused by Propionibacterium species. *Rev Infect Dis*. 1991;3:819-822.
Cannon JP. et al: Pathogenic relevance of Lactobacillus: A retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:31-40.
Hofstad T. Current taxonomy of medically important nonsporing anaerobes. *Rev Infect Dis*. 1990;12(Suppl):122-126.
Hollick G. Isolation and identification of aerobic actinomycetes. *Clin Microbiol Newsl*. 1995;17:25-29.
Murdoch D. Gram-positive anaerobic cocci. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:81-120.
Pulverer G, Schutt-Gerowitt H, Schaal KP. Human cervicofacial actinomycoses: Microbiological data for 1997 cases. *Clin Infect Dis*. 2003;37:490-497.
Smego RA. Actinomycosis of the central nervous system. *Rev Infect Dis*. 1987;9:855-865.
Stackebrandt E, Rainey F, Ward-Rainey N. Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1997;47:479-491.
Tiveljung A, Forsum U, Monstein HJ. Classification of the genus Mobiluncus based on comparative partial 16S rRNA gene analysis. *Int J Syst Bacteriol*. 1996;46:332-336.

41 Bactérias Gram Negativas Anaeróbias

A cada edição deste livro, o número de gêneros de bacilos Gram negativos anaeróbios e cocos Gram negativos anaeróbios se expande. Muitos gêneros novos representam a reclassificação de organismos bem conhecidos e alguns representam bactérias recémdescobertas. Os anaeróbios Gram negativos mais importantes que colonizam o trato respiratório superior, gastrintestinal e geniturinário humanos são bacilos dos gêneros *Bacteroides, Fusobacterium, Parabacteroides, Porphyromonas* e *Prevotella*, e os cocos do gênero *Veillonella* (Quadro 41-1). As bactérias anaeróbias são predominantes em cada um desses locais, sobrepujando as bactérias aeróbias de 10 até 1.000 vezes. A diversidade de espécies também é grande, sendo estimado que até 500 espécies diferentes de bactérias colonizem a bolsa periodontal, muitas delas anaeróbias. Apesar da abundância e diversidade dessas bactérias, a maioria das infecções é causada por relativamente poucas espécies (Tab. 41-1). Entre os patógenos, o mais importante é o ***Bacteroides fragilis***, o protótipo de patógeno anaeróbio endógeno.

Quadro 41-1 Anaeróbios Gram Negativos Importantes

Organismos	Etimologia
Bacteroides	*bacter*, “bastão” ou “bacilo”; *idus*, “forma” (em forma de bacilo ou bastão)
B. fragilis	*fragilis*, “frágil” (relacionada à fragilidade de colônias)
B. thetaiotaomicron	das letras gregas teta, iota, ómicron
Fusobacterium	*fusus*, um “fuso”; *bakterion*, um “pequeno bastão” (um pequeno bastão em forma de fuso)
F. nucleatum	*nucleatum*, com um “centro” ou nucleada (refere-se à aparência “manchada” ou de vidro moído das colônias)
F. necrophorum	*necros*, “morto”; *phorum*, “produzir” (produtor de necrose)
Parabacteroides	*para* “relacionado a” (relacionado a *Bacteroides*)
P. distasonis	*distasonis*, Distaso (nome em homenagem a A. *Distaso*, bacteriologista romeno)
Porphyromonas	*porphyreos*, “roxo”, *monas*, “unidade” (bacilo pigmentado)

P. asaccharolytica	*a* “não”; *sacchar*, “açúcar”; *lyticus*”, “capaz de degradar” (incapaz de digerir açúcares; assacarolítico)
P. gingivalis	*Gingivalis*, “de gengiva”
Prevotella	*Prevotella*, nomeado em homenagem ao microbiologista francês A. R. *Prevot*, um pioneiro da microbiologia de anaeróbios
P. intermedia	*intermedius*, “intermediário” (anteriormente classificada como uma das três subespécies de *Bacteroides melaninogenicus:* subsp. *melaninogenicus*, subsp. *intermedius* e subsp. *asaccharolyticus*)
P. melaninogenica	*melas*, “negra”; *genicus*, “produtor” (produtor de colônia de cor negra)
P. bivia	*bivius* “com duas vias” (relativo às atividades sacarolítica e proteolítica da espécie)
P. disiens	*disiens* “indo em duas vias” (atividades sacarolítica e proteolítica)
Veillonella parvula	*Veillonella*, nomeado em homenagem a A. *Veillon*, bacteriologista francês que isolou a espécie protótipo; *parvula* “muito pequena” (refere-se ao tamanho do coco - não do bacteriologista!)

Tabela 41-1 Bactérias Gram negativas Anaeróbias Predominantes Responsáveis por Doenças Humanas

Infecção	**Bactérias**
Cabeça e pescoço	*Bacteroides ureolyticus*
	Fusobacterium nucleatum
	Fusobacterium necrophorum
	Porphyromonas asaccharolytica
	Porphyromonas gengivalis
	Prevotella intermedia
	Prevotella melaninogenica
	Veillonella parvula
Intra-abdominal	*Bacteroides fragilis*
	Bacteroides thetaiotaomicron
	P. melaninogenica
Ginecológica	*B. fragilis*
	Prevotella bivia
	Prevotella disiens
Pele e tecidos moles	*B. fragilis*
Bacteremia	*B. fragilis*
	B. thetaiotaomicron
	Fusobacterium spp.

Fisiologia e Estrutura

Por algum tempo, o gênero *Bacteroides* consistia de quase 50 espécies, mas muitas dessas foram transferidas para novos gêneros. Uma característica comum às atuais espécies remanescentes do gênero *Bacteroides* é a estimulação do crescimento geniturinários por 20% de bile. Em contraste, espécies sensíveis à bile foram reclassificadas em outros gêneros, como *Porphyromanas* (bacilos pigmentados, assacarolíticos) e *Prevotella* (bacilos pigmentados e não pigmentados, sacarolíticos).

B. fragilis – o membro mais importante deste gênero – é pleomórfico em forma e tamanho, lembrando uma população mista de organismos comuns na coloração de Gram (Fig. 41-1). Outros bacilos Gram negativos podem ser muito pequenos (p. ex., espécies de *Prevotella*) ou alongados (p. ex., *Fusobacterium*; Fig. 41-2). A maioria dos anaeróbios Gram negativos responde fracamente à coloração de Gram, de modo que amostras coradas devem ser cuidadosamente examinadas. Embora espécies de *Bacteroides* cresçam rapidamente em cultura, os demais bacilos Gram negativos anaeróbios são fastidiosos e as culturas devem ser incubadas durante 3 dias ou mais, antes que o crescimento possa ser detectado.

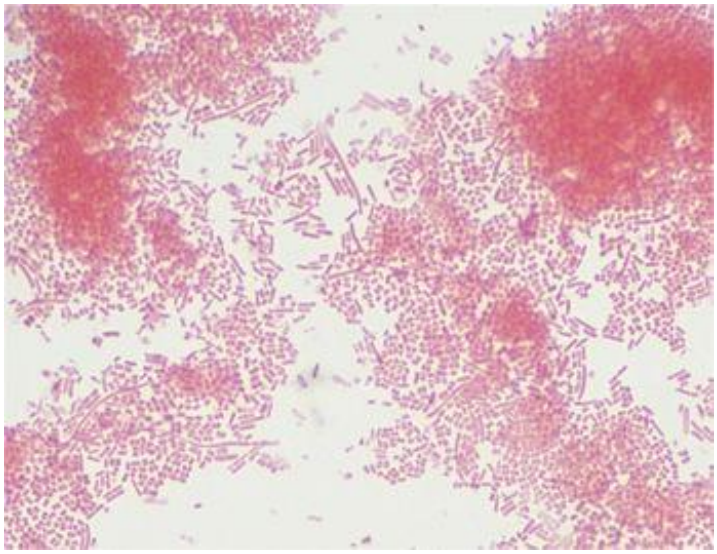


Figura 41-1 *Bacteroides fragilis*. Organismos se apresentam como bacilos Gram negativos pleomórficos com coloração pouco intensa.

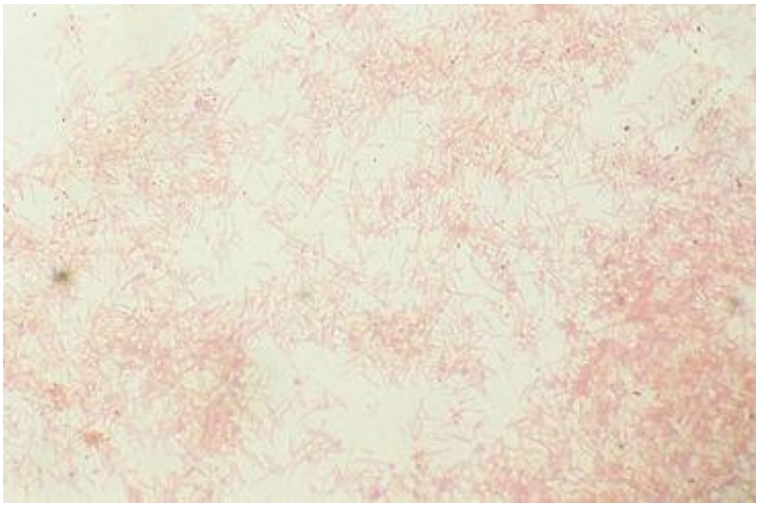


Figura 41-2 *Fusobacterium nucleatum*. Os organismos são delgados e alongados e apresentam coloração pouco intensa e extremidades afiladas (p. ex., fusiforme).

Bacteroides apresenta uma estrutura da parede celular típica de bactéria Gram negativa, que pode ser circundada por uma **cápsula polissacarídica**. Um dos principais componentes da parede celular de Gram negativos é uma camada externa de lipopolissacarídeos (LPS). Em contraste com os LPSs de *Fusobacterium* e bacilos Gram negativos aeróbios, o LPS de *Bacteroides* apresenta pouca ou nenhuma atividade de endotoxina. Isso ocorre porque o lipídio A do LPS não tem grupamentos fosfato nos resíduos de glicosamina, e o número de ácidos graxos ligados aos açúcares aminados é reduzido; ambos os fatores estão correlacionados com a perda da atividade de pirogênio.

Os cocos Gram negativos anaeróbios são raramente isolados de amostras clínicas, exceto quando presentes como contaminantes. Os membros do gênero *Veillonella* são os anaeróbios predominantes na orofaringe, mas representam menos de 1% de todos os anaeróbios isolados em amostras clínicas. Os demais cocos anaeróbios são raramente isolados.

Patogênese e Imunidade

Apesar da variedade de espécies anaeróbias que colonizam o corpo humano, relativamente poucas são responsáveis por causar doenças. Por exemplo, *Parabacteroides distasonis* e *Bacteroides thetaiotaomicron* são os bacilos Gram negativos anaeróbios predominantes no trato gastrintestinal, porém, a maioria das infecções intra-abdominais está associada a *B. fragilis*, o membro minoritário da microbiota gastrintestinal. A virulência aumentada deste e de outros patógenos anaeróbios é atribuída a uma variedade de fatores de virulência que facilitam a aderência do organismo aos tecidos do hospedeiro, proteção contra a resposta imune e destruição tecidual.

Adesinas

Cepas de *B. fragilis* e *Prevotella melaninogenica* podem aderir de forma mais eficaz à superfície peritoneal que outros anaeróbios, porque a superfície dessas duas espécies está coberta com uma cápsula polissacarídica. *B. fragilis* e outras espécies de *Bacteroides* e *Porphyromonas gengivalis* podem aderir a células epiteliais e moléculas extracelulares (p. ex., fibrinogênio, fibronectina, lactoferrina), por meio de fímbrias. As fímbrias de *P. gingivalis* também são importantes para a indução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interleucina-l beta (IL-1β).

Proteção contra Fagocitose

Assim como as cápsulas de outras bactérias, o polissacarídeo capsular destes organismos tem efeito antifagocitário. Além disso, os ácidos graxos de cadeias curtas (p. ex., ácido succínico) produzidos durante o metabolismo anaeróbio inibem a fagocitose e a destruição intracelular. Finalmente, proteases que degradam imunoglobulinas são produzidas por algumas espécies *Porphyromonas* e *Prevotella*.

Proteção contra a Toxicidade do Oxigênio

Geralmente, os anaeróbios capazes de causar doença toleraram a exposição ao oxigênio. Catalase e superóxido dismutase, que inativam o peróxido de hidrogênio e radicais livres superóxido (O_2), respectivamente, estão presentes em muitas cepas patogênicas.

Destruição Tecidual

Uma variedade de enzimas citotóxicas tem sido associadas a anaeróbios Gram negativos. Muitas dessas enzimas são encontradas em isolados virulentos e avirulentos. No entanto, a capacidade destes organismos em causar destruição tecidual, inativar imunoglobulinas e resistir à toxicidade de oxigênio (superóxido dismutase) provavelmente desempenha um papel importante na patogênese de infecções anaeróbias.

Produção de Toxina

Cepas enterotoxigênicas de *B. fragilis* que causam doenças diarreicas produzem uma **toxina termolábil da classe das metaloproteases dependentes de zinco** (***B. fragilis* toxina [BFT]**). Esta toxina provoca alterações morfológicas do epitélio intestinal, por meio de rearranjo de actina F, com consequente estimulação de secreção de cloreto e perda de fluidos. A enterotoxina também induz a secreção de IL-8 por células epiteliais intestinais, contribuindo para dano inflamatório no epitélio.

Epidemiologia

Como citado anteriormente, um grande número de cocos e bacilos Gram negativos anaeróbios colonizam o corpo humano. As numerosas e importantes funções desses microrganismos nesses locais incluem a estabilização da microbiota bacteriana residente, prevenindo a colonização por patógenos exógenos, e o auxílio na digestão de alimentos. Estes organismos, que são normalmente protetores, podem também causar doença grave quando se deslocam de sítios endógenos para outros normalmente estéreis (*i. e*., o mesmo que é descrito para bactérias Gram positivas anaeróbias não formadoras de esporos no Capítulo 40). Assim, os organismos da microbiota residentes são capazes de se disseminar, por trauma ou doença, das mucosas normalmente colonizadas para tecidos ou fluidos estéreis.

Como esperado, estas infecções endógenas são caracterizadas pela presença de uma mistura polimicrobiana. É importante observar, entretanto, que a mistura de organismos presentes na superfície de mucosas saudáveis difere daquela presente em tecidos doentes. A diferença se relaciona ao potencial de virulência dos organismos patogênicos e sua capacidade em aumentar o reduzido número existente na superfície de mucosas, até se tornarem predominantes no local da infecção. Por exemplo, *B. fragilis* é comumente associado a infecções pleuropulmonares, intra-abdominais e genitais. Entretanto, essa bactéria representa menos de 1% da microbiota do cólon e é, raramente, isolada da orofaringe e trato genital de pessoas saudáveis, a não ser que técnicas altamente seletivas sejam utilizadas.

Doenças Clínicas

Infecções do Trato Respiratório

Cerca de metade das infecções crônicas dos seios faciais e ouvidos e, praticamente, todas as infecções periodontais envolvem misturas de anaeróbios Gram negativos, sendo mais comumente isoladas *Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium* e espécies de *Bacteroides* diferentes de *B. fragilis*. Anaeróbios são raramente associados a infecções do trato respiratório inferior, a menos que haja um histórico de aspiração de secreções orais.

Abscesso Cerebral

Infecções causadas por microrganismos anaeróbios no cérebro são tipicamente associadas com história de sinusite ou otite crônicas. Essa história é confirmada por evidência radiológica de extensão direta para o cérebro. Uma causa menos comum de tais infecções é a bacteremia a partir de fonte pulmonar. Nesse caso, abscessos múltiplos estão presentes. Os anaeróbios mais comuns em tais infecções polimicrobianas são espécies de *Prevotella, Porphyromonas* e *Fusobacterium* (bem como, *Peptostreptococcus* e outros cocos aeróbios e anaeróbios).

Infecções Intra-abdominais

Apesar da diversidade de populações de bactérias que colonizam o trato gastrintestinal, relativamente poucas espécies estão associadas a infecções intra-abdominais. Anaeróbios são isolados em praticamente todas estas infecções, sendo *B. fragilis* o mais comum (Fig. 41-3). Outros anaeróbios importantes são *B. thetaiotaomicron* e *P. melaninogenica*, bem como cocos Gram positivos aeróbios e anaeróbios.

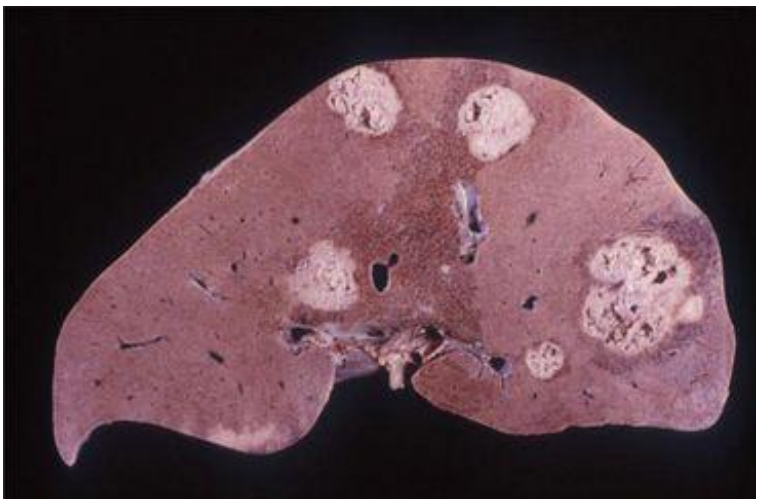


Figura 41-3 Abscessos de fígado causado por *Bacteroides fragilis*.

Infecções Ginecológicas

Misturas de anaeróbios são frequentemente responsáveis por infecções do trato genital feminino (p. ex., doença inflamatória pélvica, abscessos, endometrite, infecções de feridas cirúrgicas). Embora uma variedade de anaeróbios possa ser isolada de pacientes com essas infecções, *Prevotella bivia* e *Prevotella disiens* são os mais importantes; *B. fragilis* é geralmente responsável por formação de abscessos.

Infecções da Pele e de Tecidos Moles (Caso Clínico 41-1)

Embora bactérias Gram negativas anaeróbias não façam parte da microbiota normal da pele (em contraste com espécies de *Peptostreptococcus* e *Propionibacterium*), essas podem ser introduzidas por mordida ou por contaminação de uma superfície traumatizada. Em alguns casos, os organismos podem simplesmente colonizar uma ferida sem produzir doença; em outros casos, a colonização pode ter um progresso rápido para doença severa, tal como mionecrose (Fig. 41-4). *B. fragilis* é o organismo mais associado a doenças significativas.

Caso Clínico 41-1 Fasciite Necrotizante Retroperitoneal

Pryor et al. (Crit Care Med 29:1071-1073, 2001) descreveram um paciente desafortunado com fasciite polimicrobiana. Um homem de 38 anos de idade com histórico de 10 anos de infecção por HIV foi submetido a uma hemorroidectomia simples. Durante os 5 dias seguintes, o paciente apresentou dor nas coxas e nádegas, com náusea e vômitos. Quando o paciente chegou ao hospital, tinha frequência cardíaca de 120 batimentos/min, pressão arterial de 120/60 mm Hg, frequência respiratória de 22 respirações/min e temperatura de 38,5°C. O exame físico revelou extenso eritema na região da cirurgia, flanco, coxas e parede abdominal. Foi observada formação de gás nos tecidos subjacentes às áreas de eritema, se estendendo até a parte superior do tórax. Na cirurgia, extensas áreas de necrose tecidual e um exsudato acastanhado de odor fétido foram encontrados. Foram necessárias diversas cirurgias para desbridamento intenso dos tecidos envolvidos. Uma mistura de microrganismos aeróbios e anaeróbios, com predominância de *Escherichia coli*, estreptococos β-hemolíticos e *Bacteroides fragilis*, foi observada em culturas inoculadas com amostras cirúrgicas. Esse caso clínico ilustra as possíveis complicações de cirurgia retal: destruição intensa de tecidos, etiologia polimicrobiana com *B. fragilis* como organismo predominante e tecido necrótico com odor fétido e produção de gás.

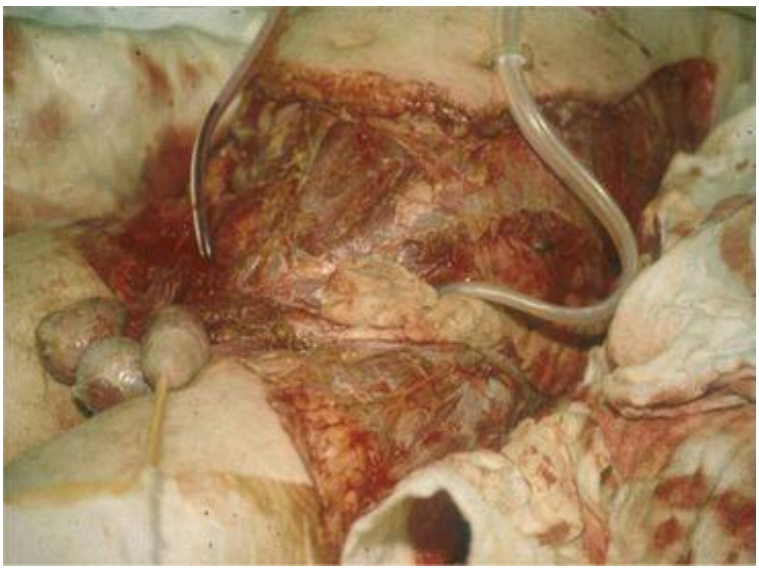


Figura 41-4 Infecção polimicrobiana envolvendo sinergismo de *Bacteroides fragilis* e outros anaeróbios. A infecção teve início no escroto e rapidamente se espalhou para o tronco e para as coxas, com extensiva mionecrose.

Bacteremia

Anaeróbios costumavam ser responsabilizados por mais de 20% de todos os casos de bacteremia clinicamente significativa; no entanto, atualmente estes organismos causam 1% a 3% de tais infecções. A redução da incidência dessa doença não é totalmente compreendida, mas provavelmente pode ser atribuída à utilização generalizada de antibióticos de largo espectro. *B. fragilis* é o anaeróbio mais comumente isolado em hemoculturas.

Gastroenterite

Cepas de *B. fragilis* produtoras de enterotoxina podem levar à diarreia aquosa autolimitada. A maioria das infecções tem sido observada em crianças menores de 5 anos de idade, apesar da doença também ter sido relatada em adultos.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

O exame microscópico de amostras de pacientes com suspeita de infecções por anaeróbios pode ser útil. Embora as bactérias possam corar fracamente e de modo irregular, a presença de bacilos Gram negativos pleomórficos consiste em uma informação preliminar útil.

Cultura

As amostras devem ser coletadas e transportadas para o laboratório em recipientes livres de oxigênio, prontamente inoculadas em meios seletivos para isolamento de anaeróbios e incubadas em um ambiente anaeróbio. Em razão de a maioria das infecções anaeróbias ser endógena, ao fazer a coleta é importante evitar contaminação da amostra pela microbiota residente localizada na superfície de mucosas adjacentes. As amostras também devem ser mantidas em um ambiente úmido, pois a desidratação provoca perda bacteriana significativa.

A maioria dos *Bacteroides* cresce rapidamente e deve ser detectado dentro de 2 dias, no entanto, outras bactérias Gram negativas anaeróbias podem exigir períodos de incubação maiores. Além disso, o isolamento de todas as espécies bacterianas clinicamente significativas é difícil, em virtude da diversidade de bactérias presentes em infecções polimicrobianas. A utilização de meios seletivos, como aqueles suplementados com bile, tem permitido o isolamento dos anaeróbios mais importantes (Fig. 41-5). Adicionalmente, o meio enriquecido com sangue lisado estimula a produção de pigmento em organismos, como *Porphyromonas* e *Prevotella* (Fig. 41-6).

Figura 41-5 Crescimento do *Bacteroides fragilis* em meio seletivo agar *Bacteroides* bile-esculina. A maioria das bactérias aeróbias e anaeróbias é inibida pela bile e gentamicina deste meio, enquanto o grupo *B. fragilis* é estimulado pela bile, resistente à gentamicina e capaz de hidrolisar esculina, produzindo um precipitado preto.

Figura 41-6 Crescimento de *Prevotella* em agar sangue lisado. Observe a pigmentação negra das colônias.

Identificação Bioquímica

A identificação preliminar do grupo *B. fragilis* pode ser feita a partir de (1) coloração de Gram e morfologia de colônia; (2) **resistência à canamicina, vancomicina e colistina**; e (3) **crescimento em meio de enriquecimento contendo 20% de bile**. A identificação definitiva deste grupo e de outros anaeróbios Gram negativos é realizada com sistemas bioquímicos comercialmente disponíveis, que medem a atividade de enzimas pré-formadas ou por análise da sequência de genes espécie-específicas (p. ex., gene 16S do RNA ribossomal).

Tratamento, Prevenção e Controle

Antibioticoterapia combinada com intervenção cirúrgica é a principal abordagem para o tratamento de infecções graves provocadas por anaeróbios. Praticamente todos os membros do grupo *B. fragilis*, muitas espécies de *Prevotella* e *Porphyromonas* e alguns isolados *Fusobacterium*, produzem β-lactamases. Estas enzimas tornam as bactérias resistentes à penicilina e a muitas cefalosporinas. Antimicrobianos com atividade mais eficaz contra bacilos anaeróbios Gram negativos são **metronidazol, carbapenêmicos** (p. ex., imipenem, meropenem) e a combinação **β-lactâmicos e inibidores de β-lactamases** (p. ex., piperacilina-tazobactam). A resistência de *Bacteroides* à clindamicina, que é mediada por plasmídeo, tornou-se mais prevalente e atualmente de 20% a 25% dos isolados nos Estados Unidos são resistentes a esse fármaco.

Em razão de as espécies de *Bacteroides* constituírem uma parte importante da microbiota normal e das infecções resultarem da disseminação de espécies endógenas, a doença é virtualmente impossível de ser controlada. É importante reconhecer, contudo, que a ruptura de barreiras naturais de superfícies de mucosas para fins de diagnóstico ou procedimentos cirúrgicos podem introduzir estes organismos em locais normalmente estéreis. Se as barreiras forem rompidas, o tratamento profilático com antimicrobianos pode ser indicado.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 65 anos de idade procurou o departamento de emergência de um hospital local. Ele parecia estar muito doente, com sensibilidade abdominal e febre de 40°C. O paciente foi encaminhado para cirurgia com suspeita de apendicite. Ruptura do apêndice, circundada por cerca de 20 mL de secreção purulenta de odor fétido, foi observada na laparotomia. O pus foi drenado e inoculado em meio de cultura para bactérias aeróbias e anaeróbias. No pós-operatório, o paciente iniciou terapia com antimicrobiano. A coloração de Gram detectou uma mistura polimicrobiana; a cultura foi positiva para *B. fragilis, Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*.

1. Qual(is) microrganismo(s) é(são) responsável(is) pela formação do abscesso? Quais fatores de virulência são responsáveis pela formação do abscesso?

1. A formação de abscesso nesta situação clínica é provavelmente causada por *Bacteroides fragilis*. A cápsula polissacarídica estimula a migração de leucócitos e formação de abscesso.

2. Em que outros locais do corpo *B. fragilis* provoca infecções?

2.*B. fragilis* coloniza o cólon em pequeno número. Entretanto, este organismo é altamente virulento e tem sido implicado em doenças em vários sítios, como pulmão (abscessos pulmonares), sistema nervoso central (abscessos cerebrais), abdome (abscessos intraintestinais), trato geniturinário (abscessos pélvicos), trato gastrintestinal (gastrenterite), sistema cardiovascular (tromboflebite e septicemia) e tecidos moles (mionecrose).

3. Quais antimicrobianos devem ser administrados para tratamento desta infecção polimicrobiana?

3. Metronidazol é uniformemente ativo contra *Bacteroides* e carbapenens (imipenem,

meropenem) são ativos contra a maioria das cepas. *E. coli* geralmente é suscetível aos carbapenens e cefalosporinas de amplo espectro. Tratamento de infecções enterocócicas sérias necessita do uso de um antibiótico ativo contra a parede (beta-lactâmico, vancomicina) com um aminoglicosídeo.

4. Quais outros bacilos anaeróbios Gram negativos são importantes causas de doença humana?

4. Outros bacilos Gram negativos associados com doença no ser humano incluem *Prevotella, Porphyromonas* e *Fusobacterium*.

Bibliografia

Aldridge KE. et al: Bacteremia due to Bacteroides fragilis group: Distribution of species, b-lactamase production, and antimicrobial susceptibility patterns. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:148-156.

Aldridge KE, O'Brien M. In vitro susceptibilities of the Bacteroides fragilis group species: Change in isolation rates significantly affects overall susceptibility data. *J Clin Microbiol*. 2002;40:4349-4352.

Bjornson AB. Role of humoral factors in host resistance to the Bacteroides fragilis group. *Rev Infect Dis*. 1990;12:S161-S168.

Duerden B. Virulence factors in anaerobes. *Clin Infect Dis*. 1994;18(Suppl 4):S253-S259.

Finegold SM, Baron EJ, Wexler HM. A Clinical Guide to Anaerobic Infections. *Belmont, Calif, Star*. 1992.

Jousimies-Somer H, Summanen P. Recent taxonomic changes and terminology update of clinically significant anaerobic gram-negative bacteria (excluding spirochetes). *Clin Infect Dis*. 2002;35(Suppl 1):S17-S21.

Wu S. et al: Diversity of the metalloprotease toxin produced by enterotoxigenic Bacteroides fragilis. *Infect Immun*. 2002;70:2463-2471.

42 *Treponema, Borrelia* e *Leptospira*

As bactérias da ordem *Spirochaetales* foram agrupadas com base em propriedades morfológicas comuns. Essas espiroquetas são bactérias Gram negativas helicoidais, delgadas (0,1 a 0,5 × 5 a 20μm). A ordem *Spirochaetales* é subdividida em três famílias e 13 gêneros, dos quais três (*Treponema, Borrelia* e *Leptospira*) são responsáveis por doenças humanas (Tab. 42-1, Quadro 42-1).

Tabela 42-1 Gêneros de Importância Médica na Ordem *Spirochaetales*

Spirochaetales	Doença Humana	Agente Etiológico

Família *Spirochaetaceae*		
Gênero *Borrelia*	Febre recorrente epidêmica	*Borrelia recurrentis*
	Febre recorrente endêmica	Diversas espécies de *Borrelia*
	Borreliose de Lyme	*Borrelia burgdorferi, Borrelia garinii, Borrelia afzelii*
Gênero *Treponema*	Sífilis venérea	*Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
	Sífilis endêmica (bejel)	*Treponema pallidum* subsp. *endemicum*
	Bouba	*Treponema pallidum* subsp. *pertunue*
	Pinta	*Treponema carateum*
Família *Leptospiraceae*		
Gênero *Leptospira*	Leptospirose	*Leptospira* spp.

Quadro 42-1 Espiroquetas Importantes

Organismo	Etimologia
Treponema	*trepo*, “virar”; *nema*, “filamento” (um filamento retorcido, refere-se à morfologia da bactéria)
T. pallidum	*pallidum*, “pálido” (refere-se ao fato de estes organismos não serem corados por corantes tradicionais)
T. carateum	*carate*, nome de doença sul-americana, pinta.
Borrelia	nomeado em homeagem a A. *Borrel*
B. recurrentis	*recurrens*, “recorrente” (referência à febre reincidente)
B. hermsii	*hermsii* (nome relacionado ao carrapato vetor *Ornithodoros hermsii*)
B. burgdorferi	nomeado em homenagem a W. *Burgdorfer*
Leptospira	*lepto* “delgado” *spira*” espiral (uma espiral delgada; refere-se à morfologia da bactéria)

Treponema (Quadro 42-2)

As duas espécies de treponema que causam doenças humanas são *Treponema pallidum* (com três subespécies) e *Treponema carateum*. Todas são morfologicamente idênticas, produzem a mesma resposta sorológica nos seres humanos e são suscetíveis à penicilina. Os organismos são distinguidos por características epidemiológicas e apresentação clínica. *T. pallidum* subsp. *pallidum* (citado como *T. pallidum* neste capítulo) é o agente etiológico da doença venérea **sífilis**; o *T. pallidum* subsp. *endemicum* causa sífilis endêmica (**bejel**); *T. pallidum* subsp. *pertenue* causa **bouba** e *T. carateum* causa **pinta**. Bejel, bouba e pinta não são doenças venéreas. A sífilis será discutida inicialmente, as demais doenças causadas por treponemas serão discutidas no final da secção.

Quadro 42-2 Resumo: *Treponema pallidum*

Biologia, Virulência e Doença

Espiroqueta muito delgada (0,1 a 0,2 × 6 a 20µm) para ser observada por coloração de Gram ou Giemsa; observada por microscopia de campo escuro

Proteínas da membrana externa promovem aderência a células hospedeiras

Hialuronidase facilita a infiltração perivascular

Camada de fibronectina protege contra a fagocitose

Destruição tecidual resulta primariamente da resposta imune do hospedeiro à infecção

Doenças incluem sífilis, bejel, bouba e pinta

Epidemiologia

Os seres humanos são os únicos hospedeiros naturais

Sífilis venérea transmitida por contato sexual ou congênito

Sífilis ocorre no mundo inteiro, sem incidência sazonal

Diagnóstico

Microscopia de campo escuro ou imunofluorescência direta (IFD) são úteis se úlceras de mucosas são observadas na fase primária ou secundária da doença

Sorologia é muito sensível nas fases secundária e tardia da sífilis

Tratamento, Prevenção e Controle

A penicilina é o fármaco de escolha; tetraciclina ou doxiciclina são administradas se o paciente for alérgico à penicilina

Práticas sexuais seguras devem ser estimuladas e parceiros sexuais de pacientes infectados devem ser tratados

Nenhuma vacina está disponível

Fisiologia e Estrutura

T. pallidum e outros treponemas patogênicos relacionados são espiroquetas delgadas (0,1 a 0,2 × 6 a 20μm), intensamente espiraladas, com extremidades afiladas. Três flagelos periplasmáticos estão inseridos em cada uma das extremidades. Essas espiroquetas não crescem em culturas usuais de laboratório. A limitação do crescimento desses organismos foi contornada pelo cultivo em células epiteliais de coelho, mas a replicação é lenta (tempo de duplicação é de 30 horas) e a cultura pode ser mantida por apenas algumas gerações. A dificuldade de cultivar *T. pallidum in vitro* se deve à ausência de ciclo dos ácidos tricarboxílicos nessa bactéria e à dependência das células hospedeiras para obtenção de todas as purinas, pirimidinas e a maioria dos aminoácidos. Além disso, as espiroquetas são microaerófilas ou anaeróbias e extremamente sensíveis ao oxigênio. O sequenciamento completo do genoma revelou que não existem genes codificadores para catalase ou superóxido dismutase.

As espiroquetas são demasiado delgadas para que amostras coradas por Gram ou Giemsa possam ser observadas ao microscópio ótico convencional. No entanto, as formas móveis podem ser visualizadas por microscopia de campo escuro ou pela coloração com anticorpos antitreponema, marcados com corantes fluorescentes.

Patogênese e Imunidade

A incapacidade de crescer *T. pallidum in vitro* em grande quantidade tem limitado a detecção de fatores de virulência específicos deste organismo. Uma análise sequencial total do genoma e de propriedades estruturais exclusivas desta espiroqueta levou a algumas deduções. Embora numerosas lipoproteínas se localizem na membrana citoplasmática bacteriana, a maioria, ou todas, não é exposta na superfície da membrana externa. A ausência de antígenos espécie-específicos na superfície da célula permite a espiroqueta escapar do sistema imunológico. Embora essas bactérias sejam capazes de resistir à fagocitose, podem aderir à fibronectina do hospedeiro, possibilitando uma interação direta com os tecidos. A análise da sequência do genoma demonstrou a presença de cinco hemolisinas, mas ainda não está claro se elas contribuem para o dano tecidual. Desse modo, foi proposto que a produção de hialuronidase facilita a infiltração perivascular, mas esta proposição ainda não foi demonstrada. A maioria dos pesquisadores acredita que a destruição tecidual e as lesões observadas na sífilis são uma consequência primaria da resposta imunológica do paciente à infecção.

O curso clínico da sífilis se desenvolve em três fases. A **fase primária**, ou inicial, é caracterizada por uma ou mais lesões cutâneas (**cancros**) no local onde a espiroqueta penetrou (Fig. 42-1). Embora as espiroquetas sejam disseminadas no sangue logo após a infecção, o cancro representa o sítio primário de replicação inicial. Exame histológico da lesão revela endarterites e periarterites (características de lesões sifilíticas em todos os estágios) e infiltração da úlcera com leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. Apesar das espiroquetas serem fagocitadas, muitas vezes os organismos sobrevivem. Na **fase secundária**, aparecem sinais clínicos de doença disseminada, com destaque para lesões cutâneas dispersas por todo o corpo (Fig. 42-2). Remissão espontânea pode ocorrer após o primeiro ou segundo estágios ou a doença pode progredir para a **fase tardia**, na qual virtualmente todos os tecidos podem estar envolvidos. Cada estágio representa a multiplicação localizada da espiroqueta e destruição tecidual. Embora a replicação seja lenta, numerosos organismos estão presentes no cancro primário, bem como nas lesões secundárias, tornando o paciente altamente infeccioso nestes estágios.

Figura 42-1 Cancro primário do pênis. Geralmente a lesão é indolor, a menos que esteja presente infecção bacteriana secundária. Grande número de espiroquetas está presente na

lesão.

(De Morse S, et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS. St Louis, Mosby, 2003.)

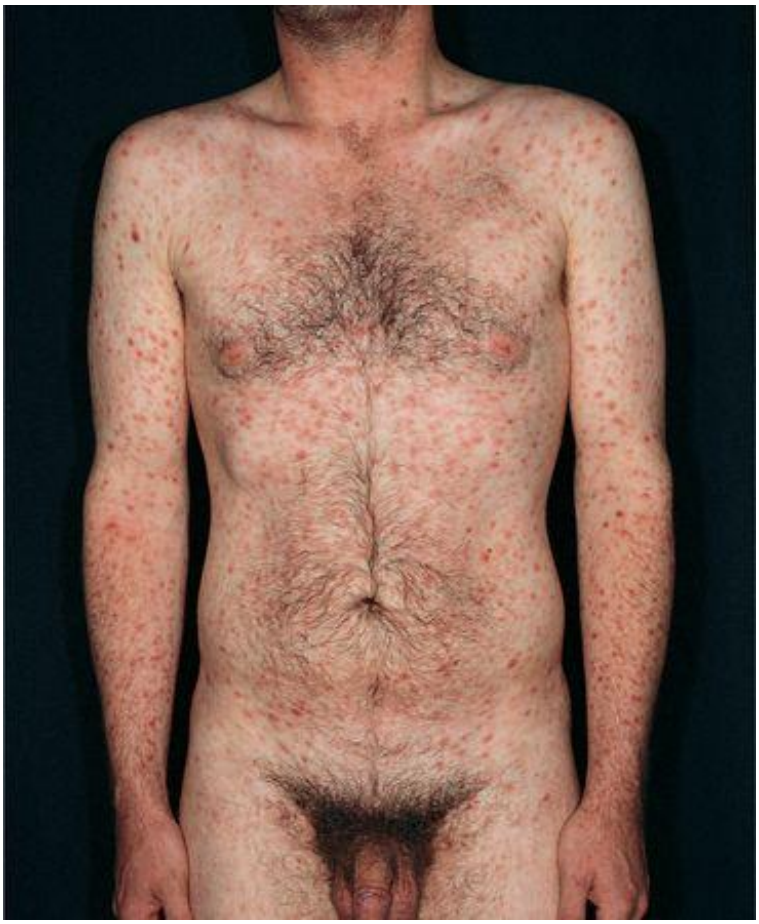


Figura 42-2 Exantema disseminada na sífilis secundária.

(De Habif TP: Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnosis and Therapy. St Louis, Mosby, 1996.)

Epidemiologia

A sífilis ocorre em todo o mundo e é a terceira doença bacteriana sexualmente transmissível mais comum nos Estados Unidos (após infecções por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*). Desde o advento da terapia com penicilina, no início dos anos 1940, a incidência global da doença diminuiu, embora tenham sido observados aumentos periódicos de incidência, que correspondem a mudanças no comportamento sexual (p. ex., uso de pílulas para controle de natalidade na década de 1960, surgimento de saunas para homossexuais na década de 1970, aumento da prostituição relacionada ao uso de cocaína e *crack* na década de 1990). Uma tendência preocupante está ocorrendo no momento. Entre 2000 e 2006 houve um aumento de 50% da doença recém-adquirida (ou seja, sífilis primária e secundária), principalmente em homossexuais do sexo masculino. Estes pacientes apresentam maior risco de transmissão e aquisição do vírus da imunodeficiência humana (HIV) quando lesões genitais estão presentes. Assim, apesar do esforço conjunto de saúde pública para eliminar a sífilis, a doença continua sendo um grave problema para a população sexualmente ativa.

A sífilis natural é exclusiva de seres humanos e não há outros hospedeiros naturais conhecidos. *T. pallidum* é extremamente sensível, incapaz de sobreviver à exposição a ambientes secos ou desinfetantes. Assim, a sífilis não pode ser disseminada por contato com objetos inanimados, tais como assentos de vasos sanitários. A rota mais comum de propagação é o contato sexual direto. A doença também pode ser congênita ou adquirida por transfusão de sangue contaminado. A sífilis não é altamente contagiosa, o risco de contrair a doença após um único contato sexual é estimado em 30%. No entanto, o contágio é influenciado pela fase da doença no transmissor. Como mencionado anteriormente, as espiroquetas não sobrevivem em superfície epitelial seca. Assim, o *T. pallidum* é transferido principalmente durante as fases iniciais da doença, quando um grande número de organismos está presente nas lesões úmidas da pele ou mucosas. Durante os estágios iniciais da doença, o paciente apresenta bacteremia e se a doença não for tratada, a bacteremia pode per sistir por até 8 anos. A transmissão congênita pode ocorrer a qualquer momento durante toda a gravidez. Após 8 anos, a doença pode permanecer ativa, mas se acredita que não ocorra mais bacteremia.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 42-1)

Sífilis Primária

Como observado anteriormente, o cancro sifilítico primário se desenvolve no local onde a espiroqueta é inoculada. A lesão se desenvolve em 10 a 90 dias após a infecção inicial e inicia como uma pápula que sofre erosão e se torna uma **úlcera indolor** com bordas elevadas (Fig. 42-1). Na maioria dos pacientes, linfadenopatia indolor localizada se desenvolve dentro de 1 a 2 semanas após o aparecimento do cancro, o que representa um foco local de proliferação das espiroquetas. Um grande número de espiroquetas está presente no cancro e pode ser disseminado no paciente via sistema linfático e corrente sanguínea. O fato de essa úlcera cicatrizar espontaneamente dentro de 2 meses dá ao paciente uma falsa sensação de cura.

Caso Clínico 42-1 História da Sífilis

A origem da sífilis tem sido debatida há décadas. Exame de ossos recuperados nas Américas, Europa, Ásia e África pode resolver esta questão. A doença que conhecemos como sífilis provavelmente tenha evoluído a partir da bouba e, mais recentemente, de bejel. Cada doença produz alterações ósseas distintas. Os primeiros indícios de doença treponêmica foram na África e parece ter se espalhado para as Américas por uma rota asiática. Quando Colombo navegou para as Américas, a sífilis estava bem estabelecida em todo o Novo Mundo, incluindo a República Dominicana, onde ele desembarcou. Em contrapartida, não há evidência de sífilis na Europa pré-colombiana, África ou Ásia. Assim, é provável que a tripulação que acompanhava Colombo tenha adquirido esta doença no Novo Mundo e a introduziu na população do Velho Mundo, quando retornaram para casa.

Sífilis Secundária

Evidências clínicas da doença disseminada marcam o segundo estágio da sífilis. Neste estágio, os pacientes tipicamente experimentam um estado semelhante ao de uma síndrome gripal com dor de garganta, dor de cabeça, febre, mialgia (dores musculares), anorexia, linfadenopatia (gânglios linfáticos inchados) e exantema mucocutâneo generalizado (Fig. 42-2). Sintomas semelhantes aos da gripe e linfadenopatia geralmente se manifestam primeiramente, e são seguidos por erupção cutânea disseminada, alguns dias mais tarde. O exantema pode ser variável (macular, papular, pustuloso), cobrindo a totalidade da superfície cutânea (incluindo as palmas das mãos e plantas dos pés) e pode desaparecer lentamente ao longo de um período de semanas a meses. Lesões denominadas **condiloma plano** (**condilomata lata)** podem ocorrer em dobras úmidas da pele e podem se desenvolver erosões na boca e em outras superfícies mucosas. Tal como acontece com o cancro primário, estas lesões são altamente infecciosas. O exantema cutâneo e os sintomas curam espontaneamente dentro de algumas semanas e o paciente entra na fase latente ou clinicamente inativa da doença.

Sífilis Terciária (tardia)

Aproximadamente um terço dos pacientes não tratados progride para o estágio terciário da sífilis. Os sintomas clínicos da sífilis tardia se caracterizam por uma inflamação difusa crônica, que se desenvolve após um período assintomático de alguns anos a décadas, e pode causar uma destruição devastadora virtualmente em qualquer órgão ou tecido (p. ex., arterite, demência, cegueira). Lesões granulomatosas (**gumas**) podem ser encontradas nos ossos, pele

e outros tecidos. A nomenclatura da sífilis tardia reflete os órgãos primariamente acometidos (p. ex., neurossífilis, sífilis cardiovascular). Apesar de existir terapia adequada para sífilis inicial, o aumento da incidência de neurossífilis tem sido documentado em pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS). Além disso, as espiroquetas são introduzidas no sistema nervoso central durante as fases iniciais da doença e sintomas neurológicos, como meningite, podem se desenvolver nos primeiros meses da doença. A neurossífilis não é uma manifestação exclusivamente tardia.

Sífilis Congênita

Infecções intrauterinas podem levar à doença fetal grave, resultando em infecções latentes, malformações em múltiplos órgãos ou morte do feto. A maioria das crianças infectadas nasce sem evidências clínicas da doença, mas em seguida desenvolve rinite, seguida por exantema cutâneo maculopapular descamativo disseminado. Malformação de dentes e ossos, cegueira, surdez e sífilis cardiovascular são comuns em crianças não tratadas que sobreviveram à fase inicial da doença.

Diagnóstico Laboratorial (Tabela 42-2)

Microscopia

Em razão do *T. pallidum* ser muito delgado para ser observado por microscópio ótico comum, **microscopia de campo escuro** ou **colorações com marcadores fluorescentes especiais** devem ser utilizadas. O diagnóstico da sífilis primária, secundária ou congênita pode ser feito rapidamente pelo exame do exsudato das lesões cutâneas em microscopia de campo escuro, entretanto, o teste é confiável apenas quando um microscopista experiente examina imediatamente o material clínico contendo espiroquetas móveis. As espiroquetas não sobrevivem ao transporte para o laboratório e restos de tecido podem ser confundidos com espiroquetas não viáveis. Material coletado de lesões orais e retais não deve ser analisado, porque espiroquetas não patogênicas podem contaminar a amostra. Em virtude das limitações da microscopia de campo escuro, uma alternativa útil para a detecção de *T. pallidum* é o **teste de imunofluorescência direta (IFD)**. Anticorpos antitreponema ligados a moléculas fluorescentes são utilizados para a marcação da bactéria (Fig. 42-3). Um reativo com anticorpo monoclonal específico para treponemas patogênicos está disponível, permitindo o exame de material oral e retal. Espiroquetas imóveis também podem ser coradas, portanto, não há necessidade de examinar as amostras imediatamente após a coleta.

Tabela 42-2 Testes Diagnósticos para Sífilis

Teste Diagnóstico	Método ou Exame
Microscopia	Campo escuro
	Técnica de imuno fluorescência direta
Cultura	Indisponível
Sorologia	Testes não treponêmicosTeste de VDRL Teste do RPR Teste da USR Teste de TRUST
	Testes não treponêmicosTeste FTA-ABS
	Teste de aglutinação de partículas para *Treponema pallidum* (TP-PA)
	Enzima imunoensaio (EIA)

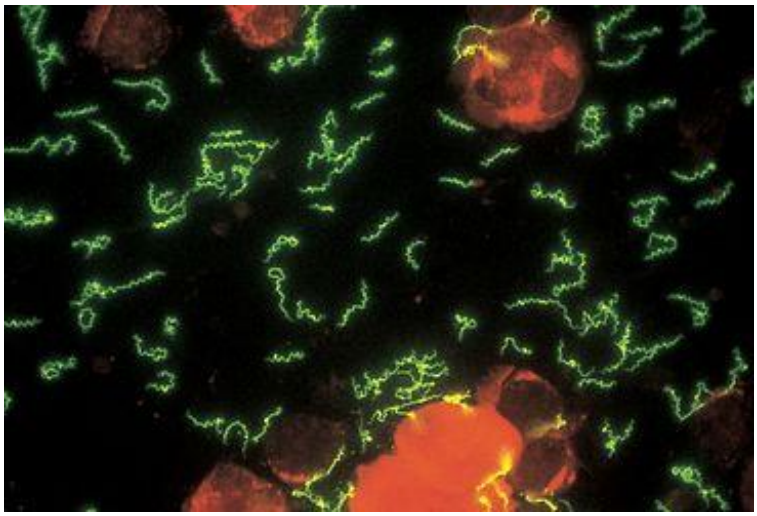


Figura 42-3 *Treponema pallidum* observado por técnica imunofluorescência direta.

(De Morse S. et al: Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS. St Louis, Mosby, 2003.)

Cultura

Esforços para cultivar *T. pallidum in vitro* não devem ser feitos, porque o organismo não cresce em meios de cultura artificiais.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

A metodologia de amplificação de ácidos nucleicos (ou seja, PCR) foi desenvolvida para a detecção de *T. pallidum* em lesões genitais, sangue de crianças e líquido cefalorraquidiano (LCR), mas só estão disponíveis em laboratórios de pesquisa ou de referência.

Detecção de Anticorpos

Na maioria dos pacientes, a sífilis é diagnosticada com base em testes sorológicos. Os dois tipos gerais de testes utilizados são os biologicamente não específicos (não treponêmicos) e os específicos para treponemas (treponêmicos). Os testes não treponêmicos são utilizados como testes de rastreamento, porque são de rápida execução e baixo custo. Reatividade positiva em um destes testes é confirmada por um teste treponêmico.

Testes não treponêmicos medem os anticorpos IgG e IgM (também denominados **anticorpos reagênicos**) desenvolvidos contra lipídios que estão presentes na superfície de treponemas e são liberados pelas células danificadas durante a fase inicial da doença. O antígeno utilizado para testes não treponêmicos é a **cardiolipina**, derivada de coração bovino. Os dois testes mais utilizados são o **VDRL (Venereal Disease Research Laboratory)** e o **teste reagina plasmática rápida** (**RPR**). Ambos medem a floculação do antígeno cardiolipina pelo soro de paciente. Também são realizados rapidamente, embora o complemento no soro deva ser inativado por 30 minutos antes de realizar o VDRL. Apenas o VDRL deve ser utilizado para testar o LCR de pacientes com suspeita de neurossífilis. Outros testes não treponêmicos, utilizados atualmente, incluem o teste da reagina com soro não aquecido (USR) e o teste da **toluidina vermelha** com **soro não aquecido** (TRUST). Todos os testes não treponêmicos apresentam sensibilidade (80% a 85% para a doença primária, 100% para a doença secundária, 70% a 75% para a sífilis tardia) e especificidade (98% a 99%).

Os **testes treponêmicos** utilizam *T. pallidum* como antígeno e detectam anticorpos anti-*T. pallidum*. Os testes treponêmicos podem ser positivos antes dos testes não treponêmicos na sífilis inicial e podem permanecer positivos mesmo quando os resultados de testes inespecíficos tenham revertido para negativos em alguns pacientes com sífilis tardia. Historicamente, o teste específico mais comum foi o **teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente** (**FTA-ABS**). Este é um teste de imunofluorescência indireta, no qual o antígeno *T. pallidum* em lâmina é coberto com o soro do paciente previamente misturado a extrato de treponemas não patogênicos. Anticorpos humanos marcados com fluoresceína são adicionados para detectar a presença de anticorpos específicos no soro de paciente. Uma vez que esses testes são difíceis de interpretar, atualmente a maioria dos laboratórios utiliza o **teste de aglutinação de partículas para *T. pallidum*** (**TP-PA**) ou um dos imunoensaios com enzimas específicas (**EIAs**). O TP-PA é um teste de aglutinação em microplaca no qual partículas de gelatina sensibilizadas com antígenos *T. pallidum* são misturadas a diluições de soro de paciente. As partículas aglutinam na presença de anticorpos. Uma variedade de ensaios imunoenzimáticos (EIAs) foi desenvolvida e com sensibilidade (80% a 95% para a doença primária, 100% para a sífilis secundária e tardia) e especificidade (96% a 99%) semelhantes ao testes FTA-ABS e TP-PA.

Em razão das reações positivas para os testes não treponêmicos se desenvolverem tardiamente na fase primária da doença, os achados sorológicos são negativos em muitos pacientes que tinham desenvolvido cancro inicialmente. No entanto, os resultados sorológicos se tornam positivos dentro de 3 meses em todos os pacientes e continuam positivos em pacientes com sífilis secundária não tratada. Os títulos de anticorpos diminuem lentamente em pacientes com sífilis não tratada e os resultados sorológicos são negativos em 25% a 30% dos pacientes com sífilis tardia. Assim, a limitação dos testes não treponêmicos é a reduzida sensibilidade no início da doença primária e na sífilis tardia. Embora os resultados dos testes treponêmicos geralmente permaneçam positivos durante toda a vida, o teste negativo não é confiável em pacientes com AIDS.

O sucesso do tratamento da sífilis primária ou secundária e, em menor extensão, da sífilis tardia, leva à diminuição dos títulos medidos pelos testes VDRL e RPR. Assim, estes testes podem ser utilizados para monitorar a eficácia da terapia, embora a sororrreversão seja diminuída nos pacientes em estágio avançado da doença, naqueles com títulos iniciais altos e nos que tiveram sífilis anteriormente. Os testes treponêmicos são menos influenciados pela terapia do que os testes VDRL e RPR, com sororreversão observada em menos de 25% dos doentes tratados com sucesso durante a fase primária da doença.

Reações falso-positivas transitórias com testes não treponêmicos são observadas em pacientes com doenças febris agudas, após imunizações e em mulheres grávidas. As reações falso-positivas a longo prazo ocorrem mais frequentemente em pacientes com doenças autoimunes ou infecções que envolvem o fígado ou que provocam extensa destruição tecidual. A maioria das reações falso-positivas para testes treponêmicos é observada em pacientes com níveis elevados de imunoglobulinas e doenças autoimunes (Quadro 42-3). Muitos resultados falso-positivos podem ser esclarecidos utilizando teste *Western blot*.

Quadro 42-3 Condições Associadas a Resultados Falso Positivos em Testes Sorológicos

Ensaios não Treponêmicos	Ensaios Treponêmicos
Infecção viral	Pioderma
Artrite reumatoide	Artrite reumatoide
Lúpus eritematoso sistêmico	Lúpus eritematoso sistêmico
Doença aguda ou crônica	Psoríase
Gravidez	Ulceração da coxa
Imunização recente	Neoplasia cutânea
Dependência química	Dependência química
Hanseníase	Micoses
Malária	Doença de Lyme

Transfusões sanguíneas múltiplas	Acne vulgar

Os diagnósticos de sífilis congênita e neurossífilis podem ser problemáticos. Quando o *T. pallidum* não é detectado no LCR ou no tecido do sistema nervoso central (SNC) por microscopia ou PCR, o diagnóstico de neurossífilis exige evidência clínica da doença no SNC, e reação positiva tanto em testes não treponêmicos, quanto no VDRL do fluido espinhal. Embora testes treponêmicos falso-positivos do LCR ocorram, um teste treponêmico não reativo do LCR pode descartar a possibilidade de neurossífilis. Resultados positivos de testes sorológicos em crianças de mães infectadas podem representar transferência passiva de anticorpos ou uma resposta imunológica específica à infecção. Estas duas possibilidades são distinguidas medindo os títulos de anticorpos séricos da criança por um período de 6 meses. Os títulos de anticorpos em recém-nascidos não infectados diminuem em níveis indetectáveis dentro de 3 meses após o nascimento, mas em crianças que apresentam sífilis congênita eles permanecem elevados.

Tratamento, Prevenção e Controle

A penicilina é o fármaco de escolha para o tratamento de infecções por *T. pallidum*. **Penicilina** benzatina de ação prolongada é utilizada para as fases iniciais da sífilis e a penicilina G é recomendada para sífilis congênita e tardia. **Tetraciclina** e **doxiciclina** podem ser utilizadas como alternativas para os pacientes alérgicos à penicilina. Apenas a penicilina pode ser utilizada para o tratamento da neurossífilis; pacientes alérgicos a esse antibiótico devem ser submetidos à dessensibilização. Isto também é verdade para as mulheres grávidas, que não devem ser tratadas com tetraciclinas. Falhas no tratamento com a eritromicina e outros macrolídeos foram observadas, de modo que estes medicamentos não devem ser administrados.

Uma vez que a proteção por vacinas não está disponível, a sífilis só pode ser controlada pela prática de sexo seguro, contato adequado e tratamento de parceiros sexuais de pacientes com infecção documentada. O controle da sífilis, e de outras doenças venéreas, tornou-se mais complexo a partir do aumento da prostituição entre dependentes químicos e de práticas sexuais de alto risco entre homossexuais do sexo masculino.

Outros Treponemas

Três outras doenças não venéreas causadas por treponemas são importantes: **sífilis endêmica (bejel), bouba** e **pinta**. *T. pallidum* subsp. *endemicum* é responsável pela sífilis endêmica. A doença é propagada pelo contato direto com lesões precoces ou a utilização de utensílios alimentares contaminados. As lesões orais iniciais raramente são observadas, mas lesões secundárias incluem pápulas orais e placas na mucosa. Gumas de pele, ossos e nasofaringe são manifestações tardias. A doença ocorre em desertos e regiões temperadas do Norte da África e do Oriente Médio e é essencialmente uma doença infantil.

T. pertenue é o agente etiológico da **bouba**, uma doença granulomatosa em que os pacientes apresentam lesões cutâneas no início da doença (Fig. 42-4) e, mais tarde, lesões destrutivas da pele, linfonodos e ossos. A doença ocorre em áreas tropicais e de desertos da América do Sul, África Central e Indonésia e é disseminada entre crianças pelo contato direto com as lesões cutâneas.

Figura 42-4 Nódulos papilomatosos elevados e característicos do estágio inicial de bouba são amplamente distribuídos e indolores. Eles contêm numerosas espiroquetas, que são facilmente observadas em estudos por microscopia de campo escuro.

(De Peters W, Gilles HM: A Color Atlas of Tropical Medicine and Parasitology, 4th ed. London, Wolfe, 1995.)

T. carateum é o agente etiológico da **pinta**, uma doença que afeta principalmente a pele. Pequenas pápulas pruriginosas se desenvolvem na superfície da pele após 1 a 3 semanas de incubação. Estas lesões aumentam e persistem por meses a anos antes de serem curadas. Lesões hipopigmentadas, disseminadas e recorrentes podem se desenvolver ao longo dos anos, resultando em cicatrizes e desfiguração. A pinta está presente em zonas tropicais das Américas Central e do Sul, é disseminada pelo contato direto com lesões infectadas e é uma doença de adultos jovens (15 a 30 anos de idade).

Bejel, bouba e pinta são diagnosticadas pela manifestação clínica típica em áreas endêmicas. Os diagnósticos de bouba e pinta são confirmados pela detecção de espiroquetas nas lesões cutâneas por microscopia campo escuro, mas este teste não pode ser utilizado para detectar espiroquetas nas lesões orais em pacientes com bejel. Os resultados de testes sorológicos para sífilis são igualmente positivos.

A penicilina, tetraciclina e o cloranfenicol têm sido utilizados para tratar estas doenças. As doenças são controladas pelo tratamento de pessoas infectadas e pela eliminação da propagação pelo contato direto entre pessoas.

Borrelia (Quadro 42-4)

Os membros do gênero *Borrelia* causam duas doenças humanas importantes: a **doença de Lyme** e a **febre recorrente**. A história da doença de Lyme teve início em 1977, quando um grupo incomum de crianças com artrite foi observado em Lyme, Connecticut. Cinco anos mais tarde, W. Burgdorfer descobriu a espiroqueta responsável por essa doença. A doença de Lyme é transmitida por carrapatos e com manifestações variadas, incluindo alterações dermatológicas, reumatológicas, neurológicas e cardíacas. Inicialmente, se acreditava que todos os casos da doença de Lyme (ou borreliose de Lyme) eram causados por um organismo, ***B. burgdorferi***. No entanto, estudos posteriores mostraram que um complexo de pelo menos 10 espécies de *Borrelia* é responsável pela doença de Lyme em seres humanos e outros animais. Três espécies (*i.e.*, *B. burgdorferi, B. garinii, B. afzelii*) causam doenças humanas, sendo que *B. burgdorferi* é encontrada nos Estados Unidos e na Europa e *B. garinii* e *B. afzelii* na Europa e no Japão. Este capítulo se concentra na infecção causada por *B. burgdorferi*. A febre recorrente clássica é uma doença febril caracterizada por episódios recorrentes de febre e septicemia, separados por períodos afebris. Duas formas da doença são conhecidas. *Borrelia recurrentis* é o agente etiológico da **febre epidêmica** ou **febre recorrente transmitida por piolho**, que é disseminado pessoa a pessoa pelo **piolho** do corpo humano (*Pediculus humanus*). A **febre recorrente endêmica** é causada por até 15 espécies de *Borrelia* e é propagada por **carrapatos moles**, do gênero *Ornithodoros*, infectados.

Quadro 42-4 Resumo: *Borrelia*

Biologia, Virulência e Doença

As borrélias são grandes (0,2 a 0,5 × 8 a 30μm) e podem ser observadas quando coradas com corantes de anilina (p. ex., corantes Giemsa e Wright)

As espécies de borrélias responsáveis pela febre recorrente são capazes de sofrer mudança antigênica e escapar da eliminação imune; períodos de estados febril e apirético resultam da variação antigênica

A reatividade imunológica contra os agentes da doença de Lyme pode ser responsável pela doença clínica

Epidemiologia

Febre recorrente epidêmica

O agente etiológico é *Borrelia recurrentis*

Transmissão pessoa-pessoa; reservatório: seres humanos; vetor: piolho do corpo humano

Populações de risco são pessoas expostas a piolhos (doença epidêmica) em multidões ou em condições insalubres

Ocorre na Etiópia, Ruanda e sopé dos Andes

Febre recorrente endêmica

Causada por diversas espécies de *Borrelia*

Transmitida de roedores para os seres humanos; reservatórios: roedores, pequenos mamíferos e carrapatos moles; vetor: carrapatos moles

Populações de risco são pessoas expostas a carrapatos (endemia) em zonas rurais

Distribuição mundial e na parte ocidental dos Estados Unidos

Doença de Lyme

Borrelia burgdorferi provoca a doença nos Estados Unidos e na Europa; *B. garinii* e *B. afzelii* causam doença na Europa e na Ásia

Transmitida de camundongos para os seres humanos por carrapatos duros; reservatório: camundongos, cervos, carrapatos; vetores incluem *Ixodes scapularis* no Leste e Centro-oeste dos Estados Unidos, *Ixodes pacificus* no Oeste dos Estados Unidos, *Ixodes ricinus* na Europa e *Ixodes persulcatus* na Europa Oriental e Ásia

Populações sob risco incluem pessoas expostas aos carrapatos em áreas de alta endemicidade

Distribuição mundial

A incidência sazonal corresponde aos padrões alimentares dos vetores; a maioria dos casos da doença de Lyme nos Estados Unidos ocorre no final da primavera e início do verão (padrão alimentar da fase de ninfa de carrapatos)

Diagnóstico

Microscopia é o teste de escolha para o diagnóstico da febre recorrente

Sorologia é o teste de escolha para a doença de Lyme

PCR para a doença de Lyme disponível em laboratórios de referência

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento para febre recorrente é realizado com tetraciclina ou eritromicina

Para a doença de Lyme precoce localizada ou disseminada o tratamento é realizado com amoxicilina, tetraciclina, cefuroxima; manifestações tardias são tratadas com ceftriaxona ou penicilina intravenosas.

A exposição ao inseto vetor pode ser reduzida utilizando inseticidas, repelentes de insetos e vestuário protetor que reduz a exposição da pele a insetos

Fisiologia e Estrutura

Os membros do gênero *Borrelia* são **espiroquetas Gram negativas que se coram fracamente**. Tendem a ser maiores do que outras espiroquetas (0,2 a 0,5 × 8 a 30μm), se coram bem por corantes de anilina (p. ex., Giemsa ou Wright) e podem ser facilmente observadas por microscopia ótica, em esfregaços de sangue periférico de pacientes com febre recorrente (Fig. 42-5), mas não daqueles com doença de Lyme. Dependendo da espécie, de 7 a 20 flagelos periplasmáticos estão presentes entre o cilindro periplásmico e o envelope externo e são responsáveis pelo movimento de contorção do organismo (Fig. 42-6). As borrélias são microaerófilas e apresentam necessidades nutricionais complexas (*i.e.*, requerem N-acetilglicosamina, ácidos graxos saturados e insaturados de cadeia longa, glicose e aminoácidos). As espécies que são cultivadas com sucesso apresentam tempo de geração mínimo de 18 horas. Em razão do frequente insucesso de cultivo, o diagnóstico de doenças causadas por borrélias é realizado por microscopia (febre recorrente) ou sorologia (doença de Lyme).

Figura 42-5 *Borrelia* no sangue de paciente com febre recorrente endêmica (coloração de Giemsa).

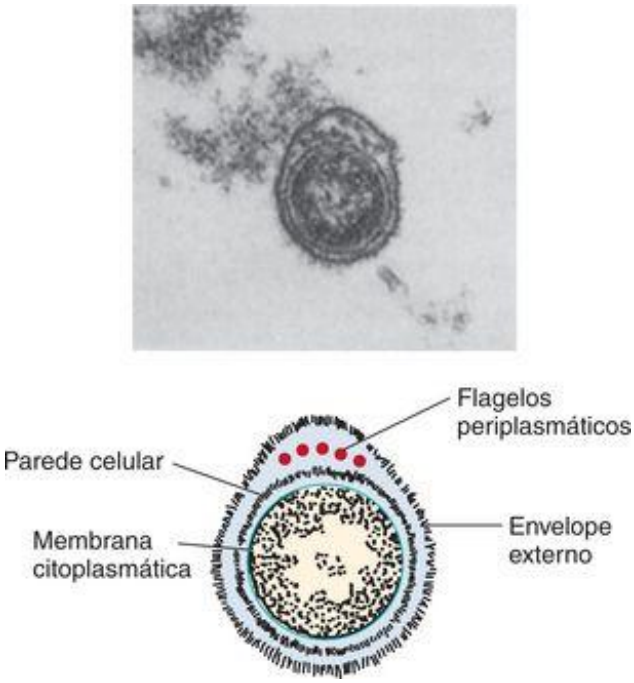


Figura 42-6 Microfotografia eletrônica e esquema de um corte transversal de *Borrelia burgdorferi*, o agente causador da borreliose de Lyme. O cerne protoplasmático da bactéria é envolvido por membrana citoplasmática e parede celular convencional. Esta, por sua vez, está circundada por uma bainha ou envelope externo. Entre o cerne e a bainha externa estão situados os flagelos periplasmáticos (também denominados filamentos axiais), que se encontram ancorados em qualquer das extremidades bacterianas e se enrolam em volta no core.

(De Steere AC, et al: N Engl J Ned 308:733-740, 1983.)

Patogênese e Imunidade

O crescimento de borrélias tanto em vetores artrópodes (quando em jejum e durante ingestão de sangue) e hospedeiros mamíferos é regulado por expressão gênica diferencial com regulação positiva e negativa de proteínas de superfície. Por exemplo, a proteína A de superfície (OspA) é expressa na superfície de *B. burgdorferi* residente no intestino médio de carrapatos em jejum. Esta proteína se liga especificamente a proteínas do intestino. Durante a alimentação, a expressão de OspA é reprimida, permitindo que ocorra migração da espiroqueta para as glândulas salivares e a expressão da proteína C de superfície (OspC), que parece crítica na transmissão do carrapato aos mamíferos, é regulada positivamente. Infelizmente, o conhecimento da sequência completa do genoma *B. burgdorferi* não levou a uma compreensão clara de como esses organismos causam doença. Células de *B. burgdorferi* estão presentes em pequeno número na pele quando o eritema migratório se desenvolve. Isto tem sido demonstrado pela cultura do organismo das lesões cutâneas ou pela detecção de ácidos nucleicos bacterianos amplificados por PCR. Espiroquetas raramente são isoladas de material clínico na doença tardia. Não se sabe se os organismos viáveis causam essas manifestações tardias ou se elas representam reatividade imunológica cruzada com antígenos de *Borrelia*. Embora a resposta imune seja diminuída no momento em que as lesões cutâneas iniciais se desenvolvem, anticorpos são produzidos durante meses a anos e são responsáveis pela eliminação das borrélias, mediada pelo complemento.

Deste modo, a nossa compreensão sobre os mecanismos pelos quais borrélias causam febre recorrente é incompleta. Os membros do gênero não produzem toxinas conhecidas e são rapidamente eliminados quando ocorre resposta de anticorpo específico. Os períodos cíclicos febril e afebril da febre recorrente são resultado da capacidade das borrélias em promover variação antigênica. Essas espiroquetas carregam um grande número de genes homólogos ao gene *ospC*, mas apenas um desses genes é expresso de cada vez. Quando anticorpos específicos são formados, ocorre aglutinação com lise mediada pelo complemento e as borrélias são rapidamente eliminadas da corrente sanguínea. No entanto, uma mudança na expressão dessa família de genes ocorre com uma frequência de 10^{-3} a 10^{-4} por geração. Assim, uma nova população de espiroquetas com uma nova camada de lipoproteína aparecerá no sangue, anunciando um novo episódio febril.

Epidemiologia

Apesar do reconhecimento da doença de Lyme ser relativamente recente nos Estados Unidos, estudos retrospectivos demonstraram que essa doença estava presente há muitos anos neste e em outros países. A doença de Lyme tem sido descrita nos seis continentes, em pelo menos 20 países e em 49 estados dos Estados Unidos. A incidência da doença aumentou drasticamente entre 1982 (quando foram notificados 497 casos) e 2006 (quando foram notificados 19.931 casos). **A doença de Lyme é a principal doença transmitida por vetor nos Estados Unidos**. Os três focos principais de infecção nesse país são os estados do nordeste e Meio Atlântico (Massachusetts a Maryland), a parte superior do Meio Oeste (Minnesota e Wisconsin) e o Pacífico Ocidental (norte da Califórnia e Oregon). **Carrapatos duros são os principais vetores** da doença de Lyme: *Ixodes scapularis* no Nordeste, meio Atlântico e meio Oeste e *I. pacificus* na costa Oeste. *I. ricinus* é o principal carrapato vetor na Europa e *I. persulcatus* é o principal vetor na Europa Oriental e Ásia. Os principais hospedeiros reservatórios nos Estados Unidos são o camundongo de patas brancas e o cervo de cauda branca. O **camundongo de patas brancas** é o principal hospedeiro das formas de larva e ninfa de espécies de *Ixodes* enquanto as formas adultas de *Ixodes* infestam o **cervo de cauda branca**. Em virtude da fase de ninfa provocar mais de 90% dos casos documentados da doença, o camundongo é o hospedeiro mais relevante para doenças humanas.

As larvas de *Ixodes* tornam-se infectadas quando se alimentam no camundongo. O processo de transição da fase de larva para a de ninfa ocorre no final da primavera e realiza uma segunda ingesta de sangue; neste caso, os seres humanos podem ser hospedeiros acidentais. Embora as borrélias sejam transmitidas pela saliva do carrapato durante o prolongado período de alimentação (48 horas ou mais), a maioria dos pacientes não se lembra de ter sido mordido por um carrapato, porque a ninfa é do tamanho de uma semente de papoula. As ninfas se tornam adultas no final do verão e tomam uma terceira alimentação. Embora o veado de cauda branca seja o hospedeiro natural, os seres humanos também podem ser infectados neste estágio. A maioria dos pacientes infectados é identificada entre maio e agosto, apesar da doença ser observada todo o ano.

Como mencionado anteriormente, o agente etiológico da febre recorrente endêmica é *B. recurrentis*, cujo vetor é o piolho do corpo humano, sendo o ser humano o único reservatório (Fig. 42-7). Os piolhos se tornam infectados após se alimentar do sangue de uma pessoa infectada. As bactérias são ingeridas, passam através da parede do intestino e se multiplicam na hemolinfa. Acredita-se que a doença disseminada não ocorra em piolhos, assim, a infecção humana acontece quando os piolhos são esmagados durante a alimentação. Já que os piolhos infectados não sobrevivem por mais que alguns meses, a manutenção da doença exige aglomerações de pessoas e condições sanitárias precárias (p. ex., guerras, catástrofes naturais), que permitem o contato humano frequente com piolhos infectados. Desde o século passado, as epidemias de febre recorrente transmitidas por piolhos foram banidas da Europa e no momento a doença persiste na Etiópia, Ruanda e no sopé andino.

Infecção	Reservatório	Vetor
Febre recorrente epidêmica (transmitida por piolho)	Humanos	Piolho do corpo humano
Febre recorrente endêmica (transmitida por carrapatos)	Roedores, carrapatos de carapaça mole	Carrapatos de carapaça mole
Doença de Lyme	Roedores, cervos, animais de estimação, carrapatos de carapaça dura	Carrapatos de carapaça dura

Figura 42-7 Epidemiologia de Infecções por *Borrelia*.

Várias características distinguem a **febre recorrente endêmica** da doença epidêmica. A febre recorrente endêmica, transmitida por carrapatos, é uma **doença zoonótica**, sendo os principais reservatórios os roedores, pequenos mamíferos e carrapatos moles (espécies do gênero *Ornithodoros*) e **diversas espécies de *Borrelia*** são responsáveis pela doença. Ao contrário das infecções transmitidas pelo piolho, as borrélias que causam a doença endêmica produzem infecção disseminada no carrapato. Adicionalmente, os artrópodes podem sobreviver e se manter como um reservatório endêmico de infecção pela transmissão transovariana. Além disso, os carrapatos podem sobreviver por meses entre as alimentações. A história de mordida de um carrapato pode não ser elucidada, porque carrapatos moles apresentam hábitos alimentares noturnos e ficam ligados por apenas alguns minutos. Os carrapatos contaminam o local da ferida produzida pela mordida com borrélias presentes na saliva ou fezes. A doença transmitida por carrapatos é encontrada em todo o mundo, correspondendo à distribuição dos carrapatos do gênero *Ornithodoros*. Nos Estados Unidos, a doença é encontrada principalmente nos estados ocidentais.

Doença de Lyme (Caso Clínico 42-2)

O diagnóstico clínico da doença de Lyme é complicado pelas variadas manifestações da doença causada por *B. burgdorferi* e outras espécies do gênero *Borrelia*, bem como a ausência de testes diagnósticos confiáveis. As definições clínica e laboratorial da doença de Lyme, que são recomendadas pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), estão resumidas no Quadro 42-5. O parágrafo seguinte é uma descrição da doença de Lyme nos Estados Unidos. A frequência de lesões cutâneas e as manifestações tardias da doença diferem das observadas em outros países.

Caso Clínico 42-2 Doença de Lyme em Lyme, Connecticut

Em 1977, Steere et al. (Arthritis Rheum 20:7-17, 1977) relataram uma epidemia de artrite no Leste de Connecticut. Esses autores estudaram um grupo de 39 crianças e 12 adultos que desenvolveram uma doença caracterizada por crises reincidentes de inchaço e dores em algumas articulações grandes. A maioria dessas manifestações permaneceu por 1 semana ou menos, mas algumas duraram meses. Vinte e cinco por cento dos pacientes lembraram que tinham apresentado lesões cutâneas eritematosas 4 semanas antes do início da artrite. Esse foi o primeiro relato da doença de Lyme, nomeada em homenagem à cidade de Lyme, em Connecticut, onde a doença foi reconhecida pela primeira vez. Sabemos, agora, que a lesão eritematosa (eritema migratório) é a apresentação característica da doença de Lyme precoce. Poucos anos depois desse relato, a borrélia responsável pela doença de Lyme, *B. burgdorferi*, foi isolada.

Quadro 42-5 Definição da Doença de Lyme

Definição de Caso Clínico

Qualquer uma das seguintes opções

Eritema migratório (~5cm de diâmetro)

Pelo menos uma manifestação tardia (*i.e.*, envolvimento de músculo esquelético, sistema nervoso ou cardiovascular) e confirmação laboratorial de infecção

Critérios Laboratoriais para o Diagnóstico

Pelo menos um dos seguintes

Isolamento de *Borrelia burgdorferi*

Demonstração dos níveis de imunoglobulinas IgM ou IgG contra as espiroquetas

Aumento significativo de títulos de anticorpos entre amostras séricas da fase aguda e de convalescência

A doença de Lyme se inicia como uma infecção localizada inicial que progride a um estágio disseminado precoce e, se não tratada, pode evoluir para um estágio de manifestação tardia. Após um período de incubação de 3 a 30 dias, uma ou mais lesões cutâneas normalmente se desenvolvem no local da picada do carrapato. A lesão (**eritema migratório**) começa com uma pequena mácula ou pápula e aumenta ao longo das semanas seguintes, finalmente abrangendo uma área de 5 cm até mais de 50cm de diâmetro (Fig. 42-8). A lesão geralmente apresenta borda vermelha plana, e clareamento central à medida que se desenvolve, porém, eritema, formação de vesículas e necrose central também podem ser observados. A lesão regride e desaparece dentro de semanas, embora novas lesões transitórias possam surgir posteriormente. Embora a lesão cutânea seja característica da doença de Lyme, ela não é patognomônica. Uma lesão cutânea similar associada a uma doença de etiologia desconhecida (STARI, ou doença eritematosa associada ao carrapato do sudeste dos Estados Unidos) ocorre após a picada do carrapato *Amblyomma americanum* (carrapato estrela). Estes carrapatos, encontrados nas regiões Sudeste e Centro-Sul dos Estados Unidos, não estão infectados com *B. burgdorferi*. Outros sinais e sintomas precoces da doença de Lyme incluem mal-estar, fadiga grave, dor de cabeça, febre, calafrios, dores em músculos esqueléticos, mialgias e linfadenopatia. Estes sintomas duram em média 4 semanas.

Figura 42-8 Eritema migratório no braço de uma paciente com borreliose de Lyme.

Difusão hematogênica ocorre em pacientes não tratados dias ou semanas após a infecção primária. Esta fase é caracterizada por sinais de doença sistêmica (p. ex., fadiga severa, dores de cabeça, febre e mal-estar), artrite e artralgia, mialgia, lesões eritematosas cutâneas, disfunção cardíaca e sinais neurológicos. Aproximadamente 60% dos pacientes com doença de Lyme não tratada desenvolverão **artrite**, geralmente envolvendo o joelho; cerca de 10% a 20% irão desenvolver **manifestações neurológicas** (mais comumente paralisia do nervo facial) e 5% terão **complicações cardíacas** (geralmente graus variáveis de bloqueio atrioventricular).

Manifestações do estágio tardio da doença de Lyme em pacientes não tratados podem se desenvolver dentro de meses e até anos após a infecção inicial. Artrite intermitente pode envolver uma ou mais articulações. O envolvimento cutâneo crônico com a descoloração da pele e inchaço (**acrodermatite crônica atrofiante** [ACA]; Fig. 42-9) é mais comum na doença de Lyme observada na Europa. A existência da doença de Lyme sintomática crônica em pacientes tratados adequadamente ainda não foi definitivamente demonstrada.

Figura 42-9 Acrodermatite crônica atrofiante. Lesões cutâneas vermelho-azuladas características de manifestações tardias disseminadas de borreliose de Lyme.

(De Cohen J, Powderly W: Infectious Diseases, 2nd ed. ST. Louis. Mosby. 2004.)

Febre Recorrente (Caso Clínico 42-3)

As apresentações clínicas de febre recorrente epidêmica transmitida por piolho e endêmica transmitida por carrapatos são essencialmente as mesmas, apesar de que pequenas escaras pruríticas podem se desenvolver no local da picada do carrapato. Depois de uma semana de incubação, a doença é anunciada pelo início abrupto de calafrios, tremores, febre, dores musculares e cefaleia. Hepatoesplenomegalia é comum. Estes sintomas correspondem à fase de bacteremia da doença e desaparecem depois de 3 a 7 dias, quando as borrélias são eliminadas do sangue. A bacteremia e a febre retornam após uma semana de período apirético. Os sintomas clínicos geralmente são mais leves e duram menos tempo nesse e nos **episódios febris** subsequentes. Uma única recaída é característica da doença epidêmica transmitida por piolhos e pelo menos 10 recidivas ocorrem nas doenças endêmicas transmitidas por carrapatos. O curso clínico e os resultados da febre recorrente epidêmica tendem a ser mais graves do que os de pacientes com doença endêmica, mas isto pode estar relacionado com o estado precário de saúde dos pacientes. A mortalidade na doença endêmica é inferior a 5%, mas pode ser tão elevado quanto 40% na doença epidêmica transmitida por piolho. As mortes são causadas por insuficiência cardíaca, necrose hepática ou hemorragia cerebral.

Caso Clínico 42-3 Surto de Febre Recorrente Transmitida por Carrapato

Em agosto de 2002, o Departamento de Saúde do Novo México foi notificado de um surto de febre recorrente transmitida por carrapatos (Morb Mortal Wkly Rep 52:809-812, 2003). Aproximadamente 40 pessoas participavam de uma reunião familiar, realizada em uma cabana nas montanhas do Norte do Novo México. Metade dos membros da família dormiu na cabana. Alguns familiares chegaram 3 dias antes do evento para limpar a cabana que estava desocupada. Quatro dias após o evento, uma das pessoas que chegou primeiro procurou atendimento em um hospital local, apresentando uma história de 2 dias de febre, calafrios, mialgia e erupção cutânea pruriginosa nos antebraços. Espiroquetas foram observadas em esfregaço de sangue periférico. Pelo menos 14 indivíduos que participaram do encontro familiar desenvolveram sintomas compatíveis com febre recorrente e tiveram sorologia positiva ou espiroquetas observadas em esfregaços sanguíneos. A maioria teve história de febre, cefaleia, artralgia e mialgia. Material de ninho de roedores foi encontrado no interior das paredes da cabana. Esse surto de febre recorrente endêmica ilustra os riscos associados à exposição a carrapatos que se alimentam de roedores infectados, as picadas geralmente não são percebidas, porque a alimentação ocorre em um curto período durante a noite e em razão

da natureza reincidente desta doença febril.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

As borrélias que causam febre recorrente podem ser observadas em esfregaço de sangue coletado durante o período febril, utilizando coloração Giemsa ou Wright. Este é o método mais sensível para o diagnóstico de febre recorrente, com esfregaços positivos para o microrganismo em mais de 70% dos pacientes. O exame microscópico de sangue ou tecidos de pacientes com doença de Lyme não é recomendável, pois *B. burgdorferi* raramente é observado em amostras clínicas.

Cultura

Algumas borrélias, incluindo *B. recurrentis* e *B. hermsii* (uma causa comum de febre recorrente endêmica nos Estados Unidos), podem ser cultivadas *in vitro* em meios específicos. Entretanto, culturas raramente são realizadas na maioria dos laboratórios clínicos, em virtude de os meios não serem prontamente disponíveis e de os organismos crescerem lentamente. Embora o cultivo de *B. burgdorferi* tenha limitações, o isolamento do organismo foi otimizado pela utilização de meios especializados. No entanto, a sensibilidade de cultivo é baixa para todos os espécimes, exceto para as amostras de lesão cutânea inicial.

Ensaios Baseados em Ácidos Nucleicos

Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos têm sensibilidade de 65% a 75% para a biópsia de pele, 50% a 85%, para o líquido sinovial e 25% com amostras de LCR de pacientes com doença de Lyme documentada. Estes testes geralmente são restritos a laboratórios de pesquisa e de referência e os resultados devem ser confirmados por cultura ou sorologia.

Detecção de Anticorpo

Testes sorológicos não são úteis no diagnóstico de febre recorrente, porque as borrélias que causam essa condição sofrem variação de fase antigênica. Em contrapartida, a sorologia é o teste diagnóstico de escolha para pacientes com suspeita de doença de Lyme. Os testes utilizados comumente são a **imunofluorescência indireta (IFA)** e **ensaio imunoenzimático (EIA)**. O FDA já aprovou a utilização de mais de 70 testes sorológicos para o diagnóstico da doença de Lyme. Infelizmente, todos esses testes são relativamente insensíveis durante o início da fase aguda da doença. Anticorpos IgM aparecem 2 a 4 semanas após o surgimento de eritema migratório em pacientes não tratados, os níveis são máximos após 6 a 8 semanas da doença e com diminuição para o nível normal após 4 a 6 meses. O nível de IgM pode permanecer elevado em alguns doentes com infecção persistente. Os anticorpos IgG aparecem mais tarde. Os níveis são máximos após 4 a 6 meses da doença e persistem durante a manifestação tardia da doença. Assim, a maioria dos pacientes com complicações tardias da doença de Lyme apresenta anticorpos para *B. burgdorferi* detectáveis, embora o nível de anticorpos possa ser suprimido em doentes tratados com antibióticos. A detecção de anticorpos no LCR é uma forte evidência de neuroborreliose.

Embora reações cruzadas sejam incomuns, resultados positivos devem ser interpretados com cuidado, especialmente se os títulos estão baixos (Quadro 42-6). A maioria dos

resultados falso-positivos ocorre em pacientes com sífilis. Estes falso-resultados podem ser excluídos realizando um teste não **treponêmico** para sífilis; o resultado é negativo para pacientes com doença de Lyme. W*estern blot* tem sido empregado para confirmar a especificidade de uma reação positiva de EIA ou IFA. Amostras com reações EIA ou IFA negativas não requerem teste subsequente. Orientações para a interpretação de *western blots* estão disponíveis no sítio do CDC (**www.cdc.gov**). A heterogeneidade antigênica de *B. burgdorferi* e outras espécies do gênero que causam a doença de Lyme interferem na sensibilidade do teste. Nos Estados Unidos a magnitude deste problema é desconhecida, mas deve ser significativa na Europa e na Ásia, onde múltiplas espécies de *Borrelia* causam a doença de Lyme. Atualmente, os testes sorológicos devem ser considerados confirmatórios e não devem ser realizados na ausência de uma história clínica e sintomas compatíveis com a doença de Lyme.

Quadro 42-6 Bactérias e Doenças Associadas a Reações Cruzadas em Testes Sorológicos para a Borreliose de Lyme

Treponema pallidum
Espiroquetas orais
Outras espécies de *Borrelia*
Artrite reumatoide juvenil
Artrite reumatoide
Lúpus eritematoso sistêmico
Mononucleose infecciosa
Endocardite bacteriana subaguda

Tratamento, Prevenção e Controle

A **febre recorrente** tem sido tratada de mais eficazmente com **tetraciclinas** ou **penicilinas**. As tetraciclinas são os medicamentos de escolha, mas são contraindicadas para mulheres grávidas e crianças de tenra idade. Reação de Jarisch-Herxheimer (perfil semelhante ao choque, com calafrios, leucopenia, aumento de temperatura e diminuição da pressão arterial) pode ocorrer poucas horas após o início do tratamento e deve ser acompanhado cuidadosamente. Essa reação corresponde à rápida morte das borrélias e à possível liberação de produtos tóxicos.

As primeiras manifestações da **doença de Lyme** são tratadas eficazmente com **amoxicilina, doxiciclina** ou **cefuroxima** administradas por via oral. O tratamento com antibiótico diminui as chances e a gravidade de complicações tardias. Apesar desta intervenção, artrite de Lyme e acrodermatite crônica atrofiante ocorrem em um pequeno número de pacientes. Os antimicrobianos cefuroxima, doxiciclina ou amoxicilina têm sido utilizados para o tratamento oral destas manifestações. Pacientes com artrite recorrente ou doenças do sistema nervoso central ou periférico tipicamente requerem tratamento parenteral com ceftriaxona, cefotaxima ou penicilina G intravenosas. Pacientes com sintomas crônicos previamente tratados (“síndrome pós-Lyme”) devem ser medicados sintomaticamente, pois não há evidências de que cursos múltiplos de antibióticos por via oral ou parenteral aliviem os sintomas.

A prevenção de doenças causadas por *Borrelia* transmitidas por carrapato inclui evitar o contato carrapato e seus *habitats* naturais, usar roupas protetoras como calças compridas embutidas em meias e aplicar repelentes de insetos. O controle de roedores também é importante na prevenção da febre recorrente endêmica. A doença epidêmica transmitida por piolhos é controlada pela pulverização contra piolho e melhoria das condições higiênicas.

Não há vacinas disponíveis para febre recorrente. Uma vacina recombinante dirigida contra o antígeno OspA de *B. burgdorferi* foi retirada do mercado em 2002. Outras vacinas recombinantes contra OspA ou OspC estão em desenvolvimento.

Leptospira (Quadro 42-7)

A taxonomia do gênero *Leptospira* é bastante confusa. Tradicionalmente, o gênero tem sido agrupado por características fenotípicas, relação sorológica e patogenicidade. As cepas patogênicas foram agrupadas na espécie *Leptospira interrogans* e as não patogênicas à espécie *Leptospira biflexa*. Cada uma das duas espécies continha diversos sorovares (*i.e.*, grupos sorologicamente distintos). Embora esse sistema de classificação exista na literatura, ele não é coerente com a análise de ácidos nucleicos, que sugere a subdivisão do gênero em três outros, contendo 14 espécies no gênero *Leptospira*. Para melhor compreensão, leptospiras serão citadas aqui neste capítulo como *patogênicas* (para seres humanos) e não patogênicas, sem referências a espécies ou sorotipos.

Quadro 42-7 Resumo: *Leptospira*

LCR, líquido cefalorraquidiano; ELISA, enzima imuno ensaio; MAT, teste de aglutinação microscópica

Biologia, Virulência e Doença

Espiroquetas delgadas (0,1 × 6 a 20µm), que crescem lentamente em cultura

Capaz de invadir e replicar diretamente em tecidos, induzindo resposta inflamatória

Complexos imunes produzem doença renal (glomerulonefrite)

Geralmente doença branda, semelhante à síndrome viral

Leptospirose sistêmica se apresenta mais comumente como meningite asséptica

Doença potencialmente fatal (síndrome de Weil) caracterizada por colapso vascular, trombocitopenia, hemorragia e disfunção renal e hepática

Epidemiologia

Reservatórios nos Estados Unidos: roedores (principalmente ratos), cães, animais domésticos e selvagens

Ser humano: hospedeiro acidental da fase final

Organismo pode penetrar a pele através de pequenas fissuras na epiderme

As pessoas são infectadas com leptospiras pela exposição à água contaminada com urina de um animal infectado ou por manipulação de tecidos de um animal infectado

Populações de risco são aquelas expostas a córregos, rios e águas paradas contaminadas com urina; exposição ocupacional de trabalhadores rurais, manipuladores de carne e veterinários de animais infectados

Infecção é rara nos Estados Unidos, mas tem distribuição mundial

A doença é mais comum durante meses quentes (exposição recreacional)

Diagnóstico

A microscopia não é útil, pois geralmente raras células do organismo estão presentes em fluidos ou tecidos

Cultura sangue ou LCR nos primeiros 7 a 10 dias da doença; urina após a primeira semana

A sorologia por MAT é relativamente sensível e específica, mas não é amplamente disponível; ELISA é menos precisa, mas pode ser utilizado para rastrear pacientes

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento com penicilina ou doxiciclina

Doxiciclina, mas não penicilina é usada como profilaxia

Rebanhos e animais domésticos devem ser vacinados

Ratos devem ser controlados

Fisiologia e Estrutura

As leptospiras são **espiroquetas e delgadas** (0,1 × 6,0 a 20µm) com um gancho em uma ou ambas as extremidades afiladas (Fig. 42-10). A motilidade é mediada por dois flagelos periplasmáticos que se estendem por toda a superfície bacteriana e são ancorados nos extremos opostos. As leptospiras são aeróbias estritas com temperatura ótima de crescimento entre 28°C a 30°C, em meios suplementados com vitaminas (*i.e.*, B_2, B_{12}), ácidos graxos de cadeia longa e sais de amônio. O significado prático destas características é que esse microrganismo pode ser cultivado em um meio específico, a partir de amostras clínicas coletadas de pacientes infectados.

Figura 42-10 Coloração pela prata para leptospiras crescidas em cultura. Observe a célula bem espiralada com extremidade em gancho.

(De Emond R, Rowland H: Color Atlas of Infectious Diseases, 3rd ed. London, Wolfe, 1995.)

Patogênese e Imunidade

As leptospiras patogênicas podem causar infecção subclínica, doença febril branda semelhante à *influenza* ou doença sistêmica severa (**síndrome de Weil**), com insuficiência renal e hepática, vasculite extensiva, miocardite e morte. A severidade da doença é influenciada pelo número de células infectantes, pelas defesas imunológicas do hospedeiro e pela virulência da cepa infectante.

Em razão de leptospiras serem delgadas e altamente móveis, elas podem **penetrar em membranas mucosas ou pele intacta através de pequenos cortes ou abrasões**. Elas podem se disseminar pelo sangue para todos os tecidos, incluindo o sistema nervoso central. *L. interrogans* se multiplica rapidamente e danifica o endotélio de pequenos vasos sanguíneos, resultando nas principais manifestações clínicas da doença (p. ex., meningite, disfunção renal e hepática, hemorragia). O organismo pode ser **encontrado no sangue e LCR no início da doença e na urina durante as fases posteriores**. A eliminação das leptospiras ocorre quando se desenvolve imunidade humoral. No entanto, algumas manifestações clínicas podem se originar de reações imunológicas com os organismos. Por exemplo, a meningite se desenvolve após os organismos terem sido removidos do LCR e os complexos imunes serem detectados em lesões renais.

Epidemiologia

A leptospirose é observada em todo o mundo. De 100 a 200 infecções humanas ocorrem anualmente nos Estados Unidos, sendo mais da metade dos casos relatados no Havaí. Entretanto, a incidência da doença é significativamente subestimada, uma vez que a maioria das infecções é branda e diagnosticada incorretamente como “síndrome viral” ou meningite asséptica. Em virtude da falha de muitos estados em relatar esta doença para o serviço público de saúde, a notificação obrigatória foi descontinuada em 1995. Assim, a verdadeira prevalência da doença não pode ser determinada.

As leptospiras infectam dois tipos de hospedeiros: os reservatórios e os acidentais. Infecções endêmicas, crônicas são estabelecidas em **hospedeiros reservatórios**, que são reservatórios permanentes para a manutenção dessas bactérias. Diferentes espécies e sorovares de leptospiras estão associados a reservatórios específicos (importantes para investigações epidemiológicas). Os **reservatórios mais comuns são roedores e outros mamíferos pequenos**. As leptospiras usualmente causam infecções assintomáticas no hospedeiro reservatório, onde as espiroquetas colonizam os túbulos renais e são eliminados pela urina em grande número. Córregos, rios, águas paradas e solo úmido podem ser contaminados pela urina de animais infectados com as bactérias sobrevivendo por até 6 semanas nesses locais. Água contaminada ou exposição direta a animais infectados podem servir como fonte de infecção em **hospedeiros acidentais** (p. ex., cães, animais de fazenda e seres humanos). A maioria das infecções humanas resulta da exposição à água contaminada em momentos de lazer (p. ex., em lagos) ou exposição ocupacional a animais infectados (fazendeiros, trabalhadores de abatedouros, veterinários). A maioria das infecções humanas ocorre durante os meses quentes, quando a frequência de recreação em água é maior. A disseminação interpessoal não tem sido documentada. Por definição, o estado de portador crônico não ocorre em hospedeiros acidentais.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 42-4)

A maioria das infecções humanas por leptospiras é clinicamente inaparente e é detectada apenas pela demonstração de anticorpos específicos. A infecção é introduzida através de abrasões cutâneas ou pela conjuntiva. As infecções sintomáticas se desenvolvem após um período de incubação de 1 a 2 semanas e ocorre em duas fases. A fase inicial é semelhante a uma gripe com febre e mialgia (dor muscular). Durante esta fase, o paciente é bacterêmico e os organismos podem ser frequentemente isolados do LCR, embora sintomas meningiais não estejam presentes. A febre e mialgia podem desaparecer após 1 semana ou o paciente pode evoluir para a segunda fase, que se caracteriza por início súbito de cefaleia, mialgia, calafrios, dor abdominal e extravasamento conjuntival (*i.e.*, congestão ou vermelhidão do olho). A doença severa pode progredir para colapso vascular, trombocitopenia, hemorragia e disfunção hepática e renal.

Caso Clínico 42-4 Leptospirose em Participantes de Triatlo

Há uma série de relatos de leptospirose em atletas participantes de eventos desportivos aquáticos. Em 1998, autoridades de saúde pública relataram leptospirose em participantes de triatlo em Illinois e Wisconsin (Morb Mortal Wkly Rep 47:673-676, 1998). Um total de 866 atletas participou do evento em Illinois, em 21 de junho de 1998, e 648 atletas participaram do evento em Wisconsin em 5 de julho do mesmo ano. A definição de caso de leptospirose utilizada para esta investigação foi o aparecimento de febre seguida de pelo menos dois dos seguintes sinais ou sintomas: calafrios, cefaleia, mialgia, diarreia, dor ou vermelhidão ocular. Nove por cento dos participantes se enquadravam nessa definição; 2/3 procuraram atendimento médico, incluindo um terço que foram hospitalizadas. A leptospirose foi confirmada por testes sorológicos em parte destes pacientes. Esse surto ilustra o perigo potencial de nadar em águas contaminadas, a apresentação de leptospirose em uma população previamente saudável e a gravidade da doença que pode ocorrer.

A leptospirose limitada ao sistema nervoso central pode ser confundida com **meningite asséptica**, porque o curso da doença geralmente não é complicado e tem uma taxa de mortalidade muito baixa. A cultura de LCR é geralmente negativa neste estágio. Em contrapartida, a forma ictérica da doença generalizada (cerca de 10% de todas as infecções sintomáticas) é mais severa e apresenta uma taxa de mortalidade de 10% a 15%. Embora o acometimento hepático com icterícia (doença ictérica ou **síndrome de Weil**) seja um baque em pacientes com leptospirose grave, não é observada necrose hepática e os sobreviventes não sofrem danos hepáticos permanentes. De maneira similar, a maioria dos pacientes recupera completamente a função renal. Leptospirose congênita também pode ocorrer. Esta doença é caracterizada pelo aparecimento súbito de cefaleia, febre, mialgia e erupção cutânea difusa.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Por serem delgadas, as leptospiras estão no limite de resolução do microscópio ótico e, portanto, não podem ser observadas por microscopia ótica convencional. As colorações de Gram ou de prata não são confiáveis na detecção dessas bactérias. A microscopia de campo escuro também é relativamente insensível, podendo levar a resultados inespecíficos. Embora as leptospiras possam ser observadas em amostras de sangue no início da doença, proteínas filamentosas de eritrócitos podem ser facilmente confundidas com esses organismos. Preparações de anticorpos marcados com fluoresceína têm sido utilizadas para corar as leptospiras, mas não estão disponíveis na maioria dos laboratórios clínicos.

Cultura

As leptospiras podem ser cultivadas em meios especialmente formulados para essas bactérias (p. ex., Fletcher, EMJH, Albumina-tween 80). Elas crescem lentamente (tempo de geração de 6 a 16 horas), requerendo incubação a 28°C a 30°C por até 4 meses, embora a maioria das culturas seja positiva dentro de 2 semanas. Consistentemente com as duas fases da doença, as leptospiras estão presentes no sangue ou LCR durante os primeiros 10 dias de infecção e na urina após a primeira semana e por até 3 meses. Uma vez que as concentrações dos organismos no sangue, LCR e na urina podem ser baixas, várias amostras devem ser coletadas com suspeita de leptospirose. Além disso, inibidores presentes no sangue e na urina podem atrasar ou impedir a recuperação das leptospiras. Dessa forma, a urina deve ser tratada de modo a neutralizar o pH e concentrada por centrifugação. Algumas gotas do sedimento são, então, inoculadas no meio de cultura. O crescimento da bactéria em cultura é detectado por microscopia de campo escuro.

Testes com Base em Ácidos Nucleicos

O trabalho preliminar na detecção de leptospiras empregando sondas de ácidos nucleicos tem tido sucesso limitado. Técnicas para a amplificação de ácidos nucleicos (p. ex., PCR) são mais sensíveis do que a cultura. Infelizmente esta técnica não está amplamente disponível no momento.

Detecção de Anticorpo

Em função da necessidade de meios específicos e períodos de incubação prolongados, a maioria dos laboratórios não realiza cultura de leptospiras e, portanto, dependem de técnicas sorológicas. O método de referência para todos os testes sorológicos é o **teste de aglutinação microscópica (MAT)**. Este teste mede a capacidade de soro de pacientes de aglutinar leptospiras vivas. Como o teste é dirigido contra sorotipos específicos é necessário utilizar uma mistura de antígenos de leptospiras. Neste teste, diluições seriadas de soro de paciente são misturadas com os antígenos e, em seguida, é a existência de aglutinação pesquisada microscopicamente. Aglutininas aparecem no sangue de pacientes não tratados após 5 a 7 dias de infecção, embora esta resposta possa ser mantida por vários meses. Pacientes infectados apresentam um título de pelo menos 1:200 (*i.e.*, aglutininas são detectadas em uma diluição de 1:200 do soro do paciente), podendo alcançar diluições de até

1:25.000 ou superiores. Os pacientes tratados com antibióticos podem ter uma resposta imunitária diminuída ou títulos abaixo do limite de detecção do teste. Os anticorpos aglutinantes são detectáveis durante muitos anos após a doença aguda; assim, sua presença pode representar tanto uma resposta atenuada de anticorpos em pacientes com doença aguda tratada ou anticorpos residuais em uma pessoa com leptospirose anterior não diagnosticada. Como a aglutinação microscópica utiliza organismos vivos, esta é realizada apenas em laboratórios de referência. Testes alternativos, como a hemaglutinação indireta, aglutinação em lâmina e ELISA são menos sensíveis e específicos. Estes testes podem ser realizados para rastrear a doença, mas em casos de reações positivas devem ser confirmados por MAT ou, preferencialmente, por cultura. Reações sorológicas cruzadas ocorrem com infecções por outras espiroquetas (p. ex., sífilis, febre recorrente, doença de Lyme) e com legionelose.

Tratamento, Prevenção e Controle

A leptospirose normalmente não é fatal, sobretudo, na ausência de doença ictérica. Os pacientes devem ser tratados com **penicilina** ou **doxiciclina** administradas por via intravenosa. A administração de doxiciclina, mas não de penicilina, pode prevenir a doença em pessoas expostas a animais infectados ou água contaminada com urina. É difícil erradicar a leptospirose, porque a doença é disseminada em animais domésticos e silvestres. No entanto, a vacinação de animais de pecuária e de estimação tem-se revelado eficaz na redução da incidência da doença nessas populações e, portanto, subsequente à exposição humana. O controle de roedores também é eficaz na eliminação de leptospirose em comunidades.

Estudo de Caso e Questões

Uma mulher com 18 anos de idade queixou-se de uma dor no joelho que começara há 2 semanas. Três meses antes, logo depois de suas férias em Connecticut, ela notou uma área circular de vermelhidão de aproximadamente 10cm de diâmetro na parte inferior de sua perna. Nas duas semanas seguintes, a área aumentou e as bordas tornaram-se mais claramente demarcadas, no entanto, a erupção cutânea foi desaparecendo gradualmente. Poucos dias após o desaparecimento da erupção, ela percebeu o aparecimento de dores de cabeça, incapacidade de se concentrar e náuseas. Estes sintomas também diminuíram gradualmente. A dor em seu joelho se desenvolveu cerca de um mês após o desaparecimento desses sintomas. No exame do joelho, foram observadas sensibilidade e dor moderadas. Uma pequena quantidade de fluido seroso foi aspirada da articulação e um elevado número de glóbulos brancos foi detectado. Anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* estavam presentes no soro da paciente (títulos de 1:32 e 1:1024 para IgG e IgM, respectivamente), confirmando o diagnóstico clínico de artrite de Lyme.

1. Quais são as manifestações iniciais e tardias da doença de Lyme?

1. O início dos primeiros estágios da doença de Lyme é caracterizado por pequenas máculas no local da mordida, que aumentam durantes as próximas semanas. A lesão tem bordo plano com clareamento central, ainda que eritematosa; pode ocorrer formação de vesícula ou de necrose. Este “rash” (eritema migratório [migratório porque lesões adicionais podem se desenvolver]) é acompanhado de mal-estar, fadiga, cefaleia, febre, tremores, dores musculares e linfadenopatia. Em pacientes não tratados estes sinais e sintomas podem progredir, causando disfunção cardíaca (bloqueio cardíaco, miopericardite, falência cardíaca congestiva) e neurológica (paralisia facial, meningite, encefalite). Manifestações tardias da doença de Lyme tipicamente se apresentam como artrite intermitente envolvendo uma ou mais juntas.

2. Quais são as limitações dos seguintes testes diagnósticos para a doença de Lyme: microscopia, cultura e sorologia? Como eles se correlacionam com os testes de diagnóstico para outras febres recorrentes?

2. A confirmação laboratorial da doença de Lyme é difícil. Poucos microrganismos estão presentes no sangue ou tecido infectados, de modo que a microscopia é praticamente sem valor. A cultura de *Borrelia burgdorferi* tem sucesso limitado. O cultivo necessita de meios especiais e só tem sensibilidade durante o estágio inicial de eritema migratório; entretanto a lesão é patognomônica, tornando a confirmação laboratorial desnecessária. O dilema clínico ocorre quando um paciente com artrite não tem história de manifestações da doença de Lyme. Neste estágio as culturas são sempre negativas. Amplificação de ácidos nucleicos também é insensível. Testes sorológicos em pacientes com as manifestações tardias geralmente são fortemente positivos se o paciente não recebeu tratamento com antibiótico. Entretanto, a

sorologia é menos confiável no estágio inicial da doença. Reações cruzadas ocorrem principalmente em pacientes com outras doenças por espiroquetas, como sífilis. A observação de *Borrelia* no sangue é diagnóstica para febre recorrente. Cultura e sorologia não são úteis para esta bactéria.

3. Cite dois exemplos de testes treponêmicos e não treponêmicos para sífilis. Quais reações a esses testes você esperaria para pacientes portadores de sífilis primária, secundária e tardia?

3. O diagnóstico laboratorial da sífilis geralmente é realizado usando um teste sorológico não treponêmico para triagem e um teste treponêmico mais específico para confirmação. O VDRL é um exemplo de teste não treponêmico e FTA-ABS (teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente) e TP-PA (teste de aglutinação de partículas) são exemplos de testes treponêmicos. Os testes não treponêmicos têm sensibilidade de 75%-85% para pacientes com sífilis primária e quase 100% para pacientes com sífilis secundária e latente. A sensibilidade destes testes é baixa (cerca de 70%) em pacientes com manifestações tardias de sífilis. Os testes treponêmicos têm sensibilidade de aproximadamente 85% na sífilis primária e quase 100% nos demais estágios, incluindo a sífilis tardia.

4. Quais são os reservatórios e vetores da sífilis, febre recorrente epidêmica e endêmica, doença de Lyme e leptospirose?

4. O reservatório da sífilis é o ser humano. A transmissão é tanto por contato sexual como congênita. A exposição ao sangue contaminado é atualmente uma fonte rara. A febre recorrente endêmica é uma doença zoonótica sendo os reservatórios mais comuns roedores e carrapatos moles. O vetor são carrapatos infectados. O reservatório da febre epidêmica ou doenças transmitidas por piolhos é o ser humano, com disseminação através de piolhos infectados. Nos EUA, o reservatório primário da doença de Lyme é o camundongo de patas brancas e o cervo de cauda branca. Carrapatos são os vetores. O principal hospedeiro reservatório de leptospiras são os roedores. A doença se dissemina pela exposição à água contaminada com urina ou exposição ocupacional a animais infectados.

5. Quais testes diagnósticos podem ser utilizados para o diagnóstico da leptospirose?

5. O diagnóstico da leptospirose é difícil. As leptospiras são finas demais para serem observadas no microscópio ótico. Microscopia de campo escuro pode ser usada para examinar o sangue de indivíduos contaminados; entretanto, este método é relativamente insensível e artefatos do sangue podem levar a erros diagnósticos. Assim, a microscopia não é recomendada. Leptospiras podem ser cultivadas a partir do sangue, líquido cerebrospinal ou urina, usando meios especiais e incubação prolongada (até 4 meses). Uma vez que estes procedimentos não são adequados para diagnóstico de rotina, a sorologia é o método de escolha. O método de referência é o teste de aglutinação microscópica (MAT). Entretanto, este procedimento requer o uso de leptospiras vivas sendo restrito a laboratórios de referência. Testes alternativos de aglutinação e ELISA estão disponíveis, mas são menos sensíveis e específicos.

Bibliografia

Aguero-Rosenfeld et al: Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:484-

509.
Antal GM, Lukehart SA, Meheus AZ. The endemic treponematoses. *Microbes Infect*. 2002;4:83-94.
Butler T. et al: Infection with Borrelia recurrentis: Pathogenesis of fever and petechiae. *J Infect Dis*. 1979;140:665-672.
Centers for Disease Control and Prevention: Sexually Transmitted Disease Surveillance 2003. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2004.
Cutler S. et al: Borrelia recurrentis characterization and comparison with relapsing fever, Lyme-associated, and other Borrelia spp. *Int J Syst Bacteriol*. 1997;47:958-968.
Feder H. et al: Review article: A critical appraisal of “chronic Lyme disease”. *N Engl J Med*. 2007;357:1422-1430.
LaFond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:29-49.
Levitt PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:296-326.
Rothschild BM. History of syphilis. *Clin Inf Dis*. 2005;40:1454-1463.
Spach D. et al: Tick-borne diseases in the United States. *N Engl J Med*. 1993;329:936-947.
Toner B. Current controversies in the management of adult syphilis. *Clin Infect Dis*. 2007;44:S130-S146.
Wormser GP. Early Lyme disease. *N Engl J Med*. 2006;354:2794-2801.
Wormser GP. et al: The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme Disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2006;43:1089-1134.

43 Mycoplasma e Ureaplasma

A classe dos organismos *Mollicutes* é subdividida em cinco famílias com quase 200 espécies. Dezesseis espécies da família *Mycoplasmataceae* colonizam seres humanos, e cinco espécies estão associadas a doenças humanas. A espécie mais importante é *Mycoplasma pneumoniae* (também chamado de **agente Eaton**, em homenagem ao pesquisador que originariamente o isolou). *M. pneumoniae* causa doenças do trato respiratório, traqueobronquite e pneumonia (Quadro 43-1). Outros patógenos comumente isolados incluem *Mycoplasma genitalium, M. hominis* e *Ureaplasma urealyticum* (Tab. 43-1).

Quadro 43-1 Resumo de *Mycoplasma pneumoniae*

Biologia, Virulência e Doença

A menor bactéria de vida livre, capaz de passar através de filtros com poros de 0,45 µm

Ausência de parede celular e uma membrana celular contendo esteroides são aspectos únicos entre as bactérias

Índice lento de crescimento (tempo de geração de 6 horas); estritamente aeróbio

A proteína adesina P1 se liga à base dos cílios das células epiteliais, levando à perda das células epiteliais ciliadas

Estimula a migração de células inflamatórias e liberação de citocinas

Patógeno estritamente humano

Consulte a Tabela 43-1 para obter mais informações sobre a doença

Epidemiologia

Doença disseminada por todo o mundo, sem incidência sazonal (em contraste com as doenças causadas pela maioria dos patógenos respiratórios)

Infecta principalmente crianças com idade entre 5 e 15 anos, mas todas as populações estão suscetíveis à doença

Transmitida por inalação de gotículas aerossolizadas

Diagnóstico

Consulte a Tabela 43-2

Tratamento, Prevenção e Controle

Os antimicrobianos de escolha são a eritromicina, doxiciclina ou fluoroquinolonas recentes

A imunidade à reinfecção não é duradoura, e vacinas têm se mostrado ineficazes

Tabela 43-1 *Micoplasmataceae* Clinicamente Importantes

Organismo	Local	Doença Humana
Mycoplasma pneumoniae	Trato respiratório	Traqueobronquite, faringite, pneumonia, complicações secundárias (neurológicas, pericardite, anemia hemolítica, artrite, lesões mucocutâneas)
Mycoplasma genitalium	Trato geniturinário	Uretrite não gonocócica (UNG), doença inflamatória pélvica
Mycoplasma hominis	Trato respiratório, trato geniturinário	Pielonefrite, febre pós-parto, infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos
Ureaplasma urealyticum	Trato respiratório, trato geniturinário	UNG, pielonefrite, aborto espontâneo, parto prematuro

Fisiologia e Estrutura

Os organismos *Mycoplasma* e *Ureaplasma* são as **menores bactérias de vida livre**. Eles são únicos entre as bactérias, porque **não têm parede celular** e sua membrana plasmática contém **esteroides**. Ao contrário, outras bactérias deficientes em parede celular (chamadas **formas L**) não têm esteroides em sua membrana plasmática e podem formar paredes celulares sob condições adequadas de crescimento. A ausência da parede celular torna os micoplasmas resistentes a penicilinas, cefalosporinas, vancomicina, outros antibióticos que interferem na síntese da parede celular.

Os micoplasmas formam configurações pleomórficas que variam de formas cocoides com 0,2 a 0,3µm a bacilos de 0,1 a 0,2µm de largura e 1 a 2µm de comprimento. Muitos podem passar através de filtros de 0,45µm usados para remover bactérias de soluções, razão pela qual os micoplasmas foram originalmente considerados como vírus. Entretanto, os organismos se dividem por fissão binária (típica de todas as bactérias), crescem em meios artificiais livres de células, contêm tanto ácido ribonucleico (RNA) como ácido desoxirribonucleico (DNA). Os micoplasmas são anaeróbios facultativos (exceto *M. pneumoniae*, que é **aeróbio estrito**) e requerem esteroides exógenos fornecidos por soro animal adicionado ao meio de cultura. Os micoplasmas **crescem lentamente**, com um tempo de geração de 1 a 16 horas, e a maioria forma colônias pequenas que são difíceis de detectar sem uma incubação prolongada.

Como os *Mycoplasmataceae* não têm uma parede celular, os principais determinantes antigênicos são glicolipídios e proteínas de membrana. Estes antígenos exibem reação cruzada com tecidos humanos e com outras bactérias.

Patogênese e Imunidade

M. pneumoniae é um patógeno extracelular que adere ao epitélio respiratório por meio de uma estrutura especializada de adesão que se forma em uma extremidade da célula. A estrutura consiste em um complexo de proteínas de adesão, com a **adesina P1** como a mais importante. As estruturas de adesão interagem especificamente com receptores glicoproteicos sializados existentes na base dos cílios da superfície das células epiteliais (e na superfície de eritrócitos). Depois, ocorre a ciliostase, logo após os cílios e, em seguida, as células epiteliais ciliadas são destruídos. A perda dessas células interfere na limpeza normal das vias aéreas superiores e permite que o trato respiratório inferior se torne contaminado com micróbios e mecanicamente irritado. O processo é responsável pela tosse persistente presente em pacientes com a doença sintomática. *M. pneumoniae* atua como um superantígeno, estimulando células inflamatórias a migrar para o local de infecção e liberar citocinas, inicialmente fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e interleucina-1 (IL-1), e, mais tarde, IL-6. Esse processo contribui tanto para a eliminação das bactérias como para a observação da doença.

Epidemiologia

M. pneumoniae é um patógeno que afeta estritamente os seres humanos. A doença respiratória (p. ex., traqueobronquite, pneumonia) causada por *M. pneumoniae* ocorre em todo o mundo durante o ano, sem aumento sazonal consistente. Entretanto, pelo fato de doenças causadas por outros agentes infecciosos (p. ex., *Streptococcus pneumoniae*, vírus) serem mais comuns durante os meses frios, a doença por *M. pneumoniae* é proporcionalmente mais comum durante o verão e o outono. A doença epidêmica ocorre a cada 4 a 8 anos. É mais comum em crianças em idade escolar (com 5 a 15 anos de idade) e adultos jovens, embora todas as faixas etárias sejam suscetíveis.

Estima-se que 2 milhões de casos de pneumonia por *M. pneumoniae* e 100.000 hospitalizações relacionadas à pneumonia ocorram anualmente nos Estados Unidos. No entanto, a doença por *M. pneumoniae* não é uma doença de notificação obrigatória, e testes diagnósticos confiáveis não estão amplamente disponíveis, de modo que a real incidência não é conhecida.

M. pneumoniae coloniza o nariz, a garganta, a traqueia e as vias aéreas inferiores de indivíduos infectados e é disseminada através de grandes gotículas respiratórias durante episódios de tosse. A infecção usualmente se propaga entre colegas de turma, membros da família, ou outros contatos próximos. O índice de acometimento é mais alto em crianças do que em adultos (média geral de aproximadamente 60%), presumivelmente porque a maioria dos adultos é parcialmente imune por exposição prévia. O período de incubação e o tempo de infectividade são prolongados; assim, a doença pode persistir por meses. Crianças, particularmente meninas, são colonizadas com *M. hominis, M. genitalium* e *Ureaplasma*, sendo *Ureaplasma* os organismos mais frequentemente isolados. Embora a ocorrência destes micoplasmas geralmente não persista, uma pequena proporção de crianças pré-púberes permanece colonizada. A incidência de micoplasmas genitais aumenta na puberdade, correspondendo à atividade sexual. Aproximadamente 15% dos homens e mulheres sexualmente ativos são colonizados com *M. hominis*, e 45% a 75% são colonizados com *Ureaplasma*. A incidência de adultos portadores sexualmente inativos não é maior do que crianças pré-púberes. *M. pneumoniae* não é parte da flora normal de mucosas de seres humanos; entretanto, os indivíduos podem se tornar portadores por um tempo prolongado após a doença sintomática.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 43-1)

Caso Clínico 43-1 Pneumonia Fatal por *M. Pneumoniae* em um Adulto Jovem

Caxboeck et al. (Wien Klin Wochenschr 119:379-384, 2007) descreveram um caso incomum de pneumonia fatal por *M. pneumoniae* em uma mulher de 18 anos de idade previamente saudável. Antes da admissão ao hospital, ela tinha consultado o médico com queixa de desconforto respiratório, e uma radiografia de tórax foi condizente com pneumonia. Um antibiótico do grupo das fluoroquinolonas foi prescrito, mas houve falha terapêutica. Na admissão ao hospital, ela apresentava uma temperatura de 40°C e tosse produtiva. O antibiótico foi mudado para um macrolídeo e cefalosporina; entretanto, ela continuava a piorar, com progressão dos infiltrados pulmonares, desenvolvimento de efusões pleurais bilaterais e evidências de insuficiência hepática. Apesar da terapia agressiva com antibióticos e suporte respiratório, sua doença progrediu para uma pneumonia hemorrágica com falência de múltiplos órgãos, e ela morreu no 35° dia de internação hospitalar. O diagnóstico de infecção por *M. pneumoniae* baseou-se na sorologia positiva e na falta de outros patógenos respiratórios à microscopia, cultura e testagem de antígenos. Embora o diagnóstico por cultura ou PCR tivesse sido mais convincente, o caso ilustra a suscetibilidade de adultos a infecções por micoplasmas e a ocorrência incomum, porém bem reconhecida, de sérias complicações em pacientes suscetíveis. Deve-se notar também que esta paciente muito provavelmente tinha um defeito imunológico não diagnosticado que aumentou sua suscetibilidade a este patógeno.

A exposição a *M. pneumoniae* tipicamente torna os indivíduos **portadores assintomáticos**. A apresentação clínica mais comum da infecção por *M. pneumoniae* é a **traqueobronquite**. Febre baixa, mal-estar, dor de cabeça e uma tosse seca e não produtiva se desenvolvem 2 a 3 semanas após a exposição. **Faringite** aguda também pode estar presente. Os sintomas gradualmente pioram ao longo dos dias e podem persistir por 2 semanas ou mais. As vias brônquicas se tornam infiltradas com linfócitos e plasmócitos. Uma pneumonia (chamada de **pneumonia atípica** primária) também pode se desenvolver, sendo broncopneumonia macular observada na radiografia de tórax que é tipicamente mais impressionante do que os achados físicos. Mialgia e sintomas do trato gastrintestinal são incomuns. Complicações secundárias incluem anormalidades neurológicas (p. ex., meningoencefalite, paralisia e mielite), pericardite, anemia hemolítica, artrite e lesões mucocutâneas.

Como o trato geniturinário é colonizado com outras espécies de *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, é difícil determinar o papel destes organismos na doença de um paciente. Entretanto, geralmente é aceito que *M. genitalium* pode causar uretrite não gonocócica (UNG) e doença inflamatória pélvica; *U. urealyticum* pode causar UNG, pielonefrite e aborto espontâneo ou parto prematuro; e *M. hominis* pode causar pielonefrite, febre pós-parto e infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos. As evidências que implicam os organismos nestas doenças estão baseadas em: (1) obtenção das bactérias a partir de espécimes de pacientes infectados; (2) uma resposta sorológica ao organismo; (3) melhora clínica após tratamento com antibióticos específicos; (4) demonstração da doença em modelos animais; ou (5) uma combinação destes achados.

Diagnóstico Laboratorial

Os testes diagnósticos para infecções por *M. pneumoniae* estão resumidos na Tabela 43-2.

Tabela 43-2 Testes Diagnósticos para Infecções por *Mycoplasma pneumoniae*

Teste	Avaliação
Microscopia	O teste não é útil, porque os organismos não têm uma parede celular e não se coram com os reagentes convencionais
Cultura	O teste é lento (2 a 6 semanas antes de diagnóstico positivo) e insensível; não está disponível na maioria dos laboratórios
Diagnóstico molecular	Ensaios de amplificação baseados em PCR com excelente sensibilidade; a especificidade não é bem definida; expectativa de ser o teste diagnóstico de escolha quando os ensaios se tornarem mais amplamente disponíveis
Sorologia:	
Fixação do complemento	Os títulos dos anticorpos contra antígenos lipídicos têm pico em 4 semanas e persistem por 6 a 12 meses; sensibilidade e especificidade ruins
Enzima imunoensaio	Vários testes disponíveis com sensibilidade e especificidade variáveis; os testes contra a proteína adesina P1 podem ser mais específicos
Crioaglutininas	Sensibilidade e especificidade ruins, com reações cruzadas com outros antígenos respiratórios (p. ex., vírus Epstein-Barr, citomegalovírus, adenovírus); teste comumente usado, mas não recomendado

PCR, Reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction).

Microscopia

A microscopia não tem valor diagnóstico. Os micoplasmas se coram mal porque não têm parede celular.

Detecção de Antígenos

Embora os testes para antígenos tenham sido desenvolvidos para o diagnóstico rápido de *M. pneumoniae*, eles têm baixas sensibilidade e especificidade, e não são recomendados.

Testes com Base em Ácidos Nucleicos

Os testes de amplificação por PCR de alvos espécie-específicos foram desenvolvidos para todas as espécies patogênicas de *Mycoplasma* e *Ureaplasma*. Os testes têm excelente sensibilidade, mas a especificidade não é bem definida; isto é, estes ensaios podem exibir reação cruzada com espécies avirulentas que colonizam seres humanos. Além disso, ensaios comerciais de PCR não estão disponíveis neste momento, de modo que o teste está basicamente restrito à pesquisa e aos laboratórios de referência.

Cultura

Ao contrário de outros micoplasmas, *M. pneumoniae* é aeróbio estrito. Estes micoplasmas podem ser isolados a partir de lavados de garganta, lavados brônquicos, ou escarro expectorado. As lavagens são mais confiáveis do que espécimes de escarro, porque a maioria dos pacientes infectados tem uma tosse seca e não produtiva, e não produzem escarro. O espécime deve ser inoculado em meios especiais, suplementados com soro (fornece esteroides), extrato de leveduras (para os precursores de ácidos nucleicos), glicose, um indicador de pH e penicilina (para inibir outras bactérias). Os organismos crescem lentamente em cultura, com um tempo de geração de 6 horas.

Embora o resultado positivo de uma cultura seja uma evidência definitiva da doença, ela é relativamente **insensível**. Em um estudo bem projetado, 36% dos isolados foram detectados dentro de 2 semanas, enquanto a detecção dos isolados remanescentes necessitaram incubação prolongada (em torno de 6 semanas). Em outro estudo, apenas 64% das culturas de pacientes com evidências sorológicas de infecção aguda por *Mycoplasma* tiveram resultados positivos. O crescimento dos organismos em cultura é indicado pelo metabolismo da glicose com a correspondente alteração do pH.

As colônias de *M. pneumoniae* são pequenas e têm uma aparência granular homogênea (“formato de amora”), ao contrário da morfologia em ovo frito dos outros micoplasmas. A identificação de isolados pode ser confirmada pela inibição de seu crescimento com antissoros específicos. Entretanto, como este organismo é difícil de crescer, e os resultados tipicamente não estão disponíveis por muitas semanas, a maioria dos laboratórios não realiza cultura.

M. hominis é um anaeróbio facultativo que cresce em 1 a 4 semanas e metaboliza a arginina, mas não a glicose. As colônias têm uma típica aparência grande, em ovo frito. A inibição do crescimento com antissoro específico é usada para diferenciar de outros micoplasmas genitais. *Ureaplasma* requer a ureia para seu crescimento, mas é inibido pela grande alcalinidade resultante do metabolismo da ureia. Deste modo, o meio de crescimento deve ser suplementado com ureia e ser altamente tamponado. Mesmo se estas etapas forem realizadas, os ureaplasmas morrem rapidamente após o isolamento inicial.

Detecção de Anticorpos

Testes com anticorpos específicos estão disponíveis apenas para *M. pneumoniae*. A detecção de anticorpos direcionados contra *M. pneumoniae* por fixação do complemento é o padrão de referência sorológica tradicional. Entretanto, o teste tem uma baixa sensibilidade, e os anticorpos direcionados contra o antígeno glicolipídico-alvo são também produzidos por outras espécies de *Mycoplasma* e pelos tecidos do hospedeiro. Vários testes imunoenzimáticos para a detecção de imunoglobulina M (IgM) e de anticorpos IgG estão disponíveis. Em geral, os testes são mais sensíveis que os de fixação de complemento e cultura. A desvantagem destes testes é que os soros têm que ser coletados logo no início do curso da doença e novamente após 3 a 4 semanas para demonstrar uma elevação nos níveis de anticorpos.

Historicamente, também foi possível medir as reações inespecíficas para os lipídios da membrana plasmática de *M. pneumoniae*. A mais útil destas reações é a produção de **crioaglutininas** (p. ex., anticorpos IgM que se ligam ao antígeno I na superfície de eritrócitos humanos a 4°C). Este teste é insensível e inespecífico, de maneira que não deve ser realizado.

Tratamento, Prevenção e Controle

A eritromicina, as tetraciclinas (particularmente a doxiciclina) e as fluoroquinolonas são igualmente eficazes no tratamento de infecções por *M. pneumoniae*, embora as tetraciclinas e as fluoroquinolonas sejam reservadas para uso em adultos. As tetraciclinas têm a vantagem de também serem ativas contra a maioria dos outros micoplasmas e clamídias, que também são causas comuns de uretrite não gonocócica. A eritromicina é usada para tratar as infecções por *Ureaplasma* porque estes organismos são resistentes à tetraciclina. Ao contrário dos outros micoplasmas, *M. hominis* é resistente à eritromicina e ocasionalmente às tetraciclinas. A clindamicina tem sido usada para tratar infecções causadas por cepas resistentes.

A prevenção da doença por *Mycoplasma* é problemática. Infecções por *M. pneumoniae* são disseminadas por contato próximo; deste modo, o isolamento de pessoas infectadas teoricamente pode reduzir o risco de infecção. O isolamento é pouco prático, pois os pacientes são tipicamente infecciosos por um período prolongado, mesmo durante o tratamento com antibióticos apropriados. Vacinas de organismos inativados e vacinas de organismos vivos atenuados também têm se mostrado decepcionantes. Tem sido observada baixa imunidade protetora conferida pela infecção. Infecções com *M. hominis, M. genitalium* e *Ureaplasma* são transmitidas por contato sexual. Consequentemente, estas doenças podem ser prevenidas evitando a atividade sexual ou pelo uso de barreiras protetoras apropriadas.

Estudo de Caso e Questões

Uma letargia aumentada, dor de cabeça, tosse, febre baixa e tremores e suores à noite se desenvolveram em uma estudante universitária de 21 anos de idade. Quando foi examinada no centro de saúde estudantil, apresentava uma tosse não produtiva e encurtamento da respiração sob esforço. Sua frequência de pulso era de 95 batimentos/minuto, e sua frequência respiratória era de 28 respirações/minuto. Sua faringe estava eritematosa; roncos e ruídos, sem consolidação, foram notados à ausculta. Os resultados de uma radiografia de tórax mostraram infiltrados maculares. Uma coloração de Gram do escarro revelou muitos leucócitos, mas não mostrou organismos. A titulação de anticorpos para um teste de fixação de complemento para *Mycoplasma* realizado em um espécime coletado à admissão foi de 1:8; a titulação para um espécime coletado uma semana depois foi de 1:32. A paciente foi tratada com eritromicina, para a qual sua doença respondeu lentamente durante as 2 semanas seguintes.

1. Se as culturas fossem realizadas, qual seria o melhor espécime? Quando os resultados estariam disponíveis? Quais são a sensibilidade e a especificidade da cultura em um paciente infectado por *M. pneumoniae*?

1. A paciente tem pneumonia atípica causada por *Mycoplasma pneumoniae*. O organismo pode ser cultivado a partir de lavados de garganta, lavados brônquicos ou escarro. A coleta de escarro não é possível porque geralmente os pacientes não têm tosse produtiva (como é neste caso). Lavado de garganta pode ser um espécime sensível e não invasivo. A cultura tem sensibilidade relativamente baixa e requer incubação por até 6 semanas. Por esta razão, poucos laboratórios utilizam este procedimento. A sorologia (utilizada neste caso) é o procedimento mais usado, mas também tem baixa sensibilidade. O teste diagnóstico de escolha atualmente é o PCR, entretanto os testes não são amplamente disponíveis no momento.

2. Como as espécies de *Mycoplasma* diferem das outras bactérias?

2 . *Mycoplasma* spp. são únicos entre as bactérias pela ausência de parede celular e presença de esteróis em sua membrana celular. A ausência da parede celular confere resistência a penicilinas, cefalosporinas, vancomicina e outros antibióticos que interferem na sua síntese.

3. Descreva a epidemiologia das infecções por *M. pneumoniae*. Que aspectos deste caso são característicos de tais infecções?

3. Pneumonia causada por *M. pneumoniae* ocorre durante todo o ano. Embora mais comum em crianças de idade escolar e adultos jovens, pode ocorrer em todas as faixas etárias. As infecções são transmitidas de pessoa a pessoa através de secreções respiratórias infecciosas. A idade deste paciente e sua apresentação clínica são características de infecção por *M. pneumoniae*.

4. Que outros micoplasmas causam doenças em seres humanos? Que doenças elas causam?

4. *M. hominis* tem sido implicado em pielonefrite, doença inflamatória pélvica e febre após o parto. *M. genitalium* tem sido ligado a alguns casos de uretrite, e *M. fermentans* associado com pneumonia e doenças gripais. Devido à dificuldade de diagnosticar infecções por micoplasmas, é possível que o verdadeiro espectro de doenças causadas por estas bactérias não seja devidamente avaliado.

Bibliografia

Blasi F. et al: Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae. *Semin Respir Crit Care Med*. 2005;26:617-624.

Loens K. et al: Molecular diagnosis of Mycoplasma pneumoniae respiratory tract infections. *J Clin Microbiol*. 2003;41:4915-4923.

Templeton KE. et al: Comparison and evaluation of real-time PCR, realtime nucleic acid sequence-based amplification, conventional PCR, and serology for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae. *J Clin Microbiol*. 2003;41:4366-4371.

Waites K, Katz B, Schelonka R. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:757-789.

Waites K, Talkington D. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:697-728.

Waites K, Talkington D. New developments in human diseases due to mycoplasmas. In: Blanchard A, Browning G, editors. *Mycoplasmas: Pathogenesis, Molecular Biology, and Emerging Strategies for Control*. Norwich, United Kingdom: Horizon Scientific; 2005:289-354.

44 Rickettsia e Orientia

Rickettsia (denominada em homenagem a Howard Rickets), *Ehrlichia* (em homenagem a Paul Ehrlich) e *Coxiella* (em homenagem a Harold Cox) foram historicamente classificadas em uma única família, *Rickettsiaceae*, baseada na observação de que elas eram bacilos Gram negativos aeróbicos e de vida intracelular obrigatória. A análise das sequências de seu ácido desoxirribonucleico (DNA) revelou que esta classificação era inválida. Além do mais, foi observado que o gênero *Rickettsia* deveria ser subdividido em dois gêneros (*Rickettsia* e *Orientia*), e o *Ehrlichia* dividido também em dois gêneros (*Ehrlichia* e *Anaplasma*). *Rickettsia* e *Orientia* são discutidos neste capítulo, e os outros dois gêneros de organismos de vida intracelular no Capítulo 45.

Os organismos da família *Rickettsiaceae* são pequenos (0,3 × 1 a 2 μm), estruturalmente similares a bacilos Gram negativos, embora se corem mal pela coloração de Gram e cresçam apenas no citoplasma de células eucarióticas. As espécies patogênicas de *Rickettsia* e *Orientia* (Quadro 44-1) são mantidas em reservatórios mamíferos e artrópodos, e são transmitidas por vetores artrópodos (p. ex., carrapatos, ácaros, piolhos, pulgas). Os seres humanos são hospedeiros acidentais. As espécies de *Rickettsia* são subdivididas no **grupo da febre maculosa** e no **grupo do tifo**. Pelo menos 17 espécies de *Rickettsia* no grupo da febre maculosa têm sido associadas a doenças humanas. ***Rickettsia rickettsii*** (febre maculosa das Montanhas Rochosas) e ***Rickettsia akari*** (riquetsiose vesicular) serão discutidas neste capítulo. Para uma revisão de outros membros do grupo da febre maculosa distribuídos por todo o mundo, por favor, refira-se à revisão de Parola et al. Duas espécies de *Rickettsia* são membros do grupo do tifo: ***R. prowazekii*** e ***R. typhi***. Uma única espécie se encontra no gênero *Orientia*: ***O. tsutsugamushi***.

Quadro 44-1 *Rickettsia* e *Orientia* Importantes

Organismo	Etimologia
Rickettsia rickettsii	Denominada devido a Howard *Ricketts*, que associou o carrapato da floresta como o vetor da febre maculosa das Montanhas Rochosas
R. akari	*Akari*, "ácaro"; o vetor da riquetsiose vesicular
R. prowazekii	Denominada devido a Stanislav Von *Prowazek*, um antigo pesquisador do tifo que foi vítima desta doença
R. typhi	*typhi*, "tifo" ou "febre"
Orientia tsutsugamushi	*Orientia*, "oriente"; *tsutsugamushi*, "doença do ácaro", o nome popular desta doença no Oriente

As riquétsias são mantidas em hospedeiros reservatórios, principalmente roedores e seus vetores artrópodos (p. ex., carrapatos, ácaros, pulgas) (Fig. 44-1). A **transmissão transovariana** também mantém as bactérias nos artrópodos, servindo como vetores e hospedeiros. A exceção é a *Rickettsia prowazekii*, para a qual os seres humanos são o principal hospedeiro, e o vetor é o piolho do corpo humano. As bactérias matam os piolhos, de maneira que a transmissão ovariana não é importante. A distribuição das doenças riquetsianas é determinada pela distribuição do artrópodo hospedeiro/vetor. A maioria das infecções que tem carrapatos como vetores (p. ex., febre maculosa) tem distribuição geográfica restrita, enquanto infecções com outros vetores, como piolhos (*R. prowazekii*), pulgas (*Rickettsia typhi*) e ácaros (*Rickettsia akari, Orientia tsutsugamushi*) têm distribuição mundial (Tab. 44-1).

Doença	Organismo	Vector	Reservatório
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	*R. rickettsii*	Carrapatos	Carrapatos, roedores selvagens
Riquetsiose vesicular	*R. akari*	Ácaros	Ácaros, roedores selvagens
Tifo rural	*O. tsutsugamushi*		Pulgas (Tunga penetrans, bicho-de-pé), roedores selvagens
Tifo epidêmico	*R. prowazekii*	Piolhos	Seres humanos, esquilos, pulgas, esquilos voadores
Tifo endêmico murino	*R. typhi*	Pulgas	Roedores selvagens

Figura 44-1 Epidemiologia das infecções comuns por *Rickettsia* e *Orientia*.

Tabela 44-1 Distribuição das Espécies de *Rickettsia* e *Orientia*

Organismo	Doença Humana	Distribuição
R. rickettsii	Febre maculosa das Montanhas Rochosas	Hemisfério ocidental (Estados Unidos, Canadá, México, Panamá, Costa Rica, Brasil, Colômbia, Argentina)
R. akari	Riquetsiose vesicular	Estados Unidos, Ucrânia, Croácia, Coreia
	Tifo epidêmico	Todo o mundo

R. prowazekii	Tifo recrudescente	Todo o mundo
	Tifo esporádico	Estados Unidos
R. typhi	Tifo endêmico (murino)	Todo o mundo
O. tsutsugamushi	Tifo rural	Japão, Ásia oriental, norte da Austrália, oeste e sudoeste do Pacífico

Fisiologia e Estrutura

A estrutura da parede celular de *Rickettsia* é típica de bacilos Gram negativos, com uma camada de peptidoglicano e lipopolissacarídeos (LPS). Entretanto, a camada de petidoglicanos é mínima (cora fracamente com a coloração de Gram), e os LPS que têm apenas uma fraca atividade como endotoxina. *Orientia* não apresenta a camada de peptidoglicano, nem os LPS. Os organismos são melhor visualizados com as colorações de Giemsa ou Gimenez (Fig. 44-2). As bactérias não apresentam flagelos, e a *Rickettsia* é circundada por uma camada limosa frouxamente aderente. *Rickettsia* e *Orientia* são parasitas estritamente intracelulares, encontrados livres no citoplasma de células infectadas.

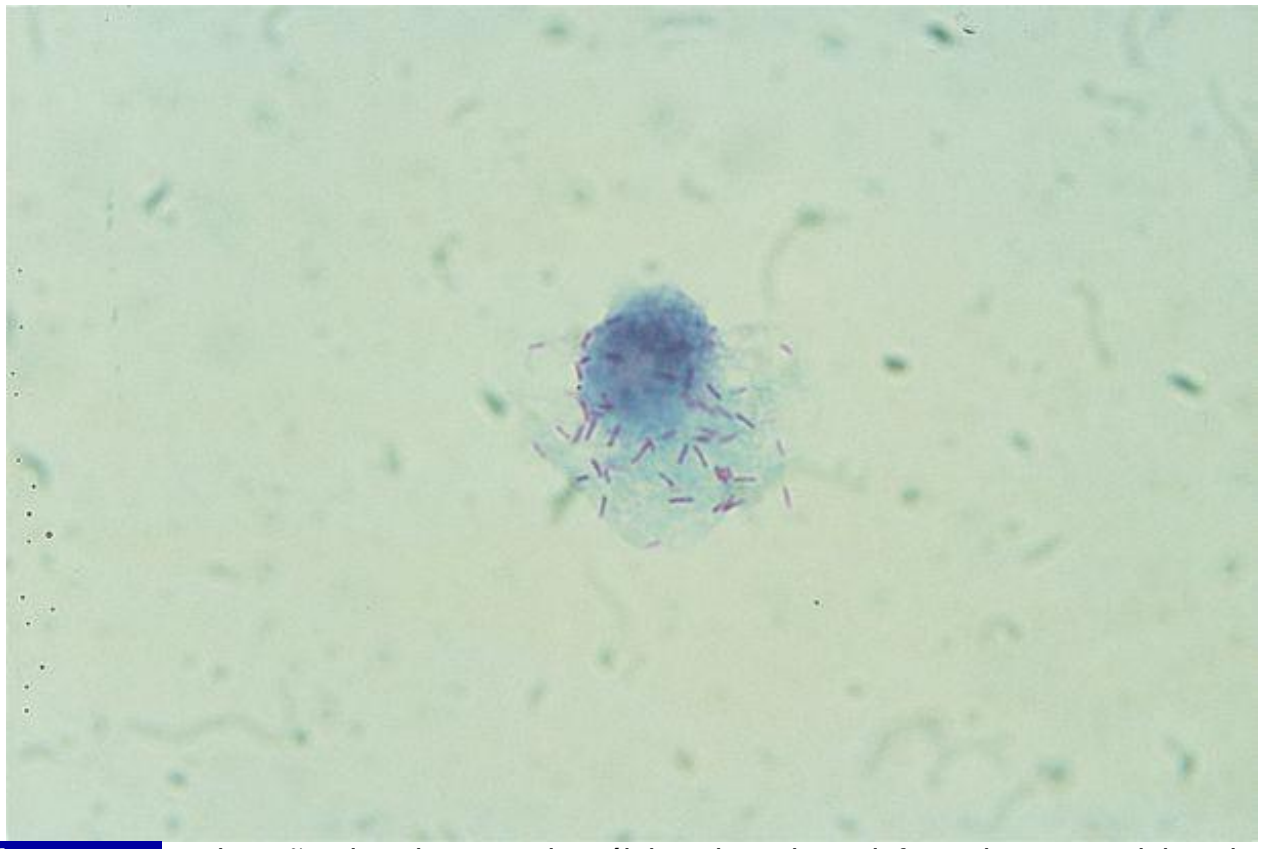


Figura 44-2 Coloração de Gimenez de células de cultura infectadas com *Rickettsia* do grupo da febre maculosa.

(De Cohen J, Powderly WG: Infectious Diseases, 2nd Ed. St. Louis, Mosby, 2004.)

As bactérias entram nas células eucarióticas aderindo a receptores de superfície da célula hospedeira estimulando a fagocitose. Após o englobamento, *Rickettsia* e *Orientia* precisam degradar a membrana do fagossoma através da produção de uma fosfolipase para serem liberados para o citoplasma, ou o organismo não sobreviverá. Na célula hospedeira a multiplicação por fissão binária é lenta (tempo de geração de 9 a 12 horas). *Orientia* e o grupo *Rickettsia* da febre maculosa crescem no citoplasma e no núcleo das células infectadas e são continuamente liberadas pelas células através de longas projeções citoplasmáticas. Em contraste, o grupo do tifo se acumula no citoplasma da célula até que as membranas celulares sofram lise, sinalizando a morte celular e a liberação das bactérias. Acredita-se que a diferença fundamental seja causada pela motilidade intracelular – o grupo da febre maculosa é capaz de polimerizar a actina da célula hospedeira, enquanto o grupo do tifo não tem o gene necessário. Uma vez liberadas da célula hospedeira, as bactérias se tornam instáveis e morrem rapidamente.

Os genomas de *R. prowazekii* foram sequenciados, fornecendo informações sobre a

natureza parasitária destas bactérias. As bactérias dependem da célula hospedeira para muitas funções: metabolismo de carboidratos, biossíntese de lipídios, síntese de nucleotídeos e síntese de aminoácidos. As bactérias são capazes de produzir adenosina trifosfato (ATP) por meio do ciclo do ácido tricarboxílico ou podem atuar como parasitas de energia, usando o ATP disponível da célula hospedeira. *R. prowazekii* tem uma enzima parasitária (translocase ATP/ADP) que facilita a transferência de ATP da célula hospedeira para a bactéria.

Rickettsia rickettsii (Quadro 44-2)

Patogênese e Imunidade

A riquétsia mais comum que causa doença humana nos Estados Unidos é a *R. rickettsii*, o agente responsável pela **febre maculosa das Montanhas Rochosas**. Não existem evidências de que a *R. rickettsii* produza toxinas ou que a resposta imunológica do hospedeiro seja responsável pelas manifestações patológicas da febre maculosa das Montanhas Rochosas. A proteína externa de membrana A (**OmpA,** ***o****uter* ***m****embrane* ***p****rotein* ***A***), expressa na superfície de *R. rickettsii*, é responsável pela capacidade de a bactéria aderir a células endoteliais. Após as bactérias penetrarem na célula, elas são liberadas do fagossoma, se multiplicam livremente tanto no citoplasma como no núcleo e se movem de uma célula para outra célula adjacente. As principais manifestações clínicas parecem resultar da replicação das bactérias nas células endoteliais, com subsequente dano às células e extravasamento dos vasos sanguíneos. A hipovolemia e a hipoproteinemia causadas pela perda de plasma para os tecidos podem levar à redução da perfusão e falência de vários órgãos. A resposta imunológica do hospedeiro à infecção é baseada na morte intracelular mediada por citocinas e na eliminação por linfócitos citotóxicos CD8. A resposta de anticorpos às proteínas externas da membrana da riquétsia também pode ser importante.

Quadro 44-2 Resumo: *Rickettsia rickettsii*

Biologia, Virulência e Doença

Pequenas bactérias de vida intracelular

Coram-se mal pela coloração de Gram; melhor com as colorações de Giemsa ou Gimenez

A replicação ocorre no citoplasma e no núcleo de células endoteliais, consequente a uma vasculite

O crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica

A febre maculosa das Montanhas Rochosas é caracterizada por febre alta, dor de cabeça severa, mialgias e erupções cutâneas; complicações são comuns em pacientes não tratados ou em que o diagnóstico é demorado

Epidemiologia

R. rickettsii é o patógeno mais comum nos Estados Unidos

Carrapatos duros (p. ex., carrapato do cão, carrapato das florestas) são os reservatórios e vetores primários

A transmissão requer um contato prolongado

Distribuição no hemisfério ocidental; nos Estados Unidos, a infecção é mais comum na região do Atlântico Sul

A doença é mais comum de abril a setembro

Diagnóstico

Sorologia (p. ex., teste de microimunofluorescência) é mais comumente usada para o diagnóstico

Tratamento, Prevenção e Controle

A doxiciclina é o fármaco de escolha

As pessoas devem evitar áreas infestadas de carrapatos, vestir roupas para proteção e usar inseticidas eficazes

As pessoas devem remover os carrapatos aderidos imediatamente

Atualmente, não há vacina disponível

Epidemiologia

Em 2006, quase 2.300 casos de febre maculosa das Montanhas Rochosas foram relatados nos Estados Unidos, a mais alta incidência já registrada (Fig. 44-3). Mais de 90% das infecções ocorreram **de abril a setembro**, correspondendo ao período de maior atividade dos carrapatos, com a maioria das infecções relatada na região do Atlântico Sul dos Estados Unidos. A distribuição da doença corresponde à distribuição do principal reservatório e vetor para a *R. rickettsii*, os **carrapatos duros** da família *Ixodidae*. Os dois carrapatos duros mais associados à doença nos Estados Unidos são o **carrapato do cão (*Dermacentor variabilis*)**, nos estados do sudeste e na costa oeste, e o **carrapato da floresta (*Dermacentor andersoni*)**, nos estados das Montanhas Rochosas e sudoeste do Canadá. Outros carrapatos vetores foram identificados nas Américas Central e do Sul. Para ser infectada, uma pessoa deve ser exposta ao carrapato por um período demorado (p. ex., 6 horas ou mais). As riquétsias dormentes avirulentas são ativadas pela alimentação com sangue quente e, em seguida, devem ser liberadas das glândulas salivares do carrapato para penetrar no sangue do hospedeiro humano.

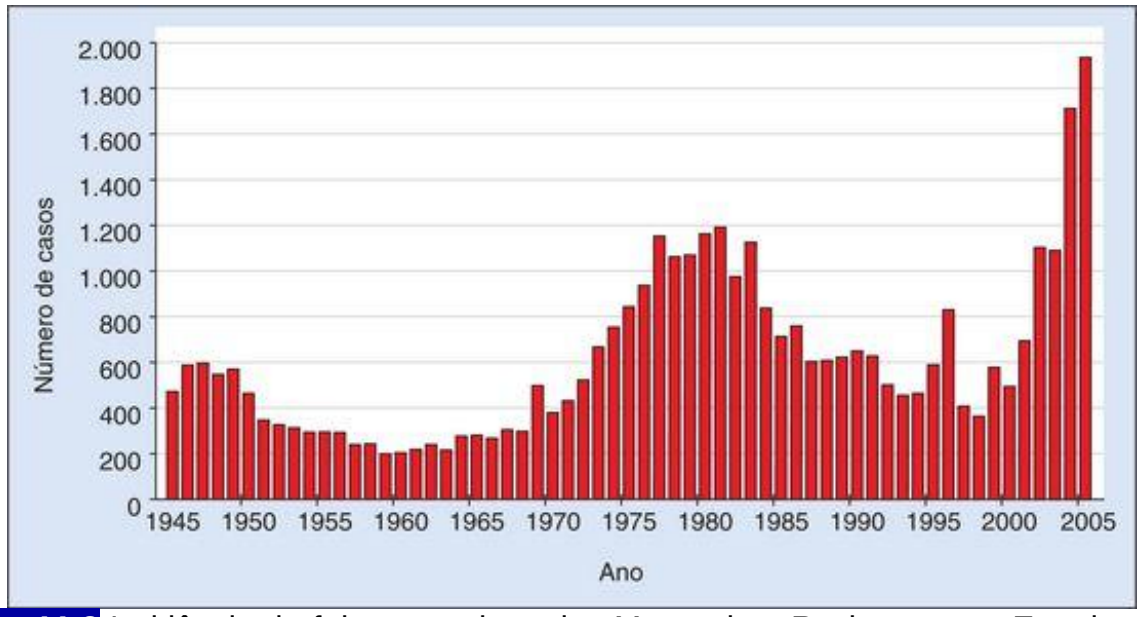


Figura 44-3 Incidência da febre maculosa das Montanhas Rochosas nos Estados Unidos de 1945 a 2005.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 44-1)

As doenças clinicamente sintomáticas se desenvolvem em 7 dias (variação, de 2 a 14 dias) após a picada do carrapato (Tab. 44-2). O paciente pode não ter lembrança da picada indolor do carrapato. O início da doença é anunciado por febre alta e dor de cabeça que pode estar associada a mal-estar, mialgias, náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia. Uma erupção cutânea macular se desenvolve em 90% dos pacientes depois de 3 dias, inicialmente nos pulsos, braços e tornozelos, e, em seguida, se espalha para o tronco. As palmas das mãos e plantas dos pés também podem estar envolvidas. A erupção cutânea pode evoluir para a forma maculosa ou petequial, que é o anúncio de uma doença mais severa. As complicações da febre maculosa das Montanhas Rochosas incluem manifestações neurológicas, insuficiência pulmonar e renal, e anormalidades cardíacas. O atraso no diagnóstico, seja por causa da apresentação clínica, não característica, ou porque o médico não reconhece a doença, está associado a um prognóstico pior. O índice de fatalidade na doença não tratada é de 10% a 44%.

Caso Clínico 44-1 Febre Maculosa das Montanhas Rochosas

Oster et al. (N Engl J Med 297:859-863, 1977) descreveram uma série de pacientes que adquiriram febre maculosa das Montanhas Rochosas após trabalhar com *R. rickettsii* no laboratório. Um dos pacientes, um técnico em veterinária de 21 anos de idade, se apresentou a um clínico com queixas de mialgia e tosse não produtiva. Ele foi tratado com penicilina e obteve alta. Nos dias que se seguiram, ele desenvolveu calafrios e dor de cabeça. Quando retornou ao hospital, apresentou temperatura de 40°C e erupção cutânea macular nos membros e tronco. O tratamento inicial foi com tetraciclina intramuscular, porém permaneceu febril, e a erupção cutânea evoluiu para petéquias no tronco, membros e plantas dos pés. Efusões pleurais bilaterais se desenvolveram, e tetraciclina IV foi iniciada. Ao longo das 2 semanas seguintes, as efusões curaram, e o paciente obteve uma lenta, porém tranquila, recuperação. Embora esse paciente não tenha trabalhado diretamente com *R. rickettsii*, ele visitou um laboratório que estava processando a bactéria. Esse paciente ilustra a apresentação característica da febre maculosa das Montanhas Rochosas: dor de cabeça, febre, mialgias e uma erupção cutânea que pode evoluir para uma erupção petequial ou maculosa.

Tabela 44-2 Curso Clínico de Doenças Humanas Causadas por *Rickettsia* e *Orientia*

Tabela 44-2 Curso Clínico de Doenças Humanas Causadas por *Rickettsia* e *Orientia*

Doença	Período Médio de Incubação (dias)	Apresentação Clínica	Erupção Cutânea	Escaras	Mortalidade sem Tratamento (%)
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	7	Início abrupto; febre, dor de cabeça, mal-estar, mialgias, náuseas, vômitos, dor abdominal	> 90%; macular; propagação centrípeta	Não	10-25
Riquetsiose vesicular	9-14	Início abrupto; febre, dor de cabeça, tremores, mialgias, fotofobia	100%; papulovesicular; generalizado	Sim	Baixo
Tifo epidêmico	8	Início abrupto; febre, dor de cabeça, tremores, mialgias, artralgia	20%-80%; macular. Propagação centrífuga	Não	20
Tifo endêmico	7-14	Início gradual; febre, dor de cabeça, mialgias, tosse	50%; erupção maculopapular no tronco	Não	Baixo
Tifo rural	10-12	Início abrupto; febre, dor de cabeça, mialgias	< 50%; erupção maculopapular; propagação centrífuga	Não	1-15

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Embora as riquétsias se corem mal com a coloração de Gram, elas podem ser coradas com as colorações de Giemsa ou de Gimenez. Anticorpos específicos marcados com fluoresceína também podem ser usados para corar as bactérias intracelulares em espécimes de tecido para biópsia. Esta detecção direta de antígenos riquetsianos é um método rápido e específico para confirmar o diagnóstico clínico de febre maculosa das Montanhas Rochosas, mas está disponível apenas em laboratórios de referência.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Ensaios de PCR e sequenciamento de genes são agora usados em muitos laboratórios de referência para o diagnóstico de doenças por riquétsias. Uma variedade de alvos gênicos é usada, incluindo sequências gênicas para proteínas expostas da superfície da membrana plasmática (OmpA, OmpB), lipoproteína de 17 kDa e citrato sintetase. Infelizmente, os ensaios convencionais de PCR são relativamente insensíveis quando amostras de sangue são utilizadas.

Cultura

Embora o isolamento das riquétsias em cultura de tecidos ou em ovos embrionados seja relativamente fácil, apenas laboratórios de referência com extensa experiência com riquétsias realizam de forma rotineira estas culturas. Se a cultura for tentada, preparações de camadas leucoplaquetárias obtidas de sangue ou espécimes de biópsias de pele devem ser processadas.

Detecção de Anticorpos

Embora o **teste de Weil-Felix** (que envolve a aglutinação diferencial de antígenos de *Proteus* que tem reação cruzada) tenha sido usado historicamente para o diagnóstico de infecções riquetsianas, ele não é mais recomendado, por ser insensível e inespecífico. Infelizmente, este teste é frequentemente usado em laboratórios com recursos limitados. O teste de sorologia que é considerado como o método de referência é o teste de microimunofluorescência (MIF). O teste detecta anticorpos contra as proteínas externas da membrana (espécie-específicas) e o antígeno LPS. Como o antígeno LPS é compartilhado entre as espécies de riquétsias, o imunoensaio Western blot deve ser realizado para definir a espécie. A sensibilidade e a especificidade da MIF são altas, com níveis diagnósticos de anticorpos geralmente detectados na segunda semana da doença. Testes imunoenzimáticos comerciais também estão disponíveis, mas geralmente têm uma sensibilidade e uma especificidade mais baixas quando comparadas à MIF.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha para o tratamento de todas as infecções riquetsianas é a **doxiciclina**. Embora as tetraciclinas sejam geralmente contraindicadas para mulheres grávidas e crianças pequenas, este antibiótico é recomendado para todos os pacientes com suspeita de doença riquetsiana, porque ele é o antibiótico mais eficaz, e a doença inadequadamente tratada está associada à morbidade e mortalidade altas. As fluoroquinolonas (p. ex., a ciprofloxacina) têm boa atividade *in vitro*, mas a experiência clínica é insuficiente para recomendar estes antibióticos como terapia principal. O cloranfenicol também tem atividade *in vitro* contra riquétsias, mas seu uso para o tratamento de infecções está associado a uma alta incidência de recidiva. O diagnóstico e a instituição de uma terapia apropriada imediatos usualmente resultam em um prognóstico satisfatório; infelizmente, este cenário pode não ocorrer se os principais sinais clínicos (p. ex., erupção cutânea) se desenvolverem mais tarde ou não se desenvolverem. Além disso, os achados sorológicos frequentemente não estão disponíveis até 2 ou mais semanas após o início da doença, também retardando o início do tratamento. Deste modo se recomenda que a terapia empírica com doxiciclina seja iniciada tão logo o diagnóstico seja considerado.

Não existe vacina para a febre maculosa das Montanhas Rochosas. Assim, evitar áreas infestadas com carrapatos, o uso de vestimentas para proteção e de repelentes contra insetos, bem como a imediata remoção dos carrapatos aderidos são as melhores medidas preventivas. É virtualmente impossível eliminar o carrapato reservatório, pois eles podem sobreviver por até 4 anos sem alimentação.

Rickettsia akari

R. akari, o agente responsável pela **riquetsiose vesicular**, é uma das poucas riquétsias no grupo da febre maculosa que tem distribuição **cosmopolita** e é transmitida por **ácaros** infectados. A doença confirmada por cultura tem sido relatada na Ucrânia, Croácia, Coreia e nos Estados Unidos, principalmente na área da cidade de Nova York. Um grupo de casos foi documentado na cidade de Nova York após o aparecimento de *Bacillus anthracis* em 2001, quando biópsias de escaras de residentes da cidade demonstraram conter *R. akari* e não *B. anthracis* (Caso Clínico 44-2). Baseado nesta experiência, é provável que a riquetsiose vesicular seja subdiagnosticada em áreas endêmicas.

Caso Clínico 44-2 Riquetsiose Vesicular na Cidade de Nova York

Koss et al. (Arch Dermatol 139: 1545–1552, 2003) descreveram 18 pacientes com riquetsiose vesicular diagnosticados no Centro Médico Presbiteriano de Columbia, na cidade de Nova York, em um período de 20 meses após o ataque de bioterrorismo com antraz no outono de 2001. Os pacientes se apresentaram no hospital porque tinham uma escara necrótica e foi considerado diagnóstico de antraz cutâneo. Os pacientes também apresentavam febre, dor de cabeça e uma erupção cutânea papulovesicular. Muitos pacientes também reclamavam de mialgias, garganta inflamada, artralgias e sintomas gastrointestinais. A coloração imuno-histoquímica de biópsias da escara e da pele confirmaram o diagnóstico de riquetsiose vesicular, e não de antraz cutâneo. Esses pacientes ilustram as dificuldades diagnósticas de reconhecer doenças incomuns, mesmo quando a apresentação clínica é característica.

Infecções com *R. akari* são mantidas na população de roedores através da picada de ectoparasitas de camundongos (p. ex., ácaros) e em ácaros através da transmissão transovariana. Seres humanos se tornam hospedeiros acidentais quando picados por ácaros infectados.

A infecção clínica com *R. akari* é bifásica. Inicialmente se desenvolve uma pápula no local onde o ácaro picou o hospedeiro. A pápula aparece aproximadamente 1 semana após a picada e progride rapidamente para uma ulceração, e, em seguida, para a **formação de uma escara**. Nesse período, as riquétsias se espalham sistemicamente. Após um período de incubação de 7 a 24 dias (média de 9 a 14 dias), a segunda fase da doença se desenvolve abruptamente, com **febre** alta, dor de cabeça severa, tremores, suores, mialgia e fotofobia. Uma **erupção cutânea** papulovesicular generalizada se forma dentro de 2 a 3 dias. A seguir é observada progressão da erupção, semelhante à catapora, com formação de vesículas logo cobertas por uma crosta. A presença da erupção cutânea distingue esta doença do antraz e, em um paciente com febre alta e presença de escara, deve ser levantado diagnóstico clínico de riquetsiose vesicular. Apesar da aparência da erupção cutânea disseminada, a riquetsiose vesicular é usualmente leve e descomplicada, e a cura completa é observada dentro de 2 a 3 semanas sem tratamento. A terapia específica com doxiciclina acelera o processo.

Rickettsia prowazekii (Quadro 44-3)

Epidemiologia

R. prowazekii, um dos dois membros do grupo do tifo das riquétsias, é o agente etiológico d o **tifo epidêmico** ou **transmitido por piolhos**. *Os seres humanos são o principal reservatório* desta doença, e o vetor é o **piolho do corpo humano**, *Pediculus humanus*. O tifo epidêmico ocorre entre pessoas que vivem em aglomeração e más condições sanitárias que favorecem a disseminação dos piolhos do corpo – condições como as que surgem durante guerras, escassez e desastres naturais. Os piolhos morrem de infecção dentro de 2 a 3 semanas, evitando a transmissão transovariana de *R. prowazekii*. A doença está presente nas Américas Central e do Sul, na África e menos comumente nos Estados Unidos.

Quadro 44-3 Resumo: *Rickettsia prowazekii*

Biologia, Virulência, e Doença

Pequenas bactérias de vida intracelular

Coram-se mal pela coloração de Gram; coram-se melhor com as colorações de Giemsa ou de Gimenez

Replicam no citoplasma de células endoteliais, com resultante vasculite

O crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica

O tifo epidêmico (tifo transmitido por piolhos) é caracterizado por febre alta, dor de cabeça severa e mialgias

O tifo recrudescente (doença de Brill-Zinsser) é uma forma mais leve da doença

Epidemiologia

Seres humanos são o principal reservatório, com transmissão de pessoa para pessoa pelo piolho vetor

Acredita-se que a doença esporádica seja disseminada através das pulgas dos esquilos para seres humanos

A doença recrudescente pode se desenvolver anos após a infecção inicial.

Pessoas em maior risco são as que vivem em aglomeração e baixas condições sanitárias

A doença é encontrada em todo o mundo, com a maioria das infecções nas Américas Central e do Sul e na África

A doença esporádica é vista no leste dos Estados Unidos

Diagnóstico

O teste de MIF é o teste de escolha

Tratamento, Prevenção e Controle

A doxiciclina é o fármaco de escolha

Controlada através de melhoria nas condições de vida e redução da população de piolhos através do uso de inseticidas

Uma vacina inativada encontra-se disponível para as populações de alto risco

A incidência da doença nos Estados Unidos é desconhecida, porque não é uma doença de notificação obrigatória ao departamento de saúde pública. A doença esporádica nos Estados Unidos está restrita principalmente nas áreas rurais dos estados do leste. Nesta área, **esquilos voadores**, assim como as pulgas e os piolhos dos esquilos, estão infectados com *R. prowazekii*. Os piolhos dos esquilos não se alimentam em seres humanos, mas as pulgas são menos discriminativas e podem ser responsáveis pela transmissão de *Rickettsia* de esquilos para seres humanos. Evidências epidemiológicas e sorológicas sustentam esta hipótese, mas esta transmissão não foi documentada.

O recrudescimento da doença com *R. prowazekii* (**doença de Brill-Zinsser**) pode ocorrer em pessoas anos após sua infecção inicial. Nos Estados Unidos estas pessoas são principalmente imigrantes do leste da Europa que foram expostos ao tifo epidêmico durante a II Guerra Mundial.

Doenças Clínicas

Em um estudo de tifo epidêmico na África, foi observado desenvolvimento da doença clínica em média de 8 dias após a exposição (variação de 2 a 30 dias). A maioria dos pacientes inicialmente tinha sintomas não específicos; em seguida, dentro de 1 a 3 dias, apresentaram **febre** alta, **dor de cabeça** severa e **mialgias**. Outros sintomas podem incluir pneumonia, artralgia e envolvimento neurológico (estupor, confusão e coma). Uma erupção cutânea petequial ou macular se desenvolve em 20% a 80% dos pacientes, mas a observação pode ser obscurecida em indivíduos intensamente pigmentados. A taxa de mortalidade na ausência de tratamento é de 20% a 30%, mas pode ser muito mais alta em populações com más condições de saúde e de nutrição, e sem um adequado suporte médico. Em pacientes com a doença descomplicada, a temperatura corporal retorna ao normal dentro de 2 semanas, mas a completa convalescença pode levar 3 meses ou mais. As riquétsias podem permanecer dormentes por anos e, então, se reativarem para causar o tifo epidêmico recrudescente ou doença de Brill-Zinsser. No momento em que os sintomas se desenvolvem, ocorre a bacteremia, e o paciente está potencialmente infeccioso para os piolhos. O curso desta forma da doença é geralmente mais leve e frequentemente não aparece erupção cutânea, tornando o diagnóstico mais difícil.

Diagnóstico Laboratorial

O teste de MIF é o método diagnóstico de escolha para documentar a doença por *R. prowazekii*.

Tratamento, Prevenção e Controle

As tetraciclinas são altamente eficazes no tratamento do tifo epidêmico; entretanto, o tratamento com antibióticos deve ser combinado com medidas efetivas de controle de piolhos para o gerenciamento de epidemias. Uma vacina para tifo, com os organismos inativados com formaldeído, está disponível, e seu uso é recomendado em populações de alto risco.

Rickettsia typhi

Epidemiologia

O **tifo endêmico** ou **tifo murino** é causado pela *R. typhi*. A doença se encontra distribuída por todo o mundo, principalmente em áreas quentes e úmidas. Nos Estados Unidos, 50 a 100 casos são relatados anualmente, a maioria nos estados do Golfo (especialmente o Texas) e no sul da Califórnia. A doença endêmica continua sendo relatada em pessoas que vivem nas áreas temperadas e costeiras subtropicais da África, Ásia, Austrália, Europa e América do Sul. Os **roedores** são o principal reservatório, e a **pulga do rato** (*Xenopsylla cheopis*) é o principal vetor. Entretanto, a **pulga do gato** (*Ctenocephalides felis*), que infesta gatos, gambás, guaxinins e cangambás, é considerada como um importante vetor para a doença nos Estados Unidos. A maioria dos casos ocorre durante os meses quentes.

Doença Clínica

O período de incubação da doença por *R. typhi* é de 7 a 14 dias. Os sintomas aparecem abruptamente, com febre, dor de cabeça severa, tremores, mialgias e náuseas, mais comumente. Uma erupção cutânea se desenvolve em aproximadamente metade dos pacientes infectados, quase sempre tardiamente. Ela é tipicamente restrita ao tórax e ao abdome. O curso da doença geralmente não é complicado, durando menos de 3 semanas, mesmo em pacientes não tratados.

Diagnóstico Laboratorial

Um teste de fluorescência indireta (IFA), específico para *R. typhi*, é usado para confirmar o diagnóstico de tifo murino. Titulações significativas são usualmente detectáveis 1 a 2 semanas após o início da doença.

Tratamento, Prevenção e Controle

As **tetraciclinas** são eficazes no tratamento do tifo murino, e os pacientes respondem prontamente a estes agentes. É difícil controlar ou prevenir o tifo endêmico, porque o reservatório e o vetor estão amplamente distribuídos. Os esforços devem ser direcionados para o controle do reservatório de roedores. Uma vacina eficaz não se encontra disponível.

Orientia tsutsugamushi

O. tsutsugamushi, antigamente classificada como *Rickettsia*, é o agente etiológico do **tifo rural**, uma doença transmitida para seres humanos por **ácaros** (bicho de pé, ácaros vermelhos). O reservatório é a população de ácaros, nos quais as bactérias são transmitidas por meio transovariano. A infecção também está presente na população de **roedores**, que serve como reservatório para as infecções de ácaros. Como os ácaros se alimentam apenas uma vez durante seu ciclo de vida, não se acredita que os roedores sejam um importante reservatório para a doença humana. O tifo rural está presente em pessoas que vivem na Ásia oriental, na Austrália, no Japão e em outras ilhas do Pacífico ocidental. Ele também pode ser importado para os Estados Unidos.

A doença por *O. tsutsugamushi* se desenvolve repentinamente após um período de incubação de 6 a 18 dias (média de 10 a 12 dias), com **dor de cabeça** severa, **febre** e **mialgias**. Uma erupção cutânea, com aspecto de macular a papular, se desenvolve no tronco e se espalha centrifugamente para os membros, em menos da metade dos pacientes. Linfadenopatia generalizada, esplenomegalia, complicações do sistema nervoso central e insuficiência cardíaca podem ocorrer. A febre em pacientes não tratados desaparece após 2 a 3 semanas, enquanto aqueles que recebem um tratamento apropriado com **doxiciclina** respondem prontamente. Não há vacina disponível, de modo que a doença é prevenida evitando a exposição a ácaros (*i.e.*, o uso de vestimentas protetoras e de repelentes para insetos).

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 24 anos de idade, que vive na Carolina do Norte, chegou ao departamento de emergência local com febre, artralgias, mialgias e mal-estar. Ele estava bem até 4 dias antes da admissão, quando desenvolveu uma febre que atingiu 40°C, tremores, dor de cabeça severa e dores musculares. O exame físico revelou um homem gravemente doente, com uma temperatura de 39,7°C, pulso de 110 batimentos/minuto, frequência respiratória de 28 respirações/minuto, pressão sanguínea de 100/60 mm Hg e uma erupção cutânea nos membros, incluindo palmas das mãos e plantas dos pés. O paciente se lembrou de que tinha sofrido numerosas picadas de carrapatos 10 dias antes do início dos sintomas. A febre maculosa das Montanhas Rochosas foi considerada no diagnóstico, confirmado por testes sorológicos para espécies de *Rickettsia*.

1. Que antibióticos podem ser usados para tratar esta infecção? Que antibióticos não devem ser usados?

1. Infecções por Rickettsias são tratadas com tetraciclinas (doxiciclina) ou fluoroquinolonas (ciprofloxacim). Ainda que cloranfenicol tenha atividade *in vitro*, uma grande incidência de recaídas é associada a este antibiótico. Antibióticos beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenens), aminoglicosídeos e sulfametoxazol-trimetoprim são inativos.

2. Que riquétsias estão associadas aos seguintes vetores: carrapatos, piolhos, ácaros e pulgas?

2. Carrapatos são os vetores para as seguintes espécies e suas doenças: *R. rickettsii*, febre maculosa das montanhas Rochosas; *R. africae*, febre africana da mordida do carrapato; *R. australis*, tifo australiano por carrapato; *R. conorii*, febre maculosa do Mediterrâneo; *R. japonica*, febre maculosa japonesa e *R. sibirica*, tifo siberiano. Somente *R. rickettsii* é comumente encontrada nos EUA. Piolhos são associados com *R. prowazekii* (tifo endêmico);

ácaros com *R. akari* (rickettsiose vesicular) e *Orientia tsutsugamushi* (tifo rural) e moscas são associadas com R. typhi (tifo murino).

3. Por que o uso da coloração de Gram é inadequado para o diagnóstico de infecções por riquétsias?

3. Rickettsias são pequenas e coram fracamente com Gram, porque sua camada de peptidoglicano é mínima.

Bibliografia

Archibald L, Sexton D. Long-term sequelae of Rocky Mountain spotted fever. *Clin Infect Dis*. 1995;20:1122-1125.

Dumler JS, Walker D. Rocky Mountain spotted fever—changing ecology and persisting virulence. *N Engl J Med*. 2005;353:551-553.

Koss T. et al: Increased detection of rickettsialpox in a New York City hospital following the anthrax outbreak of 2001. *Arch Dermatol*. 2003;139:1545-1552.

Paddock C. et al: Isolation of Rickettsia akari from eschars of patients with rickettsialpox. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75:732-738.

Parola P, Paddock C, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: Emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:719-756.

Raoult D, Dumler JS. Rickettsia and Orientia. Borriello SP, Murray P, Funke G, editors. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. London: Holder-Arnold. 2005;10th ed.:2026-2047.

Richards A. Rickettsial vaccines: The old and the new. *Expert Rev Vaccines*. 2004;3:541-555.

Rolain J. et al: In vitro susceptibilities of 27 rickettsiae to 13 antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:1537-1541.

Spach D. et al: Tick-borne diseases in the United States. *N Engl J Med*. 1993;329:936-947.

Walker Walker D, Bouyer D: Rickettsia and Orientia. In Murray P, Baron E, Jorgensen J, et al (eds): Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington, DC, ASM Press, pp 1036–1045.

45 Ehrlichia, Anaplasma e Coxiella

Todas as bactérias transmitidas por carrapatos da família *Anaplasmatacea* estão agrupadas em dois gêneros: *Ehrlichia* e *Anaplasma* (Quadro 45-1). São bactérias **intracelulares obrigatórias** que **sobrevivem em vacúolos citoplasmáticos** de **células hematopoiéticas** de mamíferos. *Coxiella* é um patógeno intracelular que foi inicialmente considerado intimamente relacionado à *Rickettsia* e *Ehrlichia*. Embora seja reconhecido que *Coxiella* não é membro das famílias *Rickettsiaceae* ou *Anaplasmataceae*, este grupo também será discutido neste capítulo.

Quadro 45-1 *Ehrlichia, Anaplasma* e *Coxiella*

Organismo	Etimologia
Ehrlichia	Recebeu esse nome em homenagem ao microbiologista alemão Paul *Ehrlich*
E. chaffeensis	Isolada pela primeira vez em um reservista do exército em Fort *Chaffee*, Arkansas
E. ewingii	Recebeu esse nome em homenagem ao microbiologista americano William *Ewing*
Anaplasma	*an*, "sem"; *plasma*, qualquer coisa "formada" (algo sem forma, se referindo às inclusões citoplasmáticas)
A. phagocytophilum	*phago*, "comer"; *kytos*, um "vaso" ou "envoltório"; *philein*, "afinidade" (encontrado em fagócitos)
Coxiella burnetti	Recebeu esse nome em homenagem a Harold *Cox* e a F. M. *Burnet*, que isolaram a bactéria de carrapatos em Montana e de pacientes na Austrália, respectivamente

Ehrlichia e Anaplasma (Quadro 45-2)

Fisiologia e Estrutura

Os gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma* consistem de bactérias intracelulares que parasitam granulócitos, monócitos, eritrócitos e plaquetas. Diferentemente de *Rickettsia* e *Orientia, Ehrlichia* e *Anaplasma* permanecem no vacúolo fagocítico após a entrada na célula hospedeira. A fusão com lisossomas é prevenida pela interrupção da expressão dos receptores apropriados na superfície do vacúolo fagocítico. Deste modo, as bactérias podem se multiplicar por fissão binária no fagossoma sem exposição às enzimas hidrolíticas lisossomais. Existem duas formas morfológicas de bactérias: pequenos **corpúsculos elementares** (0,2 a 0,4μm) e **corpúsculos reticulados** maiores (0,8 a 1,5μm). Poucos dias após a célula ter sido infectada, os corpúsculos elementares em replicação se organizam em massas envolvidas por membrana, chamadas de **mórulas** (Fig. 45-1). A infecção progressiva leva à lise da célula infectada, liberação de bactérias e à subsequente infecção de novas células. A detecção das mórulas quando as células são coradas por **colorações de Giemsa** ou **de Wright** é um teste diagnóstico rápido e específico; entretanto, relativamente poucas células infectadas podem ser observadas, de modo que o teste negativo não é útil. A análise do genoma revelou que estas bactérias não apresentam os genes para a síntese de peptidoglicano da parede celular, nem genes para a via glicolítica.

Quadro 45-2 Resumo de *Ehrlichia* e *Anaplasma*

Biologia, Virulência e Doença

Pequenas bactérias intracelulares que se coram mal com coloração Gram; coram-se melhor com colorações de Giemsa ou Gimenez

Replicam-se nos fagossomas das células infectadas

O crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica

Capazes de impedir a fusão do fagossoma com os lisossomas de monócito ou granulócitos

Iniciam a resposta inflamatória que contribui para a patologia

As doenças são a erliquiose monocítica humana e a anaplasmose humana (anteriormente chamada de *erliquiose granulocítica humana*)

Epidemiologia

Dependendo da espécie de *Ehrlichia*, importantes reservatórios são o veado de cauda branca, o camundongo de patas brancas, tâmias, ratos silvestres e caninos

Os carrapatos são importantes vetores, mas a transmissão transovariana é ineficaz

A doença nos Estados Unidos é mais comum nos estados do sudeste, meio-Atlântico, meio-oeste e centro-sul

As pessoas com maior risco são as expostas a carrapatos nas áreas endêmicas

A doença é mais comum de abril a outubro

Diagnóstico

A microscopia é de valor limitado

A sorologia e os testes de sonda de DNA são os métodos de escolha

Tratamento, Prevenção e Controle

A doxiciclina é o fármaco de escolha; a rifampina é uma alternativa aceitável

A prevenção envolve evitar as áreas infestadas, usar vestimentas de proteção e repelentes de insetos, bem como a imediata remoção dos carrapatos aderidos

Vacinas não estão disponíveis

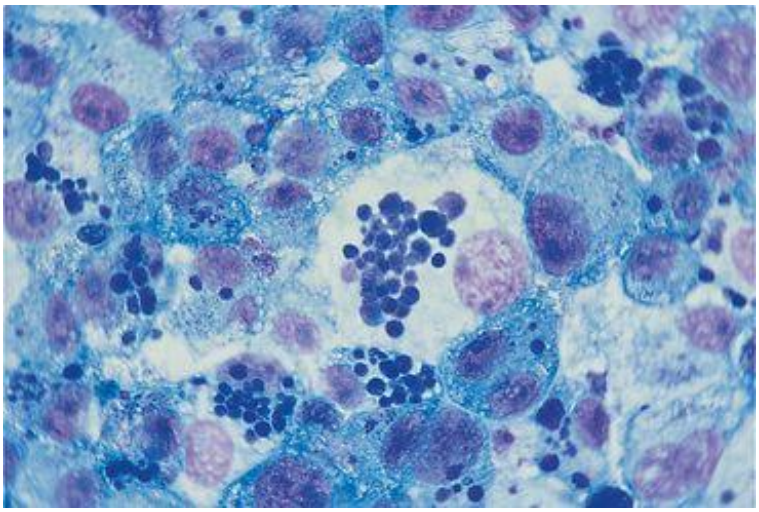


Figura 45-1 Múltiplas mórulas de *Ehrlichia canis* em cultura de células DH82.

(De Cohen J, Powderly WG: Infectious Diseases, 2nd Ed. St. Louis, Mosby, 2004.)

A estrutura da parede celular de *Ehrlichia* e de *Anaplasma* é similar à das bactérias Gram negativas; no entanto, as bactérias não apresentam os genes para a síntese de peptidoglicano ou de lipopolissacarídeo (LPS). Além disso, muitos dos genes da via glicolítica também estão ausentes. Vários antígenos proteicos são compartilhados entre espécies nestes gêneros, como com espécies de outros gêneros. Por esta razão, anticorpos que exibem reação cruzada são comumente observados em testes sorológicos.

Patogênese e Imunidade

A localização intracelular dos organismos os protege da resposta por anticorpos do hospedeiro. Entretanto, acredita-se que a estimulação bacteriana da produção de citocinas pró-inflamatórias desempenhe um importante papel na ativação de macrófagos que atuam diretamente sobre células infectadas ou sobre bactérias opsonizadas por anticorpos durante sua fase extracelular.

Epidemiologia (Tab. 45-1)

A primeira infecção humana por estes organismos nos Estados Unidos foi relatada em 1986. *Ehrlichia canis* foi inicialmente considerada como responsável pela doença denominada como **erliquiose monocítica humana**; entretanto, uma nova espécie, *Ehrlichia chaffeensis*, foi reconhecida como o agente etiológico. Entre 1987 e 2005, mais de 1.500 casos foram relatados. A prevalência desta doença é subestimada porque estudos sorológicos mostraram que anticorpos para *E. chaffeensis* são pelo menos tão comuns quanto anticorpos para *Rickettsia rickettsii*, que têm uma distribuição geográfica similar. A doença nos Estados Unidos é encontrada predominantemente nos estados do sudeste, do meio-Atlântico, do meio-oeste e do centro-sul (p. ex., Arkansas, Geórgia, Maryland, Missouri, Carolina do Norte e Carolina do Sul, Oklahoma e Texas). Esta área corresponde à distribuição geográfica de *Amblyomma americanum* (carrapato estrela), o principal vetor responsável pela transmissão do organismo e do veado de cauda branca, um importante reservatório para *E. chaffeensis*. Outros animais que podem servir como hospedeiros incluem cães domésticos, raposas, coiotes e lobos.

Tabela 45-1 Epidemiologia de *Ehrlichia* e *Anaplasma*

Tabela 45-1. Epidemiologia de *Ehrlichia* e *Anaplasma*

	E. chaffeensis	*E. ewingii*	*A. phagocytophilum*
Distribuição geográfica	América do Norte	América do Norte	Américas do Norte e do Sul, Europa, Ásia
Hospedeiro reservatório	Veado, cães e outros animais do gênero *Canis*	Cães	Pequenos roedores, veados, ovelhas
Vetor (carrapatos)	*Amblyomma americanum*	*Amblyomma americanum*	Espécies do gênero *Ixodes*
Hospedeiro com sintomas clínicos	Seres humanos, cães	Cães, seres humanos	Ruminantes, cavalos, cães, seres humanos
Célula infectada no hospedeiro	Monócitos, macrófagos	Neutrófilos	Neutrófilos, eosinófilos, basófilos

A **erliquiose granulocítica** é causada por duas bactérias: *Ehrlichia ewingii* e *Anaplasma phagocytophilum*. *E. ewingii* tem uma distribuição geográfica similar a *E. chaffeensis* porque elas compartilham o mesmo carrapato vetor (*Amblyomma americanum*) . A frequência de associação com a doença humana é desconhecida porque a resposta sorológica a este organismo dá uma reação cruzada com anticorpos contra *E. chaffeensis*. A doença causada por *A. phagocytophilum* é encontrada principalmente nos estados do norte e do meio-oeste central e nos estados do nordeste e do Atlântico central. Os reservatórios são pequenos mamíferos (p. ex., camundongo de patas brancas, tâmias, ratos silvestres), e os vetores são carrapatos do gênero *Ixodes*. Mais de 90% de todas as doenças causadas por *Ehrlichia* e *Anaplasma* nos Estados Unidos ocorrem entre o meio de abril e o final de outubro.

A transmissão transovariana de *Ehrlichia* e *Anaplasma* não ocorre em carrapatos (em contraste com *Rickettsia* e *Orientia*), de modo que as bactérias devem ser mantidas nos hospedeiros vertebrados que servem como reservatórios. Os carrapatos se tornam infectados quando um estágio imaturo (p. ex., larva, ninfa) ingere sangue de um hospedeiro infectado e em seguida transmite as bactérias para outro mamífero hospedeiro (p. ex., ser humano) durante a próxima refeição de sangue. Os seres humanos são hospedeiros acidentais, e, assim, a transmissão termina nesse estágio.

Erliquiose Monocítica Humana

A **erliquiose monocítica humana** é causada por *E. chaffeensis*, após a infecção de monócitos do sangue e fagócitos mononucleares em tecidos e órgãos. Aproximadamente 1 a 3 semanas após a picada de carrapato, os pacientes desenvolvem uma doença semelhante a uma gripe, com febre alta, dor de cabeça, mal-estar e mialgias. Uma erupção cutânea de aparecimento tardio se desenvolve em 30% a 40% dos pacientes (mais comum em crianças do que em adultos). Leucopenia, trombocitopenia e elevação das transaminases séricas ocorrem na maioria dos pacientes e podem variar de leves a graves. Embora a mortalidade seja baixa (2% a 3%), mais da metade dos pacientes infectados requer hospitalização e passa por um prolongado período de recuperação. A patologia desta infecção é desproporcional ao número de células infectadas ou à carga microbiana presente no tecido. Acredita-se que *E. chaffeensis* perturbe a função dos fagócitos mononucleares e a regulação da resposta inflamatória. Dessa forma, a resposta imunológica que elimina o patógeno também produz grande parte do dano.

Erliquiose Granulocítica Canina

E. ewingii causa principalmente doença em caninos, com os seres humanos sendo os hospedeiros acidentais. Como existe uma reatividade sorológica cruzada entre *E. ewingii* e *E. chaffeensis*, a incidência de infecções por este organismo provavelmente é subestimada. A apresentação clínica é semelhante a *E. chaffeensis*, com febre, dores de cabeça e mialgias. Leucopenia, trombocitopenia e transaminases séricas elevadas também são observadas.

Anaplasmose Humana (Caso Clínico 45-1)

A anaplasmose humana, anteriormente chamada de *erliquiose granulocítica humana*, é causada por *A. phagocytophilum*. Os granulócitos (p. ex., neutrófilos, eosinófilos e basófilos) são primariamente infectados. A doença aparece entre 5 e 11 dias após a exposição, como uma doença semelhante a uma gripe, com febre alta, dor de cabeça, mal-estar e mialgias; é observada erupção cutânea em menos de 10% dos pacientes. Leucopenia, trombocitopenia e elevação das transaminases séricas são observadas na maioria dos pacientes. Mais da metade dos pacientes infectados requer hospitalização e complicações graves são comuns. Apesar da severidade potencial desta doença, a mortalidade é inferior a 1%. Da mesma forma que com infecções por *E. chaffeensis*, a patologia desta doença parece relacionada à ativação de macrófagos.

Caso Clínico 45-1 Anaplasmose Humana Clínica

Heller et al. (N Engl J Med 352:1358-1364, 2005) descreveram um homem de 73 anos de idade que se apresentou em seu hospital com febre, fraqueza e mialgia nas pernas. Seis dias antes de sua admissão, tinha viajado para a Carolina do Sul e, 3 dias depois, desenvolveu intensas dores nas pernas, febre alta e fraqueza generalizada. Na admissão, se apresentava febril, taquicárdico e hipertenso; o fígado e o baço não puderam ser palpados, e não foi observada nenhuma erupção cutânea. Culturas para bactérias, fungos e vírus foram negativas. Um esfregaço de sangue periférico mostrou raras inclusões citoplasmáticas nos granulócitos, sugestivas de mórulas. As análises do PCR de amostras de sangue coletadas no segundo e terceiro dias de hospitalização foram positivas para o DNA de *A. phagocytophilum*,

confirmando o diagnóstico de anaplasmose. O paciente foi tratado de maneira bem-sucedida com um curso de 14 dias de doxiciclina, embora fraqueza muscular residual e dor residual persistissem. O soro coletado durante o período de convalescença foi positivo para *Anaplasma*. É importante salientar que o paciente não tinha lembrança de uma picada de carrapato durante sua viagem à Carolina do Sul, o que é condizente com a observação de que os estágios precoces do carrapato, ou seja, as larvas e ninfas estão mais comumente associados à doença humana.

Diagnóstico Laboratorial

A microscopia é de valor limitado para o diagnóstico de infecções. *Ehrlichia* e *Anaplasma* se coram mal com a coloração de Gram. Preparações de sangue periférico coradas por Giemsa devem ser realizadas, porque a detecção de organismos intracelulares **(mórulas)** tem valor diagnóstico; entretanto, as mórulas são detectadas em menos de 10% dos pacientes com erliquiose monocítica e em 20% a 80% dos com erliquiose granulocítica e anaplasmose. Da mesma forma, embora *Ehrlichia* seja cultivada *in vitro* em linhagens celulares estabelecidas, este procedimento não é realizado na maioria dos laboratórios clínicos. Os métodos mais comuns para confirmar o diagnóstico clínico de erliquiose são testes de amplificação de ácido desoxirribonucleico (DNA) e sorologia. Testes espécie-específicos de amplificação de DNA estão disponíveis em alguns laboratórios de referência e podem proporcionar um teste diagnóstico sensível e específico para a doença aguda. Um aumento na titulação de anticorpos é tipicamente observado de 3 a 6 semanas após a apresentação inicial, de modo que são principalmente confirmatórios. *E. chaffeensis* e *E. ewingii* estão intimamente relacionadas e não podem ser diferenciadas por sorologia. A especificidade dos testes sorológicos é comprometida por reações cruzadas com organismos responsáveis pela febre maculosa das Montanhas Rochosas, febre Q, doença de Lyme, brucelose e infecções pelo vírus Epstein-Barr.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com suspeita de erliquiose devem ser tratados com **doxiciclina**. A terapia não deve ser retardada para esperar pela confirmação laboratorial da doença. A rifampicina tem sido usada para tratar pacientes incapazes de tolerar a doxiciclina. Tanto a doxiciclina como a rifampicina são bactericidas *in vitro*. As fluoroquinolonas são bacteriostáticas *in vitro*, e tem sido detectada resistência em algumas espécies de *Ehrlichia*, de modo que o uso destes antimicrobianos é contraindicado. Penicilinas, cefalosporinas, cloranfenicol, aminoglicosídeos e macrolídeos são ineficazes. A infecção é prevenida evitando áreas infestadas com carrapatos, usando vestimentas de proteção e repelentes para insetos. Os carrapatos aderidos devem ser removidos imediatamente. Vacinas não estão disponíveis.

Coxiella burnetti (Quadro 45-3)

Coxiella burnetti foi originalmente classificada com *Rickettsia* porque as bactérias Gram negativas se coram fracamente com a coloração de Gram, **crescem no interior** de células eucarióticas e estão associadas a artrópodes (p. ex., **carrapatos**). Entretanto, se reconhece agora que estas bactérias não estão relacionadas à *Rickettsia*, mas à *Legionella*. A doença causada por *Coxiella burnetti* é a **febre Q** (da palavra inglesa ***q****uery*, que significa questão).

Quadro 45-3 Resumo de *Coxiella*

Biologia, Virulência e Doença

Pequenas bactérias intracelulares que se coram mal com a coloração de Gram; coram-se melhor com colorações de Giemsa ou Gimenez

Se replicam nos fagolisossomas das células infectadas

Capazes de realizar variação de fase dos antígenos lipopolissacarídicos da fase I (infecciosa) e da fase II

O crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica

Capazes de se replicar no ambiente ácido dos fagossomas fundidos com lisossomas.

As formas da fase I estão protegidas da interação com anticorpos por proteínas da superfície bacteriana

A forma extracelular é extremamente estável; pode sobreviver na natureza por período prolongado

A maioria das infecções é assintomática; a apresentação aguda mais comum é uma síndrome inespecífica, semelhante a uma gripe; <5% desenvolvem doença aguda significativa (pneumonia, hepatite, pericardite, febre)

As doenças crônicas incluem endocardite, hepatite, doença pulmonar e infecção em mulheres grávidas

Epidemiologia

Muitos reservatórios, incluindo mamíferos, aves e carrapatos

A maioria das infecções humanas está associada ao contato com gado, ovelhas, cabras, cães e gatos infectados

A maioria das doenças é adquirida através de inalação; talvez a partir do consumo de leite contaminado; os carrapatos não são um importante vetor para a doença humana

Distribuição por todo o mundo

Sem incidência sazonal

Diagnóstico

A detecção da resposta por anticorpos para antígenos das fases I e II é o teste de escolha

Tratamento, Prevenção e Controle

As tetraciclinas são os fármacos de escolha para infecções agudas; a rifampina ou a hidroxicloroquina combinada à doxiciclina é usada para tratar infecções crônicas

Vacinas para antígenos da fase I são protetoras e seguras, se administradas em dose única antes que o animal ou ser humano tenham sido expostos à *Coxiella*; não disponível nos Estados Unidos para animais ou seres humanos

Fisiologia e Estrutura

Duas formas estruturais de *C. burnetti* são reconhecidas: **variantes celulares pequenas** (**SCV, *s*mall *c*ell *v*ariants**) que são extremamente resistentes ao estresse ambiental (p. ex., calor, dessecação, agentes químicos) e **variantes celulares grandes** (**LCV, *l*arge *c*ell *v*ariants**) que se multiplicam nos **monócitos** ou **macrófagos** do hospedeiro. Sob exposição à *C. burnetti* do ambiente, as SCV são fagocitadas, reorganizadas dentro das LCV, seguido da fusão do fagossoma com o lisossoma. No ambiente ácido do fagolisossoma, as LCV se replicam. Em algum ponto do ciclo de replicação, as LCV se reorganizam em SCV, que são liberadas da célula infectada podendo passar para o ambiente e permanecer infecciosas por meses a anos.

Patogênese e Imunidade

Uma importante característica das infecções por *Coxiella* é a capacidade de realizar **variação antigênica** na expressão do antígeno LPS da parede celular. A forma altamente infecciosa das bactérias apresenta LPS com um carboidrato complexo (**antígeno da fase I**) que bloqueia a interação de anticorpos com as proteínas da superfície. Após o cultivo da bactéria, o gene do antígeno da fase I sofre uma mutação de deleção, produzindo o **antígeno da fase II**. Esta alteração antigênica expõe as proteínas de superfície aos anticorpos. A resposta dos anticorpos a estes antígenos é um marcador útil para doenças crônicas e agudas. A doença aguda é caracterizada por anticorpos contra o antígeno da fase II exposto, enquanto altas titulações de anticorpos contra antígenos das fases I e II são detectadas em pacientes com infecções crônicas. A eliminação de *C. burnetti* requer a produção específica de anticorpos e imunidade dependente de células T. Desta forma, pacientes imunocomprometidos são mais suscetíveis a infecções persistentes.

Epidemiologia (Tab. 45-1)

C. burnetti é extremamente estável em condições ambientais severas e *pode sobreviver no solo e no leite por meses a anos*. A gama de hospedeiros para *C. burnetti* é vasta, com infecções encontradas em mamíferos, aves e numerosos gêneros de carrapatos. Animais de fazenda, como ovelhas, bovinos e cabras, como gatos, cães e coelhos recentemente infectados são os principais reservatórios para a doença humana. Carrapatos são um importante vetor para a doença em animais, mas não em seres humanos. As bactérias podem atingir altas concentrações na placenta de bovinos infectados. Placentas secas deixadas no solo após o parto, fezes, urina, bem como fezes de carrapatos podem contaminar o solo, que, por sua vez, serve como foco para a infecção, caso as bactérias se tornem veiculadas pelo ar e forem inaladas. As infecções humanas ocorrem após a inalação de partículas transmitidas pelo ar a partir de uma **fonte ambiental contaminada** ou, menos comumente, após a ingestão de **leite não pasteurizado** contaminado ou outros produtos lácteos.

A febre Q tem distribuição mundial. Uma quantidade relativamente pequena de casos é relatada anualmente nos Estados Unidos (de 21 em 2000 a 169 em 2006); entretanto, este quadro é certamente uma subestimativa da real prevalência da doença. A infecção nos Estados Unidos é comum no gado, mas doença sintomática no gado é rara. A exposição humana, particularmente para fazendeiros, veterinários e manipuladores de alimentos, é frequente, e estudos experimentais têm mostrado que a dose infectante de *C. burnetti* é pequena. Assim, a maioria das infecções humanas é assintomática ou leve. Isto é confirmado por estudos sorológicos, que mostram que mais da metade de todos os pacientes com anticorpos detectáveis não tem história da doença. As infecções também podem não ser diagnosticadas, pois os testes diagnósticos para *C. burnetti* não são frequentemente considerados nos pacientes.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 45-2)

A maioria dos indivíduos expostos a *C. burnetti* tem uma **infecção assintomática**, e a maioria das infecções sintomáticas é leve, se apresentando com **sintomas inespecíficos, semelhante aos de uma gripe**. Menos de 5% dos indivíduos afetados agudamente desenvolvem sintomas suficientemente graves para necessitar de hospitalização, com **pneumonia, hepatite** ou **febres** isoladas, sendo as apresentações mais comuns. Sob o ponto de vista histológico, tipicamente são observados granulomas difusos nos órgãos envolvidos. A febre Q crônica pode se desenvolver em meses a anos após a exposição inicial e ocorre quase exclusivamente em pacientes com condições predisponentes, com doença cardíaca valvular ou imunossupressão. A **endocardite subaguda** é a apresentação mais comum e pode ser difícil diagnosticá-la devido à ausência de sinais e sintomas específicos. Entretanto, a febre Q crônica é uma doença séria, com uma taxa de mortalidade que se aproxima de 65% nos pacientes não tratados.

Caso Clínico 45-2 Endocardite por *Coxiella burnetti*

Karakousis et al. (J Clin Microbiol 44:2283-2287, 2006) descreveram um homem de 31 anos de idade da Virgínia Ocidental que desenvolveu endocardite crônica causada por *C. burnetti*. No momento em que o paciente foi admitido no hospital, ele descreveu uma história de 11 meses com febre, suores noturnos, tosse paroxística, fadiga e perda de peso. Tinha recebido vários tratamentos com antibióticos para bronquite, sem melhora. Sua história médica passada era significativa para doença cardíaca congênita, com colocação de um *shunt* quando criança. Ele vivia em uma fazenda e participava do parto de seus bezerros. O exame cardíaco à admissão revelou um murmúrio; não foram observados hepatoesplenomegalia ou estigmas periféricos de endocardite, mas as enzimas hepáticas estavam elevadas. Todas as culturas sanguíneas para bactérias e fungos foram negativas; entretanto, a sorologia para anticorpos das fases I e II de *Coxiella* estava marcantemente elevada. O tratamento com doxiciclina e rifampina foi iniciado, e o paciente se recuperou rapidamente. Embora tivesse sido recomendado tratamento prolongado, o paciente não cumpriu e se tornava rapidamente sintomático cada vez que interrompia um ou ambos antibióticos. Ele também se recusava a tomar hidroxicloroquina por causa do temor com a toxicidade para a retina. Este paciente exemplifica o risco de pacientes com doença cardíaca prévia e as dificuldades no tratamento desta infecção.

Diagnóstico Laboratorial

No momento, a febre Q pode ser diagnosticada por cultura (não comumente realizada), sorologia, ou pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Atualmente, a **sorologia** é o teste diagnóstico mais comumente usado. Conforme previamente mencionado, *C. burnetti* sofre uma variação de fases, caracterizada pelo desenvolvimento de antígenos das fases I e II. Os antígenos da fase I são apenas fracamente antigênicos. Uma variedade de métodos é usada para medir a produção de anticorpos: os testes de microaglutinação, o teste de imunofluorescência indireta (IFA) e o enzima imunoensaio (ELISA). O IFA é o teste de escolha, embora ELISA seja usado em muitos laboratórios e pareça ser bastante sensível. Reações cruzadas ocorrem com *Bartonella* (que pode causar uma doença similar), de modo que todos os testes sorológicos devem incluir um exame para ambos os organismos. Na febre Q aguda, os anticorpos ou imunoglobulinas M (IgM) e G (IgG) são desenvolvidos principalmente contra os **antígenos da fase II**. Um diagnóstico de febre Q crônica é confirmado pela demonstração de anticorpos contra **antígenos das fases I e II**, com as titulações para o antígeno da fase I tipicamente mais altas. Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, como a PCR, têm sido desenvolvidas em laboratórios de referência e geralmente não estão disponíveis para o diagnóstico de rotina. Embora os testes sejam sensíveis quando amostras de tecidos são examinadas, a sensibilidade é baixa com o soro. Testes baseados em PCR não são necessários para o diagnóstico de infecções crônicas por *C. burnetti*, porque estes pacientes caracteristicamente têm altos níveis de anticorpos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os testes de suscetibilidade *in vitro* não têm se mostrado úteis para predizer a eficácia clínica. Por esta razão, o tratamento de infecções agudas e crônicas por *C. burnetti* é orientado pela experiência clínica. Atualmente, recomenda-se que as infecções agudas sejam tratadas com uma tetraciclina (p. ex., **doxiciclina**). A doença crônica deve ser tratada por um período prolongado com uma combinação bactericida de antimicrobiano, doxiciclina e agente alcalinizante hidroxicloroquina. A doxiciclina e a rifampicina, ou a doxiciclina combinada com uma fluoroquinolona também podem ser usadas, embora o período de tratamento deva ser de pelo menos 3 anos. Macrolídeos, aminoglicosídeos e antibióticos betalactâmicos não são eficazes.

Vacinas inativadas com células inteiras e vacinas com antígenos parcialmente purificados para a febre Q foram desenvolvidas, e as vacinas preparadas a partir de organismos na fase I têm se mostrado a melhor proteção. A vacinação de rebanhos de animais parece eficiente, a menos que os animais tenham sido previamente infectados. A vacinação não erradica a *Coxiella* em animais infectados nem diminui o portador assintomático. Da mesma forma, a vacinação em seres humanos com vacinas da fase I é protetora, se o indivíduo não estiver infectado. A vacinação de indivíduos previamente infectados é contraindicada porque a estimulação imunológica pode levar a um aumento nas reações adversas. Por esta razão, uma vacina de dose única sem imunizações de reforço é recomendada. Vacinas comerciais para seres humanos ou para o gado não estão disponíveis neste momento nos Estados Unidos.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 46 anos de idade foi ao seu médico com uma história de 2 meses de perda de peso (7 kg), suores noturnos e febre baixa. Os resultados do exame de tórax revelaram um novo murmúrio cardíaco. O médico suspeitou que seu paciente tivesse endocardite subaguda, e três culturas de sangue foram coletadas. Após 1 semana de incubação, as culturas permaneciam negativas.

1. Que teste(s) diagnóstico(s) deve(m) ser realizado(s) para determinar se esse paciente tem endocardite causada por *Coxiella burnetti*?

1. O diagnóstico de infecção por *Coxiella burnetii* pode ser feito por cultura, amplificação de ácido nucleico (PCR) ou sorologia. *Coxiella* cora fracamente no Gram e relativamente poucos organismos estão presentes no sangue, de modo que este teste não tem valor diagnóstico. *Coxiella* são patógenos intracelulares obrigatórios de modo que o cultivo necessita de cultura de células. Este procedimento apresenta risco ao técnico e poucos laboratórios realizam culturas. Testes de PCR são sensíveis e específicos para infecções agudas, sendo o teste de escolha em áreas endêmicas. Entretanto, já que poucos organismos estão presentes no sangue de pacientes com endocardite, a sensibilidade do teste é baixa. Assim, a sorologia é o teste de escolha para pacientes com endocardite. Sendo esta uma infecção crônica, altos títulos de anticorpos estão presentes quando há suspeita de infecção. *Coxiella* sofre variação de fase durante a replicação, de modo que os anticorpos serão formados contra os antígenos expostos em ambas as fases. Em pacientes com endocardite, altos níveis de anticorpos são detectados contra antígenos de fase I. Podem ocorrer reações cruzadas em pacientes com infecções por *Bartonella*, então testes sorológicos específicos contra este organismo também devem ser realizados para excluir esta infecção.

2. Se este diagnóstico for confirmado, qual o modo mais provável de o paciente ter adquirido esta infecção?

2. *Coxiella* causa infecções zoonóticas, sendo animais de fazenda, como gado, ovelhas e cabras, a fonte mais comum de infecções humanas. Animais domésticos como coelhos também estão associados. A bactéria alcança altas concentrações na placenta do gado infectado. Placentas secas deixadas no chão após o parto, bem como fezes e urina podem contaminar o solo. A bactéria é relativamente estável, podendo permanecer viável por longo tempo. O homem adquire a infecção quando inala a bactéria em aerossol. Carrapatos são importante fonte de infecções animal, mas têm papel insignificante na infecção humana.

3. Como essa infecção deve ser tratada?

3. Doxiciclina é usada para tratar infecções por *Coxiella*. Em infecções crônicas como neste paciente, uma combinação de antibióticos, como rifampicina juntamente com dociclina ou sulfametoxazol-trimetoprim, deve ser usada. O sucesso do tratamento requer tempo prolongado de terapia.

Bibliografia

Cutler S. et al: Review: Q fever. *J Infect*. 2007;54:313-318.

Dumler JS. Laboratory diagnosis of human rickettsial and ehrlichial infections. *Clin Microbiol Newsl*. 1996;18:57-61.

Dumler J. et al: Human granulocytic anaplasmosis and Anaplasma phagocytophilum. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1828-1834.

Raoult D. et al: Natural history and pathophysiology of Q fever. *Lancet Infect Dis*. 2005;5:219-226.

Paddock C, Childs J. Ehrlichia chaffeensis: A prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:37-64.

Parker N. et al: Q fever. *Lancet*. 2006;367:679-688.

Schutze GE. Ehrlichiosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25:71-72.

46 Chlamydia e Chlamydophila

A família *Chlamydiaceae* consiste em dois gêneros clinicamente importantes, *Chlamydia* e *Chlamydophila*; três espécies responsáveis por doenças humanas: ***Chlamydia trachomatis***, ***Chlamydophila psittaci*** e ***Chlamydophila pneumoniae*** (Quadro 46-1). Outras espécies foram colocadas nesses gêneros, mas são patógenos humanos incomuns e não serão discutidos neste capítulo.

Quadro 46-1 *Chlamydiaceae* Importantes

Organismo	Etimologia
Chlamydia	***chlamydis*, uma "capa" ou "manto"**
C. trachomatis	*trachomatis*, de "tracoma" ou "áspero" (a doença chamada de tracoma é caracterizada por granulações nas superfícies conjuntivais que levam à inflamação crônica e à cegueira)
Chlamydophila	*chlamydis*, uma "capa"; *phila*, "afinidade" (afinidade pela capa; relativo a *Chlamydia*)
C. pneumoniae	*pneumoniae*, relativo à pneumonia
C. psittaci	*psittacus*, um "papagaio" (doença associada a aves)

As *Chlamydiaceae* são **parasitas intracelulares obrigatórios**, que foram considerados vírus porque são pequenos o suficiente para passar através de filtros de 0,45µm. Entretanto, os organismos apresentam as seguintes propriedades das bactérias: (1) têm membranas interna e externa, similares às das bactérias Gram negativas; (2) contêm ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA); (3) têm ribossomas procarióticos; (4) sintetizam suas próprias proteínas, ácidos nucleicos e lipídios; e (5) são suscetíveis a numerosos antibióticos antibacterianos.

Ao contrário de outras bactérias, *Chlamydiaceae* têm um ciclo de desenvolvimento único, desenvolvendo formas infecciosas metabolicamente inativas (**corpúsculos elementares** [**CEs**]) e formas não infecciosas metabolicamente ativas (**corpúsculos reticulados** [**CRs**]). As propriedades que diferenciam os três patógenos humanos importantes nesta família estão resumidas na Tabela 46-1.

Tabela 46-1 Diferenciação de *Chlamydiaceae* que Causam Doenças Humanas

Tabela 46-1. Diferenciação de *Chlamydiaceae* que Causam Doenças Humanas

Propriedade	*Chlamydia trachomatis*	*Chlamydophila pneumoniae*	*Chlamydophila psittaci*
Gama de hospedeiros	Patógeno primariamente humano	Patógeno primariamente humano	Patógeno primariamente animal; ocasionalmente infecta os seres humanos
Biovares	LGV e tracoma	TWAR	Muitos
Doenças	LGV; tracoma ocular, doença oculogenital, pneumonia de bebês	Bronquite, pneumonia, sinusite, faringite, doença arterial coronariana (?)	Pneumonia (psitacose)
Morfologia dos corpúsculos elementares	Redondo, espaço periplasmático estreito	Forma de pera, espaço periplasmático grande	Redondo, espaço periplasmático estreito
Morfologia dos corpúsculos de inclusão	Inclusão arredondada e única por célula	Múltiplas inclusões uniformes por célula	Múltiplas inclusões de tamanho variável por célula
DNA plasmidial	Sim	Não	Sim
Glicogênio nas inclusões corável por iodeto	Sim	Não	Não
Suscetibilidade a sulfonamidas	Sim	Não	Não

DNA, ácido desoxirribonucleico; LGV, linfogranuloma venéreo.

Família *Chlamydiaceae*

Fisiologia e Estrutura

De forma muito semelhante a um esporo, os corpúsculos elementares são resistentes a vários fatores ambientais inóspitos. Embora estas bactérias não apresentem a rígida camada de peptidoglicano encontrada na maioria de outras bactérias, seu núcleo central é circundado por uma membrana citoplasmática e uma membrana externa de dupla camada. A parede celular contém um lipopolissacarídeo (**LPS**) que é comum a todos os membros da família. O LPS tem apenas uma **fraca atividade de endotoxina**. A **proteína principal da membrana externa** (**MOMP**, ***m**ajor **o**uter **m**embrane **p**rotein*) da parede celular é um importante componente estrutural da membrana externa e é exclusiva para cada espécie. Regiões variáveis no gene que codifica esta proteína são encontradas em *C. trachomatis* e são responsáveis por 18 variantes sorológicas (chamadas **sorovares**). Regiões variáveis similares são encontradas na MOMP de *C. psittaci*; em contraste, a MOMP de *C. pneumoniae* é homogênea, e apenas uma única sorovar foi descrita. Uma segunda proteína da membrana externa, a **OMP 2**, altamente conservada, é compartilhada por todos os membros da família *Chlamydiaceae*. Esta proteína, rica em cisteína, é responsável pelas pontes dissulfeto que fornecem a estabilidade nos corpúsculos elementares.

Os corpúsculos elementares não podem se replicar, mas são infecciosos; isto é, eles podem se ligar a receptores nas células hospedeiras e estimular a captura pela célula infectada. Nesta localização intracelular, os corpúsculos elementares se convertem em corpúsculos reticulados, a forma clamidial de replicação, metabolicamente ativa. Os corpúsculos reticulados são osmoticamente frágeis devido à ausência das proteínas de ligações cruzadas; entretanto, são protegidos por sua localização intracelular.

Chlamydiaceae se replicam por meio de um exclusivo ciclo de crescimento que ocorre no interior das células hospedeiras suscetíveis (Fig. 46-1). O ciclo inicia quando os pequenos corpúsculos elementares infecciosos (com 300 a 400nm) se aderem às microvilosidades das células suscetíveis, seguido de uma penetração ativa na célula hospedeira. Após terem sido internalizadas, as bactérias permanecem no interior dos fagossomas citoplasmáticos, onde o ciclo replicativo prossegue. Se a membrana externa do corpúsculo elementar estiver intacta, a fusão dos lisossomas com o fagossoma contendo o CE é inibida, prevenindo a morte intracelular. Se a membrana externa estiver danificada ou as bactérias forem inativadas por calor ou revestidas por anticorpos, a fusão fagolisossomal ocorre com a subsequente morte das bactérias. De 6 a 8 horas após a entrada na célula, os corpúsculos elementares se reorganizam em corpúsculos reticulados, maiores (800 a 1.000nm) e metabolicamente ativos. As *Chlamydiaceae* são **parasitas de energia**, pois utilizam o trifosfato de adenosina da célula hospedeira para suas necessidades de energia. Algumas cepas podem também depender do hospedeiro para o fornecimento de aminoácidos específicos. Os corpúsculos reticulados se replicam por fissão binária, similar a outras bactérias, e colorações histológicas podem facilmente detectar o fagossoma com os corpúsculos reticulados, formando o que se chama de uma **inclusão**. Em aproximadamente 18 a 24 horas após a infecção, os corpúsculos reticulados começam a se reorganizar em corpúsculos elementares menores, e entre 48 e 72 horas, a célula se rompe e libera as bactérias infecciosas.

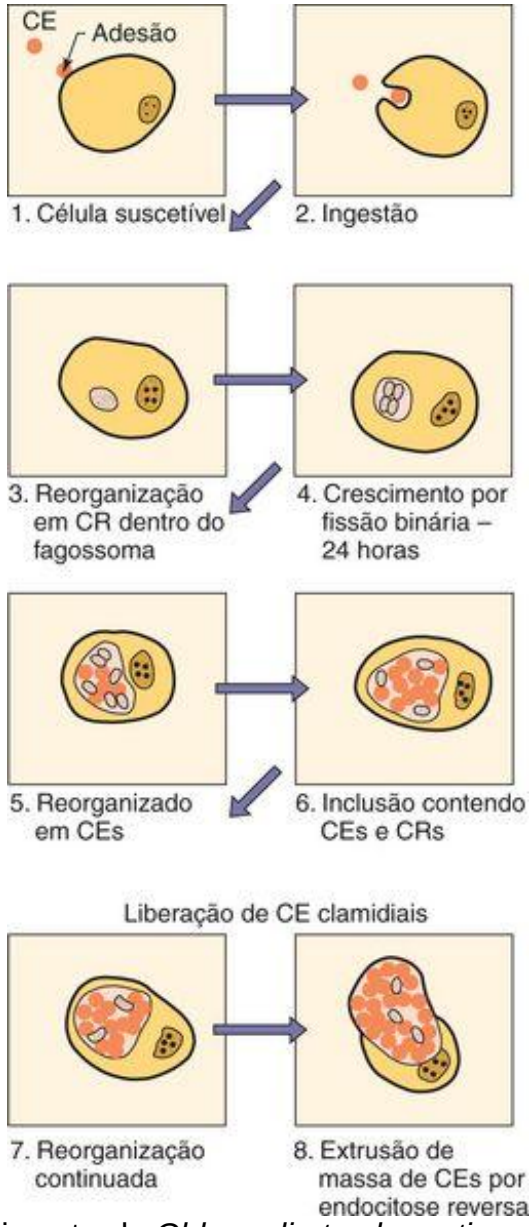


Figura 46-1 Ciclo de crescimento de *Chlamydia trachomatis*.

(Redesenhado de Batteiger B, Jones R: Infect Dis Clin North Am 1:55-81, 1987.)

Chlamydia trachomatis (Quadro 46-2)

C. trachomatis tem uma gama limitada de hospedeiros, com infecções restritas a seres humanos (Quadro 46-3). As espécies responsáveis por doenças humanas estão subdivididas em dois **biovares**: **tracoma** e **LGV** (**linfogranuloma venéreo**). Os biovares têm sido divididos em **sorovares** com base nas diferenças antigênicas da proteína principal da membrana externa (MOMP). Sorovares específicos estão associados a doenças específicas (Tab. 46-2).

Quadro 46-2 Resumo: *Chlamydia trachomatis*

IFD, imunofluorescência direta; ELISA, Ensaio imunoenzoimático direto.

Biologia, Virulência e Doença

Bacilos Gram negativos pequenos, sem camada de peptidoglicanos na parede celular

Parasita intracelular obrigatório de seres humanos

Duas formas distintas: corpúsculos elementares infecciosos e corpúsculos reticulados não infecciosos

Antígeno lipopolissacarídico compartilhado pelas espécies de *Chlamydia* e de *Chlamydophila*

As proteínas principais da membrana externa são espécie-específicas

Dois biovares associados a doenças humanas: tracoma e linfogranuloma venéreo (LGV)

Infecta células epiteliais não ciliadas colunares, cúbicas e de transição

Previne a fusão do fagossoma com os lisossomas da célula

Efeitos patológicos do tracoma causados por infecções repetidas

Doenças – Consulte o Quadro 46-3

Epidemiologia

Bactéria sexualmente transmitida mais frequente nos Estados Unidos

O tracoma ocular ocorre principalmente no norte da África e na África subsaariana, no Oriente Médio, Sul da Ásia e América do Sul

O LGV é altamente prevalente na África, Ásia e América do Sul

Diagnóstico

A cultura é altamente específica, mas é relativamente insensível

Testes de antígenos (IFD, ELISA) são relativamente insensíveis

Testes de amplificação molecular são os testes mais sensíveis e específicos atualmente disponíveis

Tratamento, Prevenção e Controle

Tratar o LGV com doxiciclina ou eritromicina

Tratar infecções oculares ou genitais com azitromicina ou doxiciclina

Tratar a conjuntivite ou a pneumonia do recém-nascido com eritromicina

A prática de sexo seguro e o tratamento imediato do paciente e dos parceiros sexuais ajudam a controlar as infecções

Quadro 46-3 *Chlamydiaceae*: Resumos Clínicos

Chlamydia trachomatis

Tracoma: processo inflamatório crônico granulomatoso da superfície do olho, que leva à ulceração corneal, formação de cicatriz, formação de pano ("*pannus*") e cegueira

Conjuntivite de inclusão do adulto: processo agudo com secreção mucopurulenta, dermatite, infiltrados da córnea e vascularização corneal na doença crônica

Conjuntivite do recém-nascido: processo agudo caracterizado por uma secreção purulenta

Pneumonia do bebê: após um período de incubação de 2 a 3 semanas, o bebê desenvolve rinite, seguido de bronquite com uma tosse seca característica

Infecções urogenitais: processo agudo que envolve o trato genitourinário, com secreção mucopurulenta característica; infecções assintomáticas são comuns em mulheres

Linfogranuloma venéreo: uma úlcera indolor se desenvolve no local de infecção que se cura espontaneamente; seguido por inflamação e inchaço dos linfonodos que drenam a área, progredindo para sintomas sistêmicos

Chlamydophila pneumoniae

Infecções respiratórias: podem variar de doença assintomática ou leve, até uma pneumonia atípica severa que requer hospitalização

Aterosclerose: *C. pneumoniae* tem sido associada a placas inflamatórias nos vasos sanguíneos; o papel etiológico nesta doença é controverso

Chlamydophila psittaci

Infecções respiratórias: podem variar de colonização assintomática até uma broncopneumonia grave, com infiltração de células inflamatórias, necrose e hemorragia

Tabela 46-2 Espectro Clínico de Infecções por *Chlamydia trachomatis*

Sorovares	Doença
A, B, Ba, C	Tracoma
D-K	Doença do trato urogenital
L1, L2, L2a, L2b, L3	Linfogranuloma venéreo

Patogênese e Imunidade

A gama de células que *C. trachomatis* pode infectar é limitada. Receptores para CEs estão restritos principalmente a células epiteliais cilíndricas, cúbicas e de transição, que são encontradas nas membranas mucosas da uretra, endocérvice, endométrio, tubas uterinas, reto, trato respiratório e conjuntiva. Os sorovares de LGV são mais invasivos que os outros sorovares, porque se replicam em fagócitos mononucleares. As manifestações clínicas das infecções clamidiais são causadas: (1) pela destruição direta das células durante replicação; e (2) pela resposta de citocinas pró-inflamatórias que elas estimulam.

As clamídias penetram através de minúsculas abrasões ou lacerações. No LGV, as lesões se formam nos linfonodos que drenam o local de infecção primária (Fig. 46-2). A formação do granuloma é característica. As lesões podem se tornar necróticas, atraindo leucócitos polimorfonucleares, e fazendo com que o processo inflamatório se propague para os tecidos adjacentes. A ruptura subsequente do linfonodo leva à formação de abscessos ou fístulas. A infecção com sorovares não LGV de *C. trachomatis* estimula uma intensa resposta inflamatória que consiste de neutrófilos, linfócitos e plasmócitos.

Figura 46-2 Paciente com linfogranuloma venéreo causando linfedema vulvar unilateral e bubões inguinais.

(De Cohen J, Powderly W: Infectious Diseases, 2nd Ed. St. Louis, Mosby, 2004.)

A infecção não confere uma imunidade duradoura. Em vez disso, a reinfecção induz uma vigorosa resposta inflamatória com subsequente dano tecidual. Esta resposta produz perda de visão em pacientes com infecções oculares crônicas e formação de cicatrizes, com esterilidade e disfunção sexual em pacientes com infecções genitais.

Epidemiologia

C. trachomatis é encontrada em todo o mundo e causa tracoma (ceratoconjuntivite crônica), doença oculogenital, pneumonia e LGV. O tracoma é endêmico no norte da África e na África subsaariana, no Oriente Médio, no sul da Ásia e na América do Sul. A Organização Mundial de Saúde estima que 6 milhões de pessoas estejam cegas devido ao tracoma, e mais de 150 milhões necessitem de tratamento. O tracoma é **a principal causa da cegueira evitável**. As infecções ocorrem predominantemente em crianças, que são o reservatório principal de *C. trachomatis* em áreas endêmicas. A incidência de infecção é menor em crianças com mais idade e em adolescentes; no entanto, a incidência de cegueira continua a aumentar durante a vida adulta, à medida que a doença progride. O tracoma é transmitido de olho para olho através de gotículas, mãos, vestimentas contaminadas e moscas que pousam nos olhos, que transmitem secreções oculares dos olhos de crianças infectadas para os olhos de crianças não infectadas. Como uma alta percentagem de crianças nas áreas endêmicas abriga *C. trachomatis* no trato respiratório e gastrintestinal, o patógeno também pode ser transmitido por gotículas respiratórias ou através de contaminação fecal. O tracoma geralmente é endêmico em comunidades que vivem em aglomeração, em condições sanitárias precárias e com higiene pessoal deficiente – todos fatores de risco que favorecem a transmissão de infecções.

A maioria dos casos de **conjuntivite de inclusão do adulto** por *C. trachomatis* ocorre em pessoas que têm de 18 a 30 anos de idade, e a infecção genital provavelmente precede o envolvimento ocular. Acredita-se que a autoinoculação e o contato oral-genital sejam as rotas de transmissão. Uma terceira forma de infecções oculares por *C. trachomatis* é a **conjuntivite de inclusão do recém-nascido**, uma infecção adquirida durante a passagem do bebê pelo canal de parto infectado. A conjuntivite por *C. trachomatis* se desenvolve em aproximadamente 25% dos bebês cujas mães têm infecções genitais ativas.

A infecção pulmonar por *C. trachomatis* também ocorre em recém-nascidos. Uma **pneumonia intersticial** difusa se desenvolve em 10% a 20% dos bebês expostos ao patógeno durante o parto.

C. trachomatis é considerada como a **doença bacteriana sexualmente transmitida** mais comum nos Estados Unidos. Em 2006, 1 milhão de infecções foi relatado nos Estados Unidos. Entretanto, acredita-se que o quadro é subestimado, pois a maioria dos pacientes infectados não procura tratamento médico ou é tratada sem um diagnóstico específico. Estima-se que 2,8 milhões de americanos sejam infectados a cada ano, e cerca de 50 milhões de novas infecções ocorram anualmente por todo o mundo. A maioria das infecções do trato genital é causada pelos sorotipos D a K.

O LGV é uma doença crônica sexualmente transmitida causada pelos sorotipos L1, L2, L2a, L2b e L3 de *C. trachomatis*. Ela ocorre esporadicamente nos Estados Unidos e em outros países industrializados, mas é altamente prevalente na África, Ásia e América do Sul. O LGV agudo é visto mais frequentemente em homens, principalmente porque a infecção sintomática é menos comum em mulheres.

Doenças Clínicas

Tracoma

O tracoma é uma **doença crônica** causada pelos sorovares A, B, Ba e C. Inicialmente, os pacientes têm uma **conjuntivite folicular** com inflamação difusa que envolve toda a conjuntiva. As conjuntivas se tornam marcadas com cicatrizes à medida que a doença progride, fazendo com que as pálpebras do paciente se dobrem para dentro. Os cílios virados para dentro irritam a córnea, resultando em uma ulceração corneal, formação de cicatrizes, formação de pano (*pannus*, invasão de vasos para o interior da córnea) e perda de visão. É comum o tracoma recidivar após uma aparente cura, mais provavelmente como resultado de infecções subclínicas, que foram documentadas em crianças em áreas endêmicas e em imigrantes dos Estados Unidos que adquiriram tracoma durante a infância em seus países nativos.

Conjuntivite de Inclusão do Adulto

Uma conjuntivite folicular aguda causada pelas cepas de *C. trachomatis* associadas a infecções genitais (sorovares A, B, Ba, D a K) tem sido documentada em adultos sexualmente ativos. A infecção é caracterizada por secreção mucopurulenta, ceratite, infiltrados corneais e ocasionalmente alguma vascularização corneal. A formação de cicatrizes na córnea tem sido observada em pacientes com infecção crônica.

Conjuntivite Neonatal

Infecções oculares também podem se desenvolver em **bebês expostos a *C. trachomatis* no nascimento**. Após uma incubação de 5 a 12 dias, as pálpebras do bebê incham, ocorre uma hiperemia, e aparece uma intensa secreção purulenta. Infecções não tratadas podem seguir por cerca de 12 meses, tempo que ocorre a formação de cicatrizes na córnea e vascularização corneal. Bebês não tratados ou tratados apenas com terapia tópica apresentam risco de desenvolver pneumonia por *C. trachomatis*.

Pneumonia do Bebê (Caso Clínico 46-1)

O período de incubação para a pneumonia do bebê é variável, mas o início geralmente ocorre entre 2 e 3 semanas após o nascimento. Inicialmente é observada uma rinite, após o que se desenvolve uma **tosse paroxística** (em *staccato*). A criança permanece sem febre durante toda a doença clínica, que pode durar várias semanas. Sinais radiográficos de infecção podem persistir por meses.

Caso Clínico 46-1 Pneumonia por *Chlamydia trachomatis* em Bebês Recém-nascidos

Niida e colaboradores descreveram duas meninas com pneumonia por *C. trachomatis*. O primeiro bebê nasceu por parto vaginal após 39 semanas de gestação, e o segundo, por cesariana (devido a sofrimento fetal) com 40 semanas de gestação. Os bebês se apresentavam em boas condições, até que se desenvolveram febre e taquipneia em 3 e 13 dias, respectivamente. As radiografias de tórax mostraram infiltrados por toda a extensão dos

pulmões. Culturas de sangue, urina, garganta, fezes e LCR foram negativas, mas testes para antígenos de *C. trachomatis* foram positivos a partir de *swabs* conjuntivais e nasofaríngeos. Estes casos ilustram a apresentação da pneumonia em bebês infectados com *C. trachomatis* no parto ou próximo a este, embora a característica tosse em *staccato* não tenha sido descrita.

Linfogranuloma Venéreo Ocular

Os sorotipos LGV de *C. trachomatis* têm sido implicados como causa da conjuntivite oculoglandular de Parinaud, uma inflamação conjuntival associada à linfadenopatia pré-auricular, submandibular e cervical.

Infecções Urogenitais (Caso Clínico 46-2)

A maioria das infecções genitais em mulheres é assintomática (cerca de 80%), porém, podem se tornar sintomáticas. As manifestações clínicas incluem bartolinite, cervicite, endometrite, peri-hepatite, salpingite e uretrite. Pacientes assintomáticas com infecção por clamídia são um importante reservatório para a disseminação de *C. trachomatis*. Em pacientes com infecção sintomática, uma secreção mucopurulenta (Fig; 46-3) é observada e os espécimes destas pacientes geralmente produzem mais organismos em culturas do que os de pacientes com infecções assintomáticas. A uretrite causada por *C. trachomatis* pode ocorrer com ou sem uma infecção cervical simultânea.

Caso Clínico 46-2 Síndrome de Reiter e Doença Inflamatória Pélvica

Serwin et al. (J Eur Acad Derm Vener 20:735-736, 2006) descreveram um homem de 30 anos de idade que se apresentou a um hospital universitário com queixa de disúria com 3 dias de duração, inflamação peniana, inchaço nas articulações e febre. Também foram observadas lesões de pele e alterações nas unhas. Altos níveis de anticorpos contra *Chlamydia* estavam presentes, mas testes para antígenos e testes de amplificação de ácidos nucleicos dos exsudatos uretral e da conjuntiva foram negativos para *C. trachomatis*. Um diagnóstico de síndrome de Reiter foi feito, e o tratamento com ofloxacina foi iniciado. A completa remissão das lesões de pele e dos sintomas uretrais foi alcançada. A esposa do paciente também foi admitida no hospital com uma história de 2 anos de dor abdominal inferior, sangramento e secreção vaginal. O diagnóstico de doença inflamatória pélvica (DIP) foi feito, e a infecção por *C. trachomatis* foi confirmada através de testes positivos para antígenos cervicais e uretrais (IFD). O esfregaço vaginal também foi positivo para *Trichomonas vaginalis*. Estes pacientes ilustram duas complicações das infecções urogenitais por *C. trachomatis*: síndrome de Reiter e DIP.

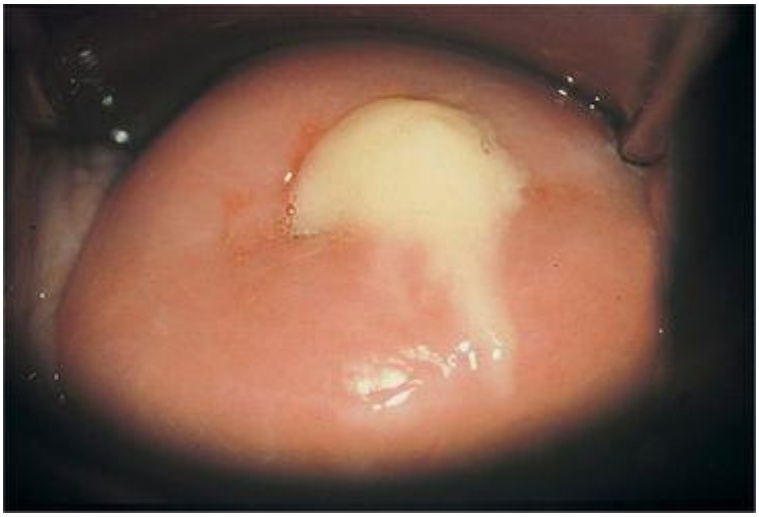


Figura 46-3 Cervicite mucopurulenta causada por *Chlamydia trachomatis*.

(De Cohen J, Powderly W: Infectious Diseases, 2nd Ed. St. Louis, Mosby, 2004. Fotografia de J. Paavonen.)

Embora a maioria das infecções genitais por *C. trachomatis* em homens seja sintomática, cerca de 25% das infecções serão inaparentes. Aproximadamente 35% a 50% dos casos de uretrite não gonocócica são causados por *C. trachomatis*; infecções duplas por *C. trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* não são incomuns. Os sintomas da infecção por clamídia se desenvolvem após o tratamento bem-sucedido da gonorreia, porque o período de incubação é mais longo e o uso de antibióticos β-lactâmicos para tratar a gonorreia é ineficaz contra *C. trachomatis*. Embora haja menos exsudato purulento em pacientes com infecções uretrais por clamídia, estas infecções não podem ser diferenciadas de forma confiável da gonorreia, de modo que testes diagnósticos específicos para ambos os organismos devam ser realizados.

Acredita-se que a **síndrome de Reiter** (uretrite, conjuntivite, poliartrite e lesões mucocutâneas) seja iniciada pela infecção genital por *C. trachomatis*. Embora as clamídias não tenham sido isoladas a partir do líquido sinovial de tais pacientes, os corpúsculos elementares clamidiais foram observados no líquido sinovial ou em espécimes de tecidos de homens com artrite reativa adquirida sexualmente. A doença usualmente ocorre em homens brancos jovens. Aproximadamente 50% a 65% dos pacientes com síndrome de Reiter têm uma infecção genital por clamídia na fase inicial da artrite, e estudos sorológicos indicam que mais de 80% dos homens com síndrome de Reiter apresentam evidências de uma infecção precedente ou simultânea por *C. trachomatis*.

Linfogranuloma Venéreo

Após incubação de 1 a 4 semanas, uma lesão primária aparece no local da infecção (p. ex., pênis, uretra, glande, escroto, parede vaginal, cérvice e vulva) em pacientes com LGV. A lesão (uma pápula ou uma úlcera) é frequentemente negligenciada porque é pequena, indolor e cicatriza rapidamente. A ausência de dor diferencia estas úlceras daquelas observadas em infecções pelo vírus herpes simples. O paciente pode apresentar febre, dor de cabeça e mialgia quando a lesão está presente.

O segundo estágio de infecção é marcado por inflamação e inchaço dos linfonodos que drenam o local de infecção inicial. Os linfonodos inguinais são mais comumente envolvidos, se transformando em **bubões** dolorosos flutuantes que aumentam gradualmente e podem se romper, formando fístulas de drenagem. Manifestações sistêmicas incluem febre, calafrios, anorexia, dor de cabeça, meningismo, mialgias e artralgia.

A **proctite** é comum em mulheres com LGV, resultante da disseminação linfática a partir da cérvice uterina ou da vagina. A proctite se desenvolve em homens após intercurso anal ou como resultado de disseminação linfática a partir da uretra. O LGV não tratado pode regredir neste estágio ou pode progredir para uma fase ulcerativa crônica, na qual úlceras genitais, fístulas, estreitamentos, ou elefantíase genital se desenvolvem.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção por *C. trachomatis* pode ser diagnosticada: (1) com base em achados citológicos, sorológicos ou de cultura; (2) através da detecção direta do antígeno em espécimes clínicos; e (3) através do uso de testes moleculares. A sensibilidade de cada método depende da população de pacientes examinada, o local onde o espécime é obtido, e a natureza da doença. Por exemplo, infecções sintomáticas geralmente são mais fáceis de diagnosticar do que infecções assintomáticas, porque mais clamídias estão presentes no espécime de um paciente com sintomas. A qualidade do espécime também é importante. Como as clamídias são bactérias intracelulares obrigatórias, os espécimes se obtêm a partir do local envolvido (p. ex., uretra, cérvice uterina, reto, orofaringe e conjuntiva). Amostras de pus ou de exsudato uretral são inadequadas. As clamídias infectam as células cilíndricas do endocérvice ou da junção escamocolunar da cérvice uterina; consequentemente, espécimes endocervicais e não vaginais devem ser coletados. Estima-se que 30% dos espécimes submetidos a teste em pacientes com infecção suspeita por *Chlamydia* sejam inadequados.

Citologia

O exame de raspados celulares corados por Giemsa para detecção de inclusões foi o primeiro método usado para o diagnóstico de infecção por *C. trachomatis*. Entretanto, este método é insensível e não é recomendado. Da mesma forma, a coloração de Papanicolaou em material cervical tem se mostrado como um método insensível e inespecífico.

Detecção de Antígenos

Duas abordagens gerais têm sido usadas para detectar antígenos clamidiais em espécimes clínicos: a **coloração de imunofluorescência direta** (IFD) com anticorpos monoclonais conjugados à fluoresceína (Fig. 46-4) e **ensaio imunoenzimático direto** (ELISA). Em ambos, são usados anticorpos preparados contra a MOMP clamidial ou o LPS da parede celular. Como os determinantes antigênicos no LPS podem ser compartilhados com outras bactérias, particularmente aqueles em espécimes fecais, os testes dirigidos contra o antígeno LPS são menos específicos. A sensibilidade de cada método varia bastante, porém nenhum é considerado tão sensível como a cultura ou os testes baseados em ácidos nucleicos, particularmente se espécimes uretrais masculinos ou espécimes a partir de pacientes assintomáticos forem usados. Estes últimos representam um problema porque podem conter relativamente poucas clamídias.

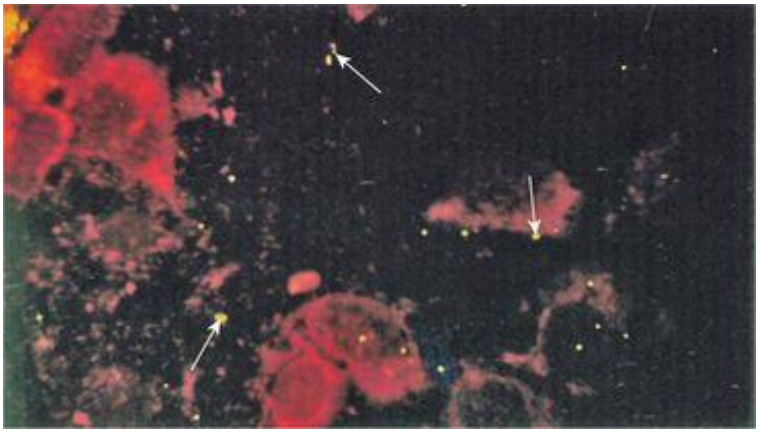


Figura 46-4 Corpúsculos elementares corados por fluoresceína (*setas*) em uma amostra

clínica.

(De Hart T, Shears P: Color Atlas of Medical Microbiology. London, Mosby-Wolfe, 2000.)

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Os **testes de sondas de ácidos nucleicos** avaliam mais comumente a presença de uma sequência espécie-específica do **RNA ribossomal 16S**. A vantagem destes testes é que o ácido nucleico não precisa ser amplificado, tornando os testes rápidos e relativamente baratos; entretanto, estes testes são relativamente insensíveis para a detecção de pequeno número de clamídias. O s **testes de amplificação de ácidos nucleicos** são mais sensíveis (geralmente relatados com 90% a 98% de sensibilidade) e, se adequadamente monitorados, são muito específicos. Estes testes primeiramente amplificam uma sequência específica de informações genéticas e em seguida as detectam com uma sonda espécie-específica. A urina de primeiro jato de um paciente com uretrite pode ser usada, além da secreção uretral. É preciso ter cuidado para monitorar a presença de inibidores (p. ex., urina) para a reação de amplificação e para prevenir a contaminação cruzada de espécimes. Apesar destes cuidados, os testes de amplificação são atualmente considerados como os de escolha para o diagnóstico laboratorial de infecção genital por *C. trachomatis*.

Cultura

O isolamento de *C. trachomatis* em cultura de células permanece como o método mais **específico** de diagnosticar infecções por *C. trachomatis*, mas é **relativamente insensível** quando comparado a técnicas de amplificação de ácidos nucleicos (Fig. 46-5). As bactérias infectam uma faixa restrita de linhagens celulares *in vitro*, semelhantes à estreita faixa de células que elas infectam *in vivo*. A sensibilidade da cultura é comprometida se espécimes inadequados forem usados e se a viabilidade das clamídias for perdida durante o transporte do espécime. Estima-se que a sensibilidade dos achados obtidos a partir de um único espécime endocervical possa ser de apenas 70% a 85%.

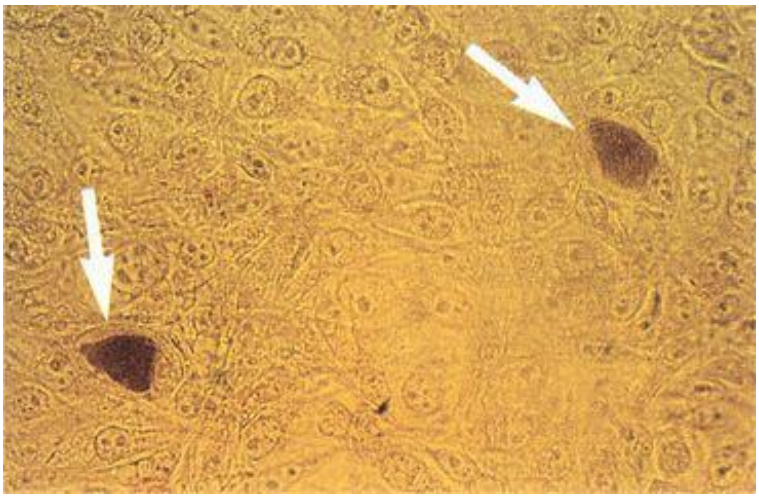


Figura 46-5 *Chlamydia trachomatis* crescendo em culturas de células e detectada através da coloração dos corpúsculos de inclusão (*setas*) com iodeto ou anticorpos específicos marcados com fluoresceína.

Detecção de Anticorpos

O teste sorológico tem valor limitado no diagnóstico de infecções urogenitais por *C. trachomatis* em adultos, porque não pode diferenciar entre infecções atuais e passadas. A demonstração de um aumento significativo nos níveis de anticorpos pode ser útil; entretanto, este aumento pode não ser demonstrado por um mês ou mais, particularmente em pacientes que recebem tratamento com antibióticos. A testagem para anticorpos IgM (imunoglobulina M) geralmente também não é útil, porque estes anticorpos podem não ser detectados em adolescentes e adultos. Uma exceção é a detecção de anticorpos IgM em bebês com pneumonite por clamídia.

Testes de anticorpos para o diagnóstico de LGV podem ser úteis. Pacientes infectados produzem intensa resposta com anticorpos que podem ser detectados por fixação de complemento (FC), microimunofluorescência (MIF) ou imunoensaio enzimático (EIA). O teste FC é direcionado contra o antígeno LPS específico do gênero. Assim, um resultado positivo (*i. e*., aumento de 4 vezes na titulação ou uma única titulação ≥ 1:256) é altamente sugestivo de LGV. A confirmação é determinada pelo teste MIF, que é direcionado contra antígenos espécie-específicos e sorovar-específicos (as MOMPs clamidiais). Como o teste FC, os EIAs são específicos para os gêneros. A vantagem destes testes é que são tecnicamente menos complicados. Entretanto, os resultados devem ser confirmados por MIF.

Tratamento, Prevenção e Controle

Recomenda-se que pacientes com LGV sejam tratados com doxiciclina por 21 dias. O tratamento com eritromicina é recomendado para crianças menores de 9 anos, mulheres grávidas e pacientes incapazes de tolerar a doxiciclina. Infecções oculares e genitais em adultos devem ser tratadas com uma dose única de azitromicina ou 7 dias de doxiciclina. A conjuntivite e a pneumonia de recém-nascidos devem ser tratadas com eritromicina por 10 a 14 dias.

É difícil prevenir o tracoma, porque a população com a doença endêmica comumente tem acesso limitado a cuidados médicos. A cegueira associada a estágios avançados de tracoma pode ser prevenida somente através do tratamento imediato da doença precoce e a prevenção de reexposição. Embora o tratamento possa ser bem-sucedido em indivíduos que vivem em áreas onde a doença é endêmica, é difícil erradicar e prevenir reinfecções dentro de uma população, a menos que as condições sanitárias sejam melhoradas. A conjuntivite e infecções genitais por *Chlamydia* são evitadas através do uso de práticas de sexo seguro e do tratamento imediato de pacientes sintomáticos e seus parceiros sexuais.

Chlamydophila pneumoniae

C. pneumoniae foi primeiramente isolada a partir da conjuntiva de uma criança em Taiwan. Ela foi inicialmente considerada como uma cepa de psitacose, porque a morfologia das inclusões produzidas em cultura de células era similar. Entretanto, posteriormente foi mostrado que o material isolado em Taiwan (TW-183) estava sorologicamente relacionado a um material isolado de faringe, designado AR-39, e não estava relacionado a cepas de psitacose. Este novo organismo foi inicialmente chamado de *TWAR*, em seguida classificado como *Chlamydia pneumoniae*, e finalmente colocado no novo gênero *Chlamydophila*. Apenas um único sorotipo (TWAR) foi identificado. A infecção é transmitida por secreções respiratórias; nenhum reservatório animal foi identificado.

C. pneumoniae é um **patógeno humano** que causa sinusite, faringite, bronquite e pneumonia. Acredita-se que as infecções sejam transmitidas de pessoa para pessoa através de secreções respiratórias. A prevalência de infecções é bastante controversa, com amplas variações relatadas na literatura, em grande parte devido à variação significativa nos métodos de testes diagnósticos. Acredita-se que a maioria das infecções por *C. pneumoniae* seja assintomática ou leve, causando uma tosse persistente e mal-estar; a maioria dos pacientes não requer hospitalização. Infecções mais severas do trato respiratório tipicamente envolvem um único lobo pulmonar. Estas infecções não podem ser diferenciadas de outras pneumonias atípicas, como as causadas por *Mycoplasma pneumoniae, Legionella pneumophilla* e vírus respiratórios.

O papel de *C. pneumoniae* na patogênese da aterosclerose ainda não foi definido. Sabe-se que *C. pneumoniae* pode infectar e proliferar em células musculares lisas, células endoteliais das artérias coronárias e macrófagos. O organismo também foi demonstrado em espécimes de biópsia de lesões ateroscleróticas por meio de cultura, amplificação por PCR, coloração imuno-histológica, microscopia eletrônica e hibridização *in situ*. Desta forma, a associação de *C. pneumoniae* com lesões ateroscleróticas está clara. O que não está claro é o papel do organismo no desenvolvimento da aterosclerose. Tem sido proposto que a doença resulta de resposta inflamatória a uma infecção crônica; entretanto, isto ainda precisa ser provado.

O diagnóstico de infecções por *C. pneumoniae* é difícil. Os organismos não proliferam nas linhagens celulares usadas para o isolamento de *C. trachomatis*, e embora *C. pneumoniae* cresça na linhagem celular HEp-2, esta linhagem celular não é usada na maioria dos laboratórios clínicos. A detecção de *C. pneumoniae* por testes de amplificação de ácidos nucleicos tem sido bem-sucedida; todavia, uma significativa variação interlaboratorial tem sido

relatada entre os laboratórios com experiência no uso destes testes. O teste de microimunofluorescência (MIF) é o único aceitável para o diagnóstico sorológico. Os critérios para o diagnóstico da infecção aguda por *C. pneumoniae* são uma única titulação de IgM > 1:16 ou um aumento de 4 vezes na titulação de IgG. Uma única titulação elevada de IgG não pode ser usada. Como os anticorpos IgG não aparecem antes de 6 a 8 semanas após a infecção, o teste sorológica tem valor limitado para o diagnóstico de infecção aguda.

Os macrolídeos (eritromicina, azitromicina e claritromicina), doxiciclina, ou levofloxacina são recomendados para o tratamento de infecções por *C. pneumoniae*, embora evidências que sustentem seu uso sejam limitadas. O controle da exposição a *C. pneumoniae* provavelmente é difícil porque a bactéria é ubíqua.

Chlamydophila psittaci (Caso Clínico 46-3)

C. psittaci é a causa da psitacose (febre do papagaio), que pode ser transmitida para seres humanos. A doença foi primeiramente observada em papagaios, daí o nome **psitacose** (*psittakos* é a palavra grega para "papagaio"). Na realidade, o reservatório natural de *C. psittaci* é praticamente qualquer espécie de ave, e a doença tem sido citada mais apropriadamente como **ornitose** (derivado da palavra grega *ornithos*, para "ave"). Outros animais, como ovelhas, vacas e cabras, além de seres humanos, podem se tornar infectados. O organismo está presente no sangue, nos tecidos, nas fezes e nas penas de aves infectadas que podem parecer doentes ou com aspecto saudável.

Caso Clínico 46-3 Psitacose em um Homem Previamente Saudável

Scully et al. (N Engl J Med 338:1527-1535, 1998) descreveram um homem de 24 anos de idade que foi admitido em um hospital local com angústia respiratória aguda. Vários dias antes de sua hospitalização, ele desenvolveu congestão nasal, mialgia, tosse seca, dispneia leve e dor de cabeça. Imediatamente antes da admissão, a tosse se tornou produtiva, e ele desenvolveu dor pleurítica, febre, calafrios e diarreia. Radiografias mostraram consolidação do lobo superior direito e infiltrados maculares no lobo inferior esquerdo dos pulmões. Apesar de seu tratamento com antibióticos incluir eritromicina, doxiciclina, ceftriaxona e vancomicina, sua condição pulmonar não começou a melhorar em 7 dias, e ele não recebeu alta do hospital até 1 mês após sua admissão. Uma meticulosa história revelou que o homem teve contato com papagaios em um saguão de hotel durante suas férias. O diagnóstico de pneumonia por *C. psittaci* foi feito através de testes sorológicos e do crescimento do organismo em cultura de células.

As infecções ocorrem através do trato respiratório, após o que as bactérias se disseminam para as células do sistema mononuclear fagocitário do fígado e do baço. Os organismos se multiplicam nestes locais, produzindo uma necrose focal. O pulmão e outros órgãos são em seguida colonizados como resultado da disseminação hematogênica, o que causa uma resposta inflamatória predominantemente linfocítica nos espaços alveolares e intersticiais. Edema, espessamento da parede alveolar, infiltração de macrófagos, necrose e ocasionalmente hemorragia ocorrem nestes locais. Tampões de muco se desenvolvem nos bronquíolos, causando cianose e anoxia.

Menos de 25 casos da doença são relatados anualmente nos Estados Unidos, com a maioria das infecções em adultos. Entretanto, esse número certamente é uma subestimativa da verdadeira prevalência da doença, pois: (1) infecções humanas podem ser assintomáticas ou leves; (2) a exposição a uma ave infectada pode não ser suspeitada; (3) o soro convalescente pode não ser coletado para confirmar o diagnóstico clínico; e (4) a terapia com antibióticos pode bloquear a resposta de anticorpos. Além do mais, devido às reações cruzadas sorológicas com *C. pneumoniae*, estimativas específicas da prevalência da doença permanecerão não confiáveis até que um teste diagnóstico definitivo seja desenvolvido.

A bactéria é usualmente transmitida para seres humanos através da inalação de excrementos secos, urina ou secreções respiratórias de aves psitacídeas (p. ex., papagaios, periquitos, araras, cacatuas). A transmissão de pessoa para pessoa é rara. Veterinários, cuidadores de zoológicos, trabalhadores em lojas de animais domésticos e empregados de fábricas de processamento de carne de aves estão com maior risco para esta infecção.

A doença se desenvolve após uma incubação de 5 a 14 dias, e usualmente se manifesta com dor de cabeça, febre alta, calafrios, mal-estar e mialgias (Fig. 46-6). Os sinais pulmonares incluem tosse não produtiva, estertores e consolidação. É comum o envolvimento do sistema nervoso central, com dor de cabeça; porém, encefalite, convulsões, coma e morte podem ocorrer em casos severos não tratados. Os pacientes podem apresentar sintomas do trato gastrintestinal, como náuseas, vômitos, e diarreia. Outros sintomas sistêmicos incluem cardite, hepatomegalia, esplenomegalia e ceratoconjuntivite folicular.

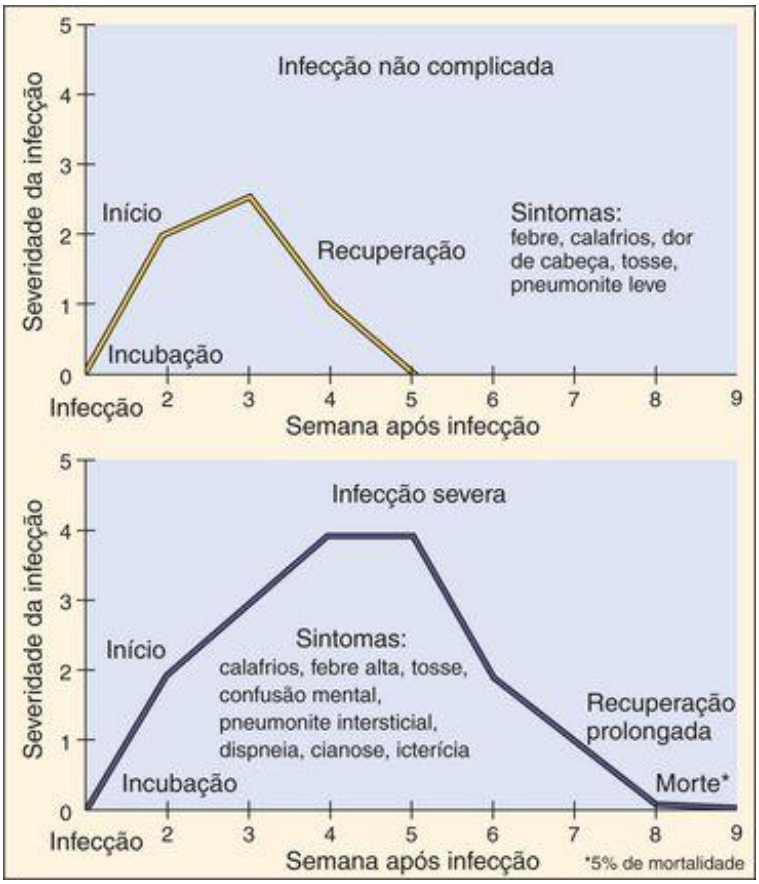


Figura 46-6 Curso da infecção por *Chlamydophila psittaci*.

A psitacose é comumente diagnosticada com base em achados sorológicos. O aumento de 4 vezes na titulação, por FC de soros das fases aguda e de convalescença pareados, é sugestivo de infecção por *C. psittaci*, mas o teste MIF espécie-específico deve ser realizado para confirmar o diagnóstico. *C. psittaci* pode ser isolada em cultura de células (p. ex., com células L) após 5 a 10 dias de incubação, embora este procedimento seja raramente realizado em laboratórios clínicos.

As infecções podem ser tratadas com sucesso com doxiciclina ou macrolídeos. A transmissão de pessoa para pessoa raramente ocorre, de modo que o isolamento do paciente e o tratamento profilático de contatos não são necessários. Pode-se prevenir a psitacose apenas através do controle de infecções em aves domésticas e aves de estimação importadas. Tal controle pode ser alcançado através do tratamento das aves com hidrocloreto de clortetraciclina por 45 dias. Atualmente, não existe vacina para esta doença.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 22 anos de idade chegou ao setor de emergência com história de dor uretral e secreção purulenta que desenvolveu após contato sexual com uma prostituta. A coloração de Gram da secreção revelou abundantes diplococos Gram negativos semelhantes a *Neisseria gonorrhoeae*. O paciente foi tratado com penicilina e mandado para casa. Dois dias depois, retornou ao setor de emergência com uma queixa de secreção uretral persistente e aquosa. Numerosos leucócitos, mas sem organismos, foram observados na coloração de Gram da secreção. A cultura da secreção foi negativa para *N. gonorrhoeae*, porém foi positiva para *C. trachomatis*.

1. Por que a penicilina é ineficaz contra *Chlamydia*? Que antibiótico pode ser usado para tratar este paciente?

1. *Chlamydiae* não tem a camada de peptidoglicano encontrada na maioria das bactérias e, portanto é resistente aos agentes beta-lactâmicos e vancomicina. A infecção deste paciente pode ser tratada com azitromicina ou doxiciclina.

2. Descreva o ciclo de multiplicação de *Chlamydia*. Que aspectos estruturais tornam os CEs e CRs bem adaptados a seu ambiente?

2. O ciclo de desenvolvimento das clamídias envolve dois estágios: o corpúsculo elementar (CE), metabolicamente inativo, estável e infeccioso, e o corpúsculo reticular (CR), metabolicamente ativo, lábil e não infeccioso. Os pacientes são infectados com a forma CE, que se liga aos receptores da célula do hospedeiro e é internalizado. No interior do fagossomo o CE se converte em CR e inicia a replicação por divisão binária. Após 18-24 horas de replicação os CRs se reorganizam em CEs, a célula é lisada e libera os CEs infecciosos.

3. Descreva as diferenças entre as três espécies na família *Chlamydiaceae* que causam doenças humanas.

3. Três espécies de clamídias são clinicamente importantes: *Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae* e *Chlamydophila psittaci*. *C. trachomatis* e *C. pneumoniae* são patógenos humanos primários enquanto *C. psittaci* é patógeno animal, sendo o ser humano um hospedeiro secundário. *C. trachomatis* tem dois biovares (LGV e tracoma), *C. pneumoniae* tem um biovar (TWAR) e *C. psittaci* tem muitos biovares. A morfologia dos CEs de *C. pneumoniae* difere das outras duas espécies: uma única inclusão corada por iodo é observada em células infectadas por *C. trachomatis* comparando com múltiplos corpúsculos de inclusão não corados em células infectadas pelas outras espécies. Somente *C. trachomatis* é suscetível a sulfonamidas.

4. *C. trachomatis, C. pneumoniae* e *C. psittaci* causam infecções do trato respiratório. Descreva a população de pacientes mais comumente infectada e a epidemiologia destas infecções.

4. Infecções respiratórias causadas por *C. trachomatis* são observadas principalmente em crianças que foram infectadas no nascimento. Inicialmente é observada uma rinite seguida de tosse seca característica. *C. pneumoniae* é uma importante causa de bronquite, pneumonia e sinusite, mais frequente em adultos. A maioria das infecções é assintomática ou branda com mal-estar e tosse persistente. *C. psittaci* também produz uma infecção respiratória com sintomas iniciais de cefaleia, febre alta, tremores, mal-estar e mialgia. Os sinais pulmonares incluem tosse não produtiva, estertores e consolidação.

Bibliografia

Arcari C. et al: Association between Chlamydia pneumoniae immunoglobulin A and acute myocardial infarction in young men in the United States military: Importance of timing of exposure measurements. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1123-1130.

Boman J, Hammerschlag MR. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: Critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:1-20.

Centers for Disease Control and Prevention: Screening tests to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections—2002. *Morb Mortal Wkly Rep*.

2002;51(RR-15):1-38.
Gambhir M. et al: Trachoma: Transmission, infection, and control. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:420-427.
Kumar S, Hammerschlag M. Acute respiratory infection due to Chlamydia pneumoniae: Current status of diagnostic methods. *Clin Infect Dis*. 2007;44:568-576.
McLean C. et al: Treatment of lymphogranuloma venereum. *Clin Infect Dis*. 2007;44:S147-S152.
Morré S. et al: Urogenital Chlamydia trachomatis serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: An association with clinical manifestations? *J Clin Microbiol*. 2000;38:2292-2296.
Van der Bij A. et al: Diagnostic and clinical implications of anorectal lymphogranuloma venereum in men who have sex with men: A retrospective case-control study. *Clin Infect Dis*. 2006;42:186-194.
Vanrompay D. et al: Chlamydophila psittaci transmission from pet birds to humans. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1109-1110.

47 O Papel de Bactérias em Doenças

Este capítulo é um resumo do material apresentado nos Caps. 21 a 46. Os capítulos anteriores apresentaram os organismos individualmente e as doenças que provocam. Acreditamos que é um processo importante para a compreensão de como cada organismo produz uma doença. No entanto, quando um paciente desenvolve uma infecção, o diagnóstico médico se baseia na apresentação clínica e na elaboração de uma lista dos organismos mais prováveis causadores da doença. A etiologia de algumas doenças pode ser atribuída a um único organismo (p. ex., tétano *Clostridium tetani*). Mais comumente, diversos organismos podem produzir um quadro clínico semelhante (p. ex., pneumonia, gastrenterite, meningite). O manejo clínico da infecção é determinado pela capacidade de desenvolver um diagnóstico diferencial, ou seja, é fundamental saber quais os organismos mais comumente associados a um determinado processo infeccioso. O desenvolvimento de uma infecção depende de interações complexas entre (1) a suscetibilidade do hospedeiro à infecção; (2) o potencial de virulência do organismo; e (3) a oportunidade de interação entre o hospedeiro e o microrganismo. É impossível resumir em um único capítulo as interações complexas que levam ao desenvolvimento de doença em cada sistema orgânico. Esse é o assunto de textos detalhados sobre doenças infecciosas. Ao contrário, este capítulo pretende apresentar uma ampla visão das bactérias comumente associadas a infecções localizadas em sítios específicos do corpo e que levam a manifestações clínicas específicas (Tabs. 47-1 a 47-5). Uma vez que diversos fatores influenciam na relativa frequência com que organismos particulares causam doenças (p. ex., idade, doença de base, fatores epidemiológicos, imunidade do hospedeiro), nenhuma tentativa em definir todos os fatores associados a doenças causadas por organismos específicos é realizada. Esse material é fornecido, em parte, pelos capítulos anteriores deste livro e por outros textos relacionados a doenças infecciosas. Além disso, o papel de fungos, vírus e parasitas não é considerado aqui, mas, sim, nas seções seguintes.

Tabela 47-1 Visão Geral de Bactérias Patogênicas Selecionadas – *Continuação*

Tabela 47-1. Visão Geral de Bactérias Patogênicas Selecionadas

Organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Fatores de Virulência	Tratamento
Cocos Gram Positivos Aeróbios e Anaeróbios Facultativos				
Enterococcus faecalis e *E. faecium*	Bacteremia, abscesso intra-abdominal, infecção do trato urinário, endocardite	Pacientes idosos e que tenham sido hospitalizados por períodos longos recebendo antibióticos de largo espectro	Relativamente avirulento	Penicilina/ampicilina ou vancomicina; combinada com gentamicina para endocardite ou infecção severa
Staphylococcus aureus	Infecções cutâneas: impetigo, foliculite, furúnculos, carbúnculos, feridas; infecções disseminadas: pneumonia, empiema, osteomielite, artrite séptica; infecções mediadas por toxinas: síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada, intoxicação alimentar, infecções comunitárias	Coloniza a pele e mucosas dos seres humanos; sobrevive em superfícies no ambiente, capaz de crescer em temperaturas extremas e em altas concentrações de sal	Apresenta parede celular de peptidoglicano espessa, cápsula, proteína A, diversas toxinas (citotoxinas, toxinas esfoliativas, enterotoxinas, toxina da síndrome do choque tóxico, leucocidina Panton Valentine [PV]) e enzimas hidrolíticas	Oxacilina; vancomicina (para cepas resistentes à oxacilina)

(Continua)

Tabela 47-1. Visão Geral de Bactérias Patogênicas Selecionadas – *Continuação*

Organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Fatores de Virulência	Tratamento
Staphylococcus, coagulase negativo	Patógeno oportunista causador de infecções em corpos estranhos (p. ex., cateteres, *shunts*, articulações protéticas e válvulas cardíacas); infecções do trato urinário (p. ex., *S. saprophyticus*); endocardite de válvula nativa (*S. lugdunensis*)	Coloniza a pele e mucosa dos seres humanos; sobrevive em superfícies ambientais, capaz de crescer a temperaturas extremas	Possui peptidoglicano espesso e camada limosa frouxa de polissacarídeo; *S. saprophyticus* produz altas concentrações de urease	Oxacilina; vancomicina (para cepas resistentes à oxacilina)
Streptococcus pyogenes (grupo A)	Infecções supurativas: faringite, escarlatina, sinusite, infecções da pele e tecidos moles (impetigo, erisipela, celulite, fasciite necrotizante), síndrome semelhante à do choque tóxico; infecções não supurativas: febre reumática, glomerulonefrite	Diversas populações	Cápsula, proteína M, proteína homóloga a M, proteína F, exotoxinas pirogênicas, estreptolisina S e O, estreptoquinase desoxiribonuclease (DNase); CSA peptidase	Penicilina, macrolídeos, cefalosporinas, clindamicina, vancomicina; desbridamento cirúrgico para fasciite necrotizante
Streptococcus agalactiae (grupo B)	Doença neonatal (de início precoce, de início tardio, bacteremia, pneumonia, meningite), infecções do trato urinário, bacteremia, pneumonia	Recém-nascidos; mulheres grávidas, pacientes com diabetes, câncer ou alcoolismo	Similar ao grupo A, mas sem cápsula	Penicilina, macrolídeos, cefalosporinas, clindamicina, vancomicina; penicilina e aminoglicosídeos para infecções graves
Outros estreptococos β-hemolíticos	Faringite, otite, sinusite, infecções de pele e tecidos moles, impetigo, erisipela, celulite, fasciite necrotizante	Diversas populações	Similar ao *Streptococcus* do grupo A	Penicilina (antimicrobiano de escolha), macrolídeos, cefalosporinas, clindamicina, vancomicina; desbridamento cirúrgico para fasciite necrotizante
Estreptococos viridans	Formação de abscessos; septicemia em pacientes neutropênicos; endocardite subaguda; infecções odontogênicas; cárie dentária	Pacientes com válvulas cardíacas anormais	Relativamente avirulentos	Penicilina; penicilina combinada com aminoglicosídeo
Streptococcus pneumoniae	Pneumonia e outras infecções do trato respiratório, meningite, peritonite bacteriana espontânea, endocardite, artrite séptica, bacteremia	Diversos: neonatos, crianças, adultos com doenças crônicas, pessoas idosas	Cápsula de polissacarídeo; ácido teicoico; proteases da imunoglobulina (Ig) A; pneumolisina O	Penicilina; levofloxacina, cefalosporinas, clindamicina

Tabela 47-2 Resumo das Bactérias Associadas a Doenças Humanas

Sistema Afetado	**Patógenos**
Infecções do Trato Respiratório Superior	
Faringite	***Streptococcus pyogenes***, *Streptococcus* do grupo C, *Arcanobacterium haemolyticum, Chlamydophila pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Corynebacterium diphtheriae, Corynebacterium ulcerans, Mycoplasma pneumoniae, Francisella tularensis*
Sinusite	***Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae***, **mistura de anaeróbios e aeróbios, *Moraxella catarrhalis*,** *Staphylococcus aureus, Streptococcus* do grupo A, *Chlamydophila pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* e outros bacilos Gram negativos
Epiglotite	*Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus*
Infecções do Ouvido	
Otite externa	***Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus***, *Streptococcus* do grupo A
Otite média	***Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis***, *Staphylococcus aureus, Streptococcus* do grupo A, mistura de aeróbios e anaeróbios
Infecções Oculares	
Conjuntivite	***Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae***, ***Haemophilus aegyptius***, *Neisseria gonorrhoeae, Pseudomonas aeruginosa, Francisella tularensis, Chlamydia trachomatis*
Queratite	***Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa*,** *Streptococcus* do grupo A, *Proteus mirabilis* e outras *Enterobacteriaceae, Bacillus* spp., *Neisseria gonorrhoeae*
Endoftalmite	***Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa***, *Staphylococcus* coagulase negativo, *Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp.
Infecções Pleuropulmonares e Brônquicas	
Bronquite	***Moraxella catarrhalis, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae***, *Bordetella pertussis, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae*

Empiema	***Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus* do grupo A**, *Bacteroides fragilis, Klebsiella pneumoniae* e outras *Enterobacteriaceae, Actinomyces* spp., *Nocardia* spp., *Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies
Pneumonia	***Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae* e outras Enterobacteriaceae**, *Moraxella catarrhalis, Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Mycoplasma pneumoniae, Chl™amydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae, Chlamydophila psittaci, Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia* spp., *Legionella* spp., *Francisella tularensis, Bacteroides fragilis, Nocardia* spp., *Rhodococcus equi, Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies, *Coxiella burnetii, Rickettsia rickettsii* e muitas outras espécies
Infecções do Trato Urinário	
Cistite e pielonefrite	***Escherichia coli, Proteus mirabilis*, outras *Enterobacteriaceae***, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus* do grupo B, *Enterococcus* spp., *Aerococcus urinae, Mycobacterium tuberculosis*
Cálculos Renais	***Proteus* spp.**, *Morganella morganii, Klebsiella pneumoniae, Corynebacterium urealyticum, Staphylococcus saprophyticus, Ureaplasma urealyticum*
Abscesso Renal	***Staphylococcus aureus***, mistura de aeróbios e anaeróbios, *Mycobacterium tuberculosis*
Prostatite	***Escherichia coli***, *Klebsiella pneumoniae*, outras *Enterobacteriaceae, Enterococcus* spp., *Neisseria gonorrhoeae, Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies
Infecções Intra-abdominais	
Peritonite	***Escherichia coli, Bacteroides fragilis* e outras espécies, *Enterococcus* spp.**, *Klebsiella pneumoniae*, outras *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., mistura de cocos anaeróbios, *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycobacterium tuberculosis*
Peritonite associada à diálise	***Staphylococcus* coagulase negativo**, *Staphylococcus aureus, Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Escherichia coli* e outras *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter* spp.
Infecções cardiovasculares	
Endocardite	***Streptococcus viridans, Staphylococcus* coagulase negativa**, *Staphylococcus aureus*, grupo HACEK, *Streptococcus pneumoniae, Abiotrophia* spp., *Rothia mucilaginosa, Enterococcus* spp., *Bartonella* spp., *Coxiella burnetii, Brucella* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae, Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp.
Miocardite	*Corynebacterium diphtheriae, Clostridium perfringens, Streptococcus* do grupo A, *Borrelia burgdorferi, Neisseria meningitidis, Staphylococcus aureus, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, Chlamydophila psittaci, Rickettsia rickettsii, Orientia tsutugamushi*
Pericardite	*Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Mycoplasma pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies
Sepse	
Sepse	***Staphylococcus aureus, Staphylococcus* coagulase negativo, *Escherichia coli***, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis*, outras

generalizada	*Enterobacteriaceae, Streptococcus pneumoniae* e outras espécies, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, muitas outras bactérias
Sepse associada à transfusão	***Staphylococcus* coagulase negativo**, *Staphylococcus aureus, Yersinia enterocolitica*, grupo *Pseudomonas fluorescens, Salmonella* spp., outras *Enterobacteriaceae, Campylobacter jejuni* e outras espécies, *Bacillus cereus* e outras espécies
Tromboflebite séptica	***Staphylococcus aureus, Bacteroides fragilis***, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa, Fusobacterium* spp.
Infecções do Sistema Nervoso Central	
Meningite	***Streptococcus* do grupo B, *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis***, *Listeria monocytogenes, Haemophilus influenzae, Escherichia coli*, outras *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Staphylococcus* coagulase negativo, *Propionibacterium* spp., *Nocardia* spp., *Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies, *Borrelia burgdorferi, Leptospira* spp., *Treponema pallidum, Brucella* spp.
Encefalite	*Listeria monocytogenes, Treponema pallidum, Leptospira* spp., *Actinomyces* spp., *Nocardia* spp., *Borrelia* spp., *Rickettsia rickettsii, Coxiella burnetii, Mycoplasma pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies
Abscesso cerebral	***Staphylococcus aureus, Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., outros cocos anaeróbios**, *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa*, estreptococos *viridans, Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Actinomyces* spp., *Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes, Nocardia* spp., *Rhodococcus equi, Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies
Empiema subdural	***Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae***, *Streptococcus* do grupo B, *Neisseria meningitidis*, mistura de aeróbios e anaeróbios
Infecções de Pele e Tecidos Moles	
Impetigo	***Streptococcus* do Grupo A, *Staphylococcus aureus***
Foliculite	***Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa***
Furúnculo e carbúnculo	***Staphylococcus aureus***
Paroniquia	***Staphylococcus aureus, Streptococcus* do Grupo A**, *Pseudomonas aeruginosa*
Erisipela	***Streptococcus* do Grupo A**
Celulite	***Streptococcus* do Grupo A, *Staphylococcus aureus***, *Haemophilus influenzae*, muitas outras bactérias
Celulite e fasciite necrotizantes	***Streptococcus* do Grupo A, *Clostridium perfringens*** e outras espécies, *Bacteroides fragilis*, outros anaeróbios, *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa*
Angiomatose bacilar	***Bartonella henselae, Bartonella quintana***
Infecções de queimaduras	***Pseudomonas aeruginosa***, *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus, Streptococcus* do grupo A, muitas outras bactérias
Feridas por mordida	***Eikenella corrodens, Pasteurella multocida***, *Pasteurella canis, Staphylococcus aureus, Streptococcus* do Grupo A, mistura de aeróbios e anaeróbios, muitos bacilos Gram negativos
Feridas cirúrgicas	***Staphylococcus aureus***, *Staphylococcus* coagulase negativa, Estreptococus dos grupos A e B, *Clostridium perfringens, Corynebacterium* spp., muitas outras bactérias
Feridas	***Bacillus* spp.**, ***Staphylococcus aureus***, *Streptococcus* do grupo A, muitos

traumáticas	bacilos Gram negativos, micobactérias de crescimento rápido
Infecções Gastrintestinais	
Gastrite	***Helicobacter pylori***
Gastroenterite	***Salmonella* spp.**, ***Shigella* spp.**, ***Campylobacter jejuni* e outras espécies**, *Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus*, outras espécies *de Vibrios, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli* (ETEC, EIEC, EHEC, EPEC, outras), *Edwardsiella tarda, Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides, Bacteroides fragilis, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Clostridium difficile*
Intoxicação alimentar	***Staphylococcus aureus, Bacillus cereus***, *Clostridium botulinum, Clostridium perfringens*
Proctite	***Neisseria gonorrhoeae***, *Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum*
Infecções de Ossos e Articulações	
Osteomielite	***Staphylococcus aureus, Salmonella* spp.**, *Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies, *Streptococcus* β-hemolítico, *Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli* e outras *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa*, muitas bactérias menos comuns
Artrite	***Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae***, *Streptococcus pneumoniae, Salmonella* spp., *Pasteurella multocida, Mycobacterium* spp.
Infecções associadas a próteses	***Staphylococcus aureus, Staphylococcus* coagulase negativa**, *Streptococcus* do grupo A, estreptococos *viridans, Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., outros cocos anaeróbios
Infecções Genitais	
Úlceras genitais	***Treponema pallidum, Haemophilus ducreyi***, *Chlamydia trachomatis, Francisella tularensis, Klebsiella granulomatis, Mycobacterium tuberculosis*
Uretrite	***Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis***, *Ureaplasma urealyticum*
Vaginite	***Mycoplasma hominis, Mobiluncus* spp.**, ***Gardnerella vaginalis***
Cervicite	***Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis***, *Neisseria meningitidis, Streptococcus* do grupo B, *Mycobacterium tuberculosis, Actinomyces* spp.
Infecções Granulomatosas	
Gerais	***Mycobacterium tuberculosis* e outras espécies, *Nocardia* spp.**, ***Treponema pallidum***, *Treponema carateum, Brucella* spp., *Francisella tularensis, Listeria monocytogenes, Burkholderia pseudomallei, Actinomyces* spp., *Bartonella henselae, Tropheryma whippelii, Chlamydia trachomatis, Coxiella burnetii*

EHEC, E. coli *entero-hemorrágica; EIEC*, E. coli; *enteroinvasiva; EPEC*, E. coli; *enteropatogênica; ETEC*, E. coli; *enterotoxigênica; grupo HACEK:* Haemophilus influenzae, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens e Kingella kingae. *Os organismos em negrito são os patógenos mais comuns*.

Tabela 47-3 Bactérias Selecionadas Associadas a Intoxicações Alimentares

Organismo	**Alimento(s) Implicado(s)**
Aeromonas spp.	Carnes, produtos lácteos
Bacillus cereus	Arroz cozido, carnes, vegetais
Brucella spp.	Produtos lácteos não pasteurizados, carne
***Campylobacter* spp.**	Aves, produtos lácteos não pasteurizados
Clostridium botulinum	Vegetais, frutas, peixe, mel
Clostridium perfringens	Carne de boi, de ave, de porco
Escherichia coli	
Entero-hemorrágica	Carne de boi, leite não pasteurizado, suco de frutas
Enterotoxigênica	Alface, frutas, vegetais
Enteroinvasiva	Alface, frutas, vegetais
Francisella tularensis	Carne de coelho
Listeria monocytogenes	Produtos lácteos não pasteurizados, aves, repolho cru, cortes de carnes frios
Plesiomonas shigelloides	Frutos do mar
***Salmonella* spp.**	Aves, produtos lácteos não pasteurizados

***Shigella* spp.**	Ovos, alface
Staphylococcus aureus	Presunto, frango, pratos à base de ovos, massas
Streptococcus do grupo A	Pratos à base de ovos
Vibrio cholerae	Frutos do mar
Vibrio parahaemolyticus	Frutos do mar
Vibrio vulnificus	Frutos do mar
Yersinia enterocolitica	Produtos lácteos não pasteurizados, carne de porco

Os organismos em negrito são os patógenos causadores de intoxicação alimentar mais comuns nos Estados Unidos. (Morb Mortal Wkly Rep 56:336-339, 2007.)

Tabela 47-4 Bactérias Selecionadas Associadas a Doenças Transmitidas pela Água

Organismo	Doença
Aeromonas spp.	Gastrenterite, infecções de ferida, septicemia
Campylobacter spp.	Gastrenterite
Escherichia coli	Gastrenterite
Francisella tularensis	Tularemia
***Legionella* spp.**	Doença respiratória
Leptospira spp.	Doença sistêmica
Mycobacterium marinum	Infecção cutânea
Plesiomonas shigelloides	Gastrenterite
***Pseudomonas* spp.**	Dermatite
Salmonella spp.	Gastrenterite
Shigella spp.	Gastrenterite
***Vibrio* spp.**	Gastrenterite, infecções de ferida, septicemia
Yersinia enterocolitica	Gastrenterite

Os organismos em negrito são os patógenos causadores de doenças transmitidas pela água mais comum nos Estados Unidos. (Morb Mortal Wkly Rep 55:1-30, 2006.)

Tabela 47-5 Doenças Associadas a Artrópodes

Artrópode	Organismo	Doença
Carrapatos	*Anaplasma phagocytophilum*	Anaplasmose humana (anteriormente denominada ehrlichiose granulocítica humana)
	Borrelia burgdorferi	Doença de Lyme
	Borrelia garinii	Doença de Lyme
	Borrelia afzelii	Doença de Lyme
	Outras espécies de *Borrelia*	Febre endêmica recorrente
	Coxiella burnetii	Febre Q
	Ehrlichia chaffeensis	Ehrlichiose monocítica humana
	Ehrlichia ewingii	Ehrlichiose granulocítica canina (humana)
	Francisella tularensis	Tularemia
	Rickettsia rickettsii	Febre das montanhas rochosas
Pulgas	*Rickettsia prowazekii*	Tifo exantemático
	Rickettsia typhi	Tifo endêmico
	Yersinia pestis	Peste
Piolhos	*Bartonella quintana*	Febre de trincheira
	Borrelia recurrentis	Febre epidêmica recorrente
	Rickettsia	

	Rickettsia prowazekii	Tifo epidêmico
Ácaros	*Rickettsia akari*	Varíola Rickettsial
	Orientia tsutsugamushi	Tifo rural
Mosquitos	*Bartonella bacilliformis*	Bartonelose (doença de Carrión)

Bibliografia

Borriello P, Murray P, Funke G, editors, 10th ed. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections: Bacteriology. London: Hodder. 2005.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Kasper D, et al, editors, 16th ed. Harrison's Principles of Internal Medicine. New York: McGraw-Hill. 2004.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors, 6th ed. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone. 2005.

Murray P, Shea Y. Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed. Washington DC: ASM Press, 2004.

Murray PR, et al, editors, 9th ed. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press. 2007.

Seção 6
Virologia

48 Mecanismos de Patogênese Viral

Os vírus causam doenças quando atravessam as barreiras de proteção natural do corpo, escapam do controle imune e matam as células de um tecido importante (p. ex., o cérebro) ou então desencadeiam uma resposta imune inflamatória destruidora. As consequências de uma inflamação viral são determinadas pela natureza da interação vírus-hospedeiro e pela resposta do hospedeiro à infecção (Quadro 48-1). O melhor tratamento é a resposta imune mas, com frequência, ela contribui para a patogênese da infecção viral. O tecido visado pelo vírus define a natureza da doença e seus sintomas. Fatores virais e do hospedeiro governam a intensidade da doença. Estes fatores incluem a cepa do vírus, o tamanho do inóculo e o estado geral de saúde da pessoa infectada. A habilidade da resposta imune dessa pessoa em controlar a infecção determina a intensidade e a duração da doença.

Quadro 48-1 Determinantes da Doença Viral

Natureza da Doença

Tecido-alvo

Porta de entrada do vírus

Acesso do vírus ao tecido-alvo

Tropismo de tecido do vírus

Permissividade das células à replicação viral

Patógeno viral (cepa)

Habilidade citopática do vírus

Estado imune

Competência do sistema imune

Imunidade anterior ao vírus

Imunopatologia

Tamanho do inóculo viral

Tempo decorrido antes da resolução da infecção

Saúde geral da pessoa

Nutrição

Outras doenças que influenciam o estado imune

Constituição genética da pessoa

Idade

Uma determinada doença pode ser causada por vários vírus que possuam **tropismo** (preferência) comum por um tipo de tecido como hepatite, fígado; resfriado comum, trato respiratório superior; encefalite, sistema nervoso central. Por outro lado, um vírus em especial pode causar várias doenças diferentes ou ausência de sintomas visíveis. Por exemplo, o vírus herpes simples (HSV) tipo 1 (HSV-1) pode causar gengivoestomatite, faringite, herpes labial, herpes genital, encefalite ou ceratoconjuntivite, dependendo do tecido afetado, ou então não causar doença alguma. Embora seja normalmente benigno, esse vírus pode ser potencialmente fatal em um recém-nascido ou em uma pessoa imunocomprometida.

Muitos vírus codificam atividades (**fatores de virulência)** que promovem a eficiência da replicação viral, a transmissão viral, o acesso e adesão do vírus ao tecido-alvo ou a fuga do vírus das defesas do hospedeiro e da resolução pelo sistema imune (Cap. 12). Essas atividades podem não ser essenciais para o crescimento viral em cultura tecidual, mas são necessárias à patogenicidade ou sobrevivência do vírus no hospedeiro. A perda desses fatores de virulência resulta na **atenuação** do vírus. Muitas vacinas de vírus-vivos são, na verdade, cepas de vírus atenuados.

Este capítulo focaliza a doença viral ao nível celular (citopatogênese), ao nível do hospedeiro (mecanismos da doença) e ao nível da população (epidemiologia e controle). A resposta imune antiviral é discutida aqui e no Capítulo 12.

Passos Básicos na Doença Viral

No corpo, a doença viral progride por meio de passos definidos, da mesma forma que a replicação viral na célula (Fig. 48-1A). Esses passos são apresentados no Quadro 48-2.

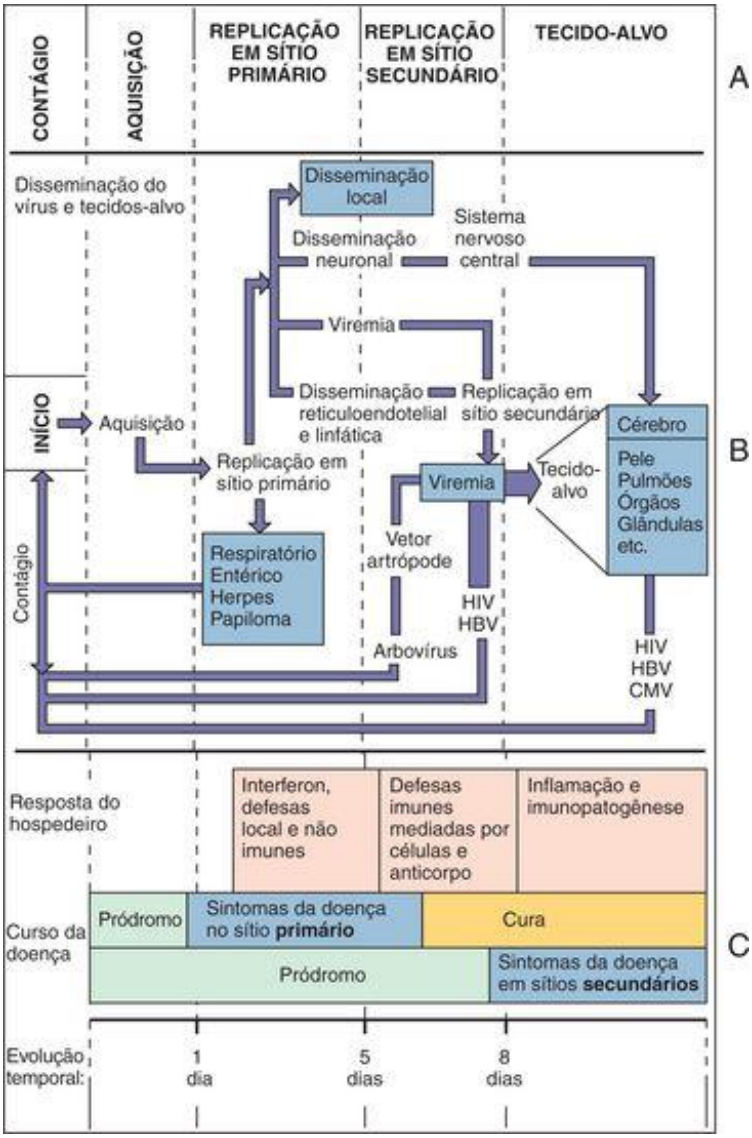


Figura 48-1 **A**, Os estágios da infecção viral. O vírus é liberado por uma pessoa e adquirido por outra, se replica e inicia uma infecção primária no sítio da aquisição. Dependendo do vírus, ele poderá então se disseminar para outros sítios do corpo e, por fim, atingir o tecido-alvo característico da doença. **B**, O ciclo tem início com a aquisição, conforme indicado, e prossegue até a liberação de novos vírus. A espessura da seta indica o grau de amplificação do inóculo viral inicial. Os quadros indicam um sítio ou causa dos sintomas. **C**, Evolução temporal da infecção viral. A duração dos sintomas e da resposta imune se correlaciona com o estágio da infecção viral e depende da capacidade do vírus causar sintomas no sítio primário ou somente após a disseminação para outro sítio (secundário). CMV: citomegalovírus; HBV: vírus da hepatite B; HIV: vírus da imunodeficiência humana.

Quadro 48-2 Progressão das Doenças Virais

1 **Aquisição** (entrada no organismo).

2 Início da infecção no sítio primário.

3 Ativação da imunidade inata.

4 **Período de incubação**, quando o vírus é amplificado e pode se disseminar para um sítio secundário.

5 Replicação no **tecido-alvo**, que causa os sinais característicos da doença.

6 **Respostas imunes** que limitam e contribuem (imunopatogênese) para a doença.

7 Produção do vírus em um tecido liberando-o para outras pessoas, ocorrendo o **contágio**.

8 **Resolução** ou **infecção persistente**

O período de incubação pode evoluir sem sintomas (**assintomático**) ou produzir sintomas precoces não definidos como febre, dor de cabeça e no corpo ou calafrios, num quadro denominado **pródromo**. Os sintomas da doença são causados por danos teciduais e efeitos sistêmicos são causados pelo vírus e, possivelmente, pelo sistema imune. Esses sintomas podem persistir durante a **convalescença**, enquanto o corpo repara os danos. Geralmente, o indivíduo desenvolve uma memória desta resposta imunológica para proteção futura contra um desafio similar contra esse mesmo vírus.

Infecção do Tecido-alvo

O vírus **tem acesso ao corpo** por meio de fissuras na pele (cortes, mordidas, injeções) ou através das membranas mucoepiteliais que revestem os orifícios do corpo (olhos, trato respiratório, boca, genitália e trato gastrointestinal). A pele é uma barreira excelente contra a infecção. Lágrimas, muco, epitélio ciliado, ácido estomacal, bile e a imunoglobina A protegem esses orifícios. *E provavelmente, inalação é a via mais comum de infecção viral*.

Ao penetrar no corpo, o vírus se replica em células que expressam receptores virais e possuem o maquinário biossintético apropriado. Muitos vírus iniciam a infecção na mucosa oral ou no trato respiratório superior e os sinais da doença podem acompanhar a replicação viral no sítio primário. O vírus pode se replicar e permanecer no sítio primário, ou então se disseminar para outros tecidos via corrente sanguínea, via sistema mononuclear fagocitário e linfático, ou ainda via neurônios (Fig. 48-1B).

A corrente sanguínea e o sistema linfático são os meios predominantes de transferência viral no corpo. O vírus obtém acesso a esses meios após dano ao tecido, mediante absorção por macrófagos ou no transporte através das células mucoepiteliais da orofaringe, do trato gastrintestinal, da vagina ou do ânus. Vários vírus entéricos (picornavírus e reovírus) aderem aos receptores em células M, que os translocam para as placas de Peyer subjacentes do sistema linfático.

Viremia é o nome dado ao transporte do vírus na corrente sanguínea. O vírus pode ou estar livre no plasma ou associado à célula em linfócitos ou macrófagos. Os vírus absorvidos pelos macrófagos fagocitários podem estar inativados, podem se replicar ou podem ser enviados a outros tecidos. A replicação de um vírus em macrófagos, no revestimento endotelial de vasos sanguíneos ou no fígado pode causar aumento da infecção e iniciar o desenvolvimento de **viremia secundária**. Em muitos casos, essa segunda viremia antecede o envio do vírus ao **tecido-alvo** (p. ex., fígado, cérebro, pele) e a manifestação dos sintomas.

Os vírus podem ter acesso ao sistema nervoso central ou ao cérebro (1) pela corrente sanguínea (p. ex., encefalite por arbovírus); (2) pelas meninges ou pelo líquido cefalorraquidiano infectados; (3) pela migração de macrófagos infectados; ou (4) pela infecção de neurônios periféricos e sensoriais (olfatórios). As meninges são acessíveis a muitos dos vírus disseminados por viremia, as quais também podem fornecer acesso aos neurônios. Os vírus herpes simples, varicela-zóster e da raiva infectam inicialmente o mucoepitélio, a pele ou o músculo e só depois atingem o neurônio de inervação periférica, que transporta o vírus para o sistema nervoso central ou para o cérebro.

Patogênese Viral

Citopatogênese

A infecção viral de uma célula pode apresentar três consequências em potencial (Quadro 48-3 e Tab. 48-1):

1. Falha da infecção (infecção abortiva)
2. Morte da célula (infecção lítica)
3. Replicação sem morte da célula (infecção persistente)

Quadro 48-3 Determinantes da Patogênese Viral

Interação de Vírus com Tecido-alvo

Acesso do vírus ao tecido-alvo.

Estabilidade do vírus no corpo:
- Temperatura
- Ácido e bile do trato gastrointestinal

Habilidade de cruzar a barreira da pele ou as células epiteliais mucosas (p. ex., cruzam o trato gastrointestinal para a corrente sanguínea).

Habilidade de estabelecer viremia.

Habilidade de disseminação através do sistema reticuloendotelial

Tecido-alvo:
- Especificidade de proteínas de ligação viral
- Expressão de receptores específicos para o tecido

Atividade Citopatológica do Vírus

Eficiência de replicação viral na célula:
- Temperatura ótima para a replicação
- Permissividade da célula para a replicação

Proteínas virais citotóxicas

Inibição da síntese macromolecular da célula

Acúmulo de proteínas e de estruturas virais (corpúsculos de inclusão)

Metabolismo celular alterado (p. ex., imortalização da célula)

Respostas Protetoras do Hospedeiro

Respostas antivirais não específicas ao antígeno:
- Interferon
- Células *natural killer* (NK) e macrófagos

Respostas imunes específicas ao antígeno
- Respostas das células T
- Respostas mediadas por anticorpos

Mecanismos virais de escape das respostas imunes

Imunopatologia

Interferon: sintomas sistêmicos semelhantes aos da gripe.

Respostas de células T: hipersensibilidade do tipo tardio.

Anticorpo: complemento, citotoxicidade celular dependente de anticorpo, complexos imunes.

Outras respostas inflamatórias.

Tabela 48-1 Tipos de Infecções Virais ao Nível Celular

Tipo	Produção Viral	Destino da Célula
Abortiva	-	Sem efeito
Citotóxica	+	Morte
Persistente		
Produtiva	+	Senescência
Latente	-	Sem efeito
Transformadora		
Vírus de DNA	-	Imortalização
Vírus de RNA	+	Imortalização

Os mutantes virais, que causam infecções abortivas, não se multiplicam e, portanto, desaparecem. As infecções persistentes podem ser (1) **crônicas** (não líticas, produtivas); (2) **latentes** (macromolecular viral limitada, mas sem síntese viral); (3) **recorrentes**; ou (4) **de transformação** (imortalizantes).

A natureza da infecção é determinada pelas características do vírus e da célula-alvo. Uma **célula não permissiva** pode não ter um receptor, uma via enzimática importante, um ativador de transcrição, ou expressar um mecanismo antiviral que não permitirá a replicação de um tipo ou cepa especial de vírus. Por exemplo, neurônios e células que não crescem não possuem o maquinário e os substratos para a replicação de um vírus de DNA. Essas células também podem limitar a quantidade de síntese proteica dentro das células pela fosforilação de eIF2α (fator 2 alfa de iniciação de alongamento) para prevenir a montagem dos ribossomos sobre o mRNA, que fecha a síntese proteica. Essa proteção pode ser desencadeada pela grande quantidade de síntese de proteína exigida para a produção do vírus ou ativação do estado antiviral induzido por interferon-α (IFN-α) ou interferon-β (IFN-β) por um intermediário de replicação de RNA de filamento duplo. Os vírus herpes e alguns outros vírus evitam esse processo ao inibirem a ação da enzima de fosforilação (proteína quinase R) ou ativando um processo de fosfatase celular proteica para remover o fosfato em eIF2α. Outro exemplo é a APOBEC3, uma enzima que causa a inativação por hipermutação do cDNA dos retrovírus. A proteína fator de infectividade viral (Vif) do vírus da imunodeficiência humana supera esse bloqueio ao promover a degradação da APOBEC3.

Uma **célula permissiva** fornece o maquinário biossintético (p. ex. fatores de transcrição, enzimas de processamento pós-traducional) para dar suporte ao ciclo completo de replicação do vírus. A replicação do vírus em uma **célula semipermissiva** pode ser muito ineficiente, ou a célula pode suportar alguns, mas não todos os passos na replicação viral.

A replicação do vírus pode iniciar alterações nas células que levam à citólise ou a alterações na aparência, propriedades funcionais ou antigenicidade da célula. Os efeitos sobre a célula podem resultar do controle da síntese macromolecular pelo vírus, do acúmulo de proteínas ou partículas virais, modificação ou rompimento das estruturas celulares ou manipulação de funções celulares (Tab. 48-2).

Tabela 48-2 Mecanismos de Citopatogênese Viral

Mecanismo	Exemplos
Inibição da síntese da proteína celular	Poliovírus, vírus herpes simples, togavírus, poxvírus
Inibição e degradação do DNA celular	Herpesvírus
Alteração da estrutura da membrana celular	Vírus envelopados
Inserção de glicoproteína	Todos os vírus envelopados
Formação de sincícios	Vírus herpes simples, vírus varicela-zóster, paramixovírus, vírus da imunodeficiência humana
Rompimento de citoesqueleto	Vírus não envelopados (acúmulo), vírus herpes simples
Permeabilidade	Togavírus, herpesvírus

Corpos de Inclusão	Exemplos

Corpos de Negri (intracitoplásmicos)	Raiva
“Olhos de coruja” (intranuclear)	Citomegalovírus
Cowdry tipo A (intranuclear)	Vírus herpes simples, vírus da panencefalite esclerosante subaguda (sarampo)
Basofílicos intranucleares	Adenovírus
Acidofílicos intracitoplásmicos	Poxvírus
Acidofílicos citoplásmicos perinucleares	Reovírus
Toxicidade de componentes do vírion	Fibras de adenovírus, proteína NSP4 do reovírus

Infecções Líticas

Essas infecções se desenvolvem quando a replicação do vírus destrói a célula-alvo. Alguns vírus impedem o crescimento e o reparo inibindo a síntese de macromoléculas celulares ou produzindo enzimas de degradação e proteínas tóxicas. Por exemplo, o HSV e outros vírus produzem proteínas que inibem a síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA) celular e do RNA mensageiro (mRNA) e sintetizam outras proteínas que degradam o DNA do hospedeiro viabilizando a replicação do genoma viral. A síntese das proteínas celulares pode ficar bloqueada ativamente (p. ex., o poliovírus inibe a translação do mRNA celular 5′ *cap*) ou passivamente (p. ex., pela produção de boa parte do mRNA viral que compete por ribossomos) (Cap. 4).

A replicação do vírus e o acúmulo de componentes virais e de progênie dentro da célula podem romper a estrutura e o funcionamento da célula ou romper os lisossomos, causando a morte celular. A expressão de antígenos virais na superfície da célula e o rompimento do citoesqueleto podem alterar as interações intercelulares e a aparência da célula, tornando-a um alvo para a citólise imune.

A infecção por vírus ou as respostas citolíticas imunes podem induzir a **apoptose** na célula infectada. Apoptose é uma cadeia predefinida de episódios que, quando desencadeada, leva ao suicídio celular. Esse processo pode facilitar a liberação do vírus da célula, mas também limita a quantidade de vírus produzidos ao destruir a “fábrica” viral. Como resultado, *muitos vírus (p. ex., vírus herpes, adenovírus, vírus da hepatite C) codificam métodos para inibir a apoptose*.

A expressão das glicoproteínas de alguns paramixovírus, herpesvíruse retrovírus na superfície da célula desencadeia a fusão das células da vizinhança em células gigantes multinucleadas chamadas **sincícios**. A fusão célula com célula pode ocorrer na falta de nova síntese proteica (fusão a partir de fora), como ocorre nas infecções com o vírus Sendai e com outros paramixovírus, ou pode exigir nova síntese proteica (fusão a partir de dentro), como ocorre na infecção por HSV. A formação de sincícios permite que o vírus se espalhe de uma célula para outra e escape da detecção pelos anticorpos. Os sincícios podem ser frágeis e suscetíveis à lise e aqueles que se formam na infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) também causam a morte das células.

Algumas infecções virais causam alterações características na aparência e nas propriedades das células-alvo. Por exemplo, as aberrações e a degradação cromossômicas podem ocorrer e ser detectadas com coloração histológica (p. ex. cromatina marginada ao redor da membrana nuclear nas células infectadas por HSV e por adenovírus). Além disso, estruturas novas e passíveis de coloração, chamadas **corpos de inclusão**, podem aparecer dentro do núcleo ou do citoplasma. Essas estruturas podem resultar de alterações induzidas por vírus na membrana ou estrutura cromossômica ou podem representar os sítios de

replicação viral ou ainda o acúmulo de capsídeos virais. Sabe-se que a natureza e a localização desses corpos de inclusão são características de infecções virais especiais, a presença desses corpos facilita o diagnóstico laboratorial (Tab. 48-2). A infecção viral também pode causar vacuolização, ou arredondamento das células, e outras alterações histológicas não específicas que são características de células doentes.

Infecções não Líticas

Infecção persistente é aquela que ocorre em uma célula infectada que não é morta pelo vírus. Alguns vírus causam infecção persistente produtiva porque o vírus é liberado suavemente da célula por meio da exocitose ou por meio de brotamento (muitos vírus envelopados) a partir da membrana do plasma.

Infecção latente é aquela que resulta da infecção com vírus de DNA de uma célula que restringe ou perde o maquinário para a transcrição de todos os genes virais. Os fatores de transcrição específicos exigidos por esse tipo de vírus podem ser expressos somente em tecidos específicos e em células em crescimento, mas não em repouso, ou após a indução de hormônio ou citocina. Por exemplo, o HSV estabelece uma infecção latente em neurônios que perdem os fatores nucleares exigidos para transcrever os genes virais precoces imediatos, mas o estresse e outros estímulos podem ativar as células para permitir a replicação viral.

Vírus Oncogênicos

Alguns vírus de DNA e retrovírus estabelecem infecções persistentes que também podem estimular o crescimento celular descontrolado, causando a **transformação** ou **imortalização** da célula (Fig. 48-2). As características das células transformadas incluem: crescimento contínuo sem envelhecimento, alterações na morfologia e no metabolismo celular, taxa aumentada de crescimento celular e de transporte de açúcar, perda de inibição de crescimento por contato celular e habilidade de crescerem em suspensão ou amontoadas para dentro de focos, quando cultivadas para crescimento em meio de agar semissólido.

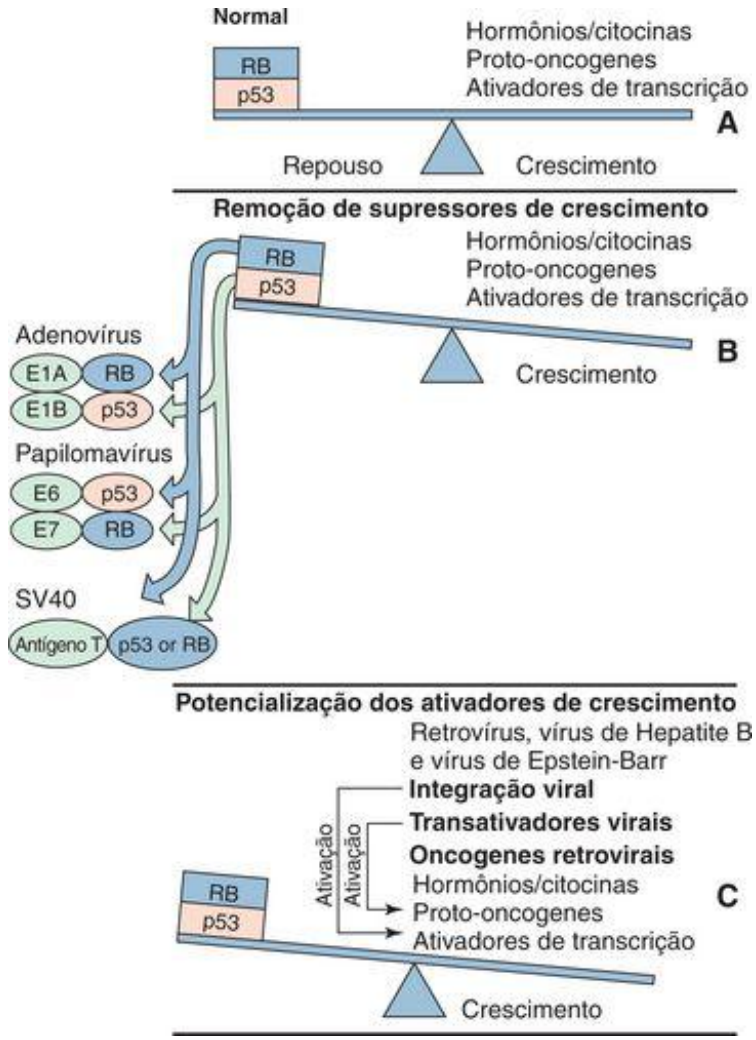


Figura 48-2 Mecanismos de transformação e de imortalização viral. O crescimento celular é controlado (**A**) pela manutenção do equilíbrio nos ativadores de crescimento externo e interno (aceleradores) e por supressores de crescimento, como os produtos genéticos p53 e RB (freios). Os vírus oncogênicos alteram o equilíbrio removendo estes freios (**B**) ou intensificando os efeitos dos aceleradores (**C**). RB = retinoblastoma.

Vírus **oncogênicos** diferentes possuem mecanismos diferentes para imortalização de células. Os vírus imortalizam as células: (1) ativando ou fornecendo genes de estimulação de crescimento, (2) removendo os mecanismos de interrupção inerentes que limitam a síntese do DNA e o crescimento celular, ou (3) evitando a apoptose. A imortalização por vírus DNA ocorre em células semipermissivas, que expressam somente genes virais seletos, mas que não produzem vírus. A síntese do DNA viral, o mRNA tardio, as proteínas tardias ou o vírus levam à morte da célula, impedindo a imortalização. Vários vírus DNA oncogênicos se integram ao cromossomo da célula hospedeira. O papilomavírus, o vírus SV40 e o adenovírus codificam proteínas que ligam e inativam as proteínas reguladoras do crescimento celular, como a p53 e o produto do gene do retinoblastoma (RB), liberando o crescimento desenfreado das células. A perda da p53 também torna a célula mais suscetível à mutação. O vírus Epstein-Barr imortaliza as células B ao estimular o crescimento celular (como um mitógeno de célula B) e ao induzir a expressão do oncogene *bcl-2* da célula, que previne a morte celular programada (apoptose).

Os retrovírus (vírus RNA) usam duas abordagens para a oncogênese. Alguns oncovírus codificam proteínas **oncogênicas** (p. ex., *sis, ras, src, mos, myc, jun, fos*), que são quase idênticas às proteínas celulares envolvidas no controle de crescimento celular (p. ex., os componentes de uma cascata de sinal de fator de crescimento [receptores, proteínas G, proteínas cinase], ou fatores de transcrição de regulação de crescimento). A produção exagerada ou a função alterada desses produtos de oncogene estimulam o crescimento celular. Esses vírus oncogênicos causam a formação *rápida* de tumores. *Entretanto, nenhum retrovírus humano desse tipo foi identificado até o momento*.

O **vírus linfotrópico de células-T humanas** do tipo 1 (HTLV-1), o único retrovírus oncogênico humano identificado, usa mecanismos mais sutis de leucemogênese. Ele codifica uma proteína (**Tax**) que **ativa** a expressão dos genes, incluindo os genes para as citocinas de estimulação do crescimento (p. ex., a interleucina-2). Essa é a segunda abordagem à oncogênese. A integração da cópia do DNA do HTLV-1 próximo ao gene de estimulação de crescimento celular também pode provocar a ativação do gene pelas potentes sequências virais intensificadoras e promotoras codificadas em cada extremidade do genoma viral (sequências LTR). *As leucemias associadas ao HTLV-1* ***se desenvolvem lentamente***, *ocorrendo 20 a 30 anos após a infecção*. Os retrovírus continuam a produzir vírus em células imortalizadas ou transformadas.

Alguns vírus podem iniciar a formação de tumores indiretamente. O vírus da Hepatite B (HBV) e o vírus da Hepatite C (HCV) podem possuir mecanismos para a oncogênese direta; entretanto, ambos os vírus estabelecem infecções persistentes que exigem reparo tecidual significativo. A estimulação contínua de crescimento e reparo de células hepáticas pode promover mutações que levam à formação do tumor. O herpervírus humano 8 (HHV8) promove o desenvolvimento do sarcoma de Kaposi por meio de citocinas de promoção de crescimento codificadas pelo vírus; essa doença ocorre mais frequentemente em pacientes imunocomprometidos, como os com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS).

A transformação viral é o primeiro passo, mas, em geral, não é suficiente para causar a oncogênese e a formação do tumor. Em vez disso, com o tempo, as células imortalizadas têm mais probabilidade que as normais de acumular outras mutações ou rearranjos cromossômicos que promovem o desenvolvimento de células tumorais. As células imortalizadas também podem ser mais suscetíveis a cofatores e promotores de tumor (p. ex., os ésteres de forbol, butirato) que intensificam a formação tumoral. Aproximadamente 15% dos cânceres humanos podem ser relacionados a vírus oncogênicos como HTLV-1, HBV e HCV, papilomavírus 16 e 18, HHV8 e vírus de Epstein-Barr. O HSV-2 também pode ser um cofator para o câncer cervical humano.

Defesas do Hospedeiro contra a Infecção Viral

Os objetivos finais das respostas antivirais inatas e imunes do hospedeiro são os de prevenir a entrada e a disseminação e eliminar os vírus e as células que os abrigam ou replicam (***resolução***). *A resposta imune é a melhor e, na maioria dos casos, o único meio de controlar uma infecção viral. Ambas as respostas imunes humoral e celular são importantes para a imunidade antiviral*. O interferon e as respostas das células-T citotóxicas podem ter evoluído principalmente como mecanismos de defesa antiviral. O Capítulo 12 apresenta uma descrição detalhada da resposta imune antiviral.

A pele é a melhor barreira contra a infecção. Os orifícios do corpo (boca, olhos, nariz, orelhas e ânus) são protegidos por epitélio ciliado e mucoso, lágrimas e pelo ácido gástrico e pela bile do trato gastrointestinal. Ao ultrapassar essas barreiras naturais, o vírus aciona as **defesas do hospedeiro não específicas para antígenos (inatas)** (p. ex., febre, interferon, macrófagos, células dendríticas, células *natural killer* [NK]) que tentam limitar e controlar a replicação e disseminação local do vírus. As moléculas virais, incluindo o RNA de filamento duplo (que é o intermediário de replicação dos vírus de RNA), certas formas de DNA e o RNA de filamento único, além de algumas glicoproteínas virais, ativam a produção de interferon tipo I e as respostas celulares inatas por meio da interação com receptores citoplásmicos ou os receptores *toll-like* (TLR) na superfície da célula.

As **respostas imunes específicas ao antígeno** levam vários dias para serem ativadas e se tornarem eficazes. O objetivo dessas respostas protetoras é resolver a infecção eliminando todos os vírus infecciosos e todas as células infectadas do corpo. O **anticorpo** é eficaz contra vírus extracelulares e pode ser suficiente para controlar vírus citolíticos, pois a fábrica de vírions dentro da célula infectada é eliminada pela replicação viral. Os anticorpos são essenciais para controlar a disseminação do vírus para tecidos-alvo por meio de viremia. A lise das células infectadas com um **vírus não citolítico** (p. ex., vírus da hepatite A) e as infecções causadas por **vírus envelopados** exigem **imunidade mediada por células**.

A proteção criada por imunidade prévia é fornecida por **células de memória B e T**, que determinam uma resposta precoce e mais eficaz que a realizada durante a infecção primária. Essa proteção pode não evitar os estágios iniciais da infecção, mas, na maioria dos casos, ela previne a progressão da doença. Assim, em uma segunda infecção pelo mesmo agente viral, as respostas mediadas pela célula são mais eficazes em limitar a disseminação local do vírus e os anticorpos do soro podem evitar a disseminação virêmica. As respostas secundárias se desenvolvem muito mais rapidamente e são mais eficazes que as primárias; essa é a base para o desenvolvimento dos programas de vacinação.

Muitos vírus, especialmente os maiores, possuem meios de escapar de um ou mais aspectos do controle imune (Cap. 12, Tab. 12-4). Esses mecanismos incluem a ação preventiva do interferon, a alteração nos antígenos virais, a disseminação por transmissão de célula a célula para escapar dos anticorpos e a supressão da apresentação do antígeno e da função dos linfócitos. O herpes simples, por impedir as consequências do estado antiviral induzido por IFN-α e IFN-β, consegue manter sua replicação e síntese proteica. A inibição da expressão do complexo principal de histocompatibilidade I pelo citomegalovírus e adenovírus evita a destruição das células infectadas pelas células T. A variação antigênica que ocorre ao longo dos anos no vírus da influenza (desde pequenas variações proteicas até drásticas alterações de antígenos) ou durante a vida de um indivíduo infectado com HIV limita a eficácia antiviral do anticorpo. A falha em resolver a infecção pode levar à infecção persistente, à doença crônica ou à morte do paciente.

Imunopatologia

A hipersensibilidade e as reações inflamatórias iniciadas por imunidade antiviral podem ser a causa principal das manifestações e sintomas patológicos da doença viral (Tab. 48-3). Respostas precoces ao vírus e à infecção viral, como interferon e as citocinas, podem iniciar respostas locais inflamatórias e sistêmicas. Por exemplo, o interferon e as citocinas estimulam os **sintomas sistêmicos semelhantes aos da gripe** que estão geralmente associados a *infecções virais respiratórias e viremias* (p. ex., febre, mal-estar, cefaleia). Esses sintomas geralmente precedem (**pródromo**) os sintomas característicos da infecção viral durante o estágio virêmico. Mais tarde, os complexos imunes e a ativação do complemento (via clássica), a hipersensibilidade do tipo tardio induzida por células T CD4 e a ação de células T CD8 citolíticas podem induzir o dano ao tecido. Essas ações geralmente promovem infiltração de neutrófilos e aumentam o dano celular.

Tabela 48-3 Imunopatogênese

Imunopatogênese	Mediadores Imunes	Exemplos
Sintomas semelhantes aos da gripe	Interferon, citocinas	Vírus respiratórios, arbovírus (vírus que induzem viremia)
Hipersensibilidade e inflamação do tipo tardio	Células T, macrófagos e leucócitos polimorfonucleares.	Vírus envelopados
Doença por imunocomplexos	Anticorpos, complemento	Vírus da hepatite B, rubéola
Doença hemorrágica	Célula T, anticorpos, complemento	Febre amarela, dengue, febre de Lassa, vírus Ebola
Citólise pós-infecção	Células T	Vírus envelopados (p. ex., encefalite pós-sarampo)
Imunossupressão	-	Vírus da imunodeficiência humana, citomegalovírus, vírus do sarampo, vírus

		influenza

A resposta inflamatória iniciada pela imunidade celular é difícil de controlar e danifica os tecidos. As infecções causadas por vírus envelopados, em especial, induzem resposta imune celular produzindo, em geral, condições imunopatológicas mais extensas. Por exemplo, os sintomas clássicos do sarampo e da caxumba resultam de respostas inflamatórias e de hipersensibilidade induzidas por células T e não dos efeitos citopatológicos do vírus. A presença de grandes quantidades de antígenos no sangue durante as viremias ou infecções crônicas (p. ex., infecção por HBV) pode iniciar **reações clássicas de hipersensibilidade do complexo imune do tipo III**. Os **complexos imunes** contendo vírus ou antígeno viral podem ativar o sistema do complemento, desencadeando respostas inflamatórias e destruição dos tecidos. Esses complexos imunes se acumulam, com frequência, nos rins e causam problemas renais.

No caso do vírus da dengue e do sarampo, a imunidade parcial a um vírus relacionado ou inativado pode resultar em resposta mais intensa do hospedeiro e doença no desafio subsequente com um vírus relacionado ou virulento. Isso porque as respostas das células T específicas para o antígeno e dos anticorpos são intensificadas e induzem danos inflamatórios e de hipersensibilidade significativos às células endoteliais infectadas (**febre da dengue hemorrágica**) ou à pele e ao pulmão (**sarampo atípico**). Além disso, um anticorpo não neutralizante pode facilitar a absorção dos vírus da dengue e da febre amarela nos macrófagos por meio dos receptores Fc, nos quais os vírus podem se replicar.

Em geral, as crianças apresentam resposta imune celular menos ativa (p. ex., células NK) que a dos adultos e, portanto, geralmente apresentam sintomas mais leves durante as infecções por alguns vírus (p. ex., vírus do sarampo, da caxumba, de Epstein-Barr e varicela-zóster). Entretanto, no caso do vírus da hepatite B, sintomas leves ou ausentes se relacionam à inabilidade do corpo em resolver a infecção, resultando em doença crônica.

Doença Viral

A **suscetibilidade** relativa de uma pessoa e a **intensidade** da doença dependem dos seguintes fatores:

1. Mecanismo de exposição e sítio da infecção.
2. Estado do sistema imune, a idade e a saúde geral da pessoa.
3. Dose viral.
4. Genética do vírus e do hospedeiro.

Uma vez o hospedeiro infectado, sua competência e estado imunológico são, provavelmente, os principais fatores que determinam se uma infecção viral vai provocar uma doença potencialmente fatal, uma lesão benigna ou ausência total de sintomas.

A Figura 48-1C mostra os estágios da doença viral. Durante o **período de incubação** o vírus está se replicando, mas ainda não atingiu o tecido-alvo, nem induziu dano suficiente para causar a doença. *O período de incubação será relativamente curto se o sítio primário de infecção for o tecido-alvo e produzirá os sintomas característicos da doença. Períodos de incubação mais longos ocorrem quando o vírus precisa se disseminar para outros sítios e ser amplificado antes de atingir o tecido-alvo, ou quando os sintomas são causados por respostas imunopatológicas*. Sintomas não específicos ou semelhantes aos da gripe podem preceder os sintomas característicos durante o **pródromo**. Os períodos de incubação para muitas infecções virais comuns são apresentados na Tabela 48-4. As doenças virais específicas são discutidas nos capítulos subsequentes e revisadas no Capítulo 67.

Tabela 48-4 Períodos de Incubação de Infecções Virais Comuns

Doença	Período de Incubação (dias)*
Influenza	1-2
Resfriado comum	1-3
Herpes simples	2-8
Bronquiolite, crupe	3-5
Doença respiratória aguda (adenovírus)	5-7
Dengue	5-8
Enterovírus	6-12
Poliomielite	5-20
Sarampo	9-12
Varíola	12-14
Varicela ou Catapora	13-17
Caxumba	16-20
Rubéola	17-20
Mononucleose	30-50
Hepatite A	15-40
Hepatite B	50-150
Raiva	30-100
Papiloma (verrugas)	50-150
Vírus da imunodeficiência humana (síndrome da imunodeficiência adquirida)	1-10 anos

* *Até a manifestação inicial dos sintomas prodômicos. Sinais diagnósticos (p. ex., exantema, paralisia) podem não aparecer até 2 a 4 dias mais tarde*.

Modificado de White DO, Fenner FJ: Medical Virology, 3rd. Ed. New York, Academic, 1986.

A natureza e a intensidade dos sintomas de uma doença viral estão associadas à função do tecido-alvo infectado (p. ex., fígado, hepatite; cérebro, encefalite) e à extensão das respostas imunopatológicas desencadeadas pela infecção. **Infecções não aparentes** resultam quando: (1) o tecido infectado não for lesado; (2) a infecção for controlada antes de o vírus atingir o tecido-alvo; (3) se o tecido-alvo for composto por células de rápido ciclo celular; (4) se o tecido-alvo for reparado rapidamente; ou (5) se a extensão do dano for inferior ao limiar funcional para aquele tecido em particular. Por exemplo, muitas infecções do cérebro não são aparentes ou estão abaixo do limiar de perda séria de função, mas se a perda de função se tornar significativa ocorrerá encefalite. Apesar da falta de sintomas, o anticorpo específico contra o vírus será produzido. Por exemplo, embora 97% dos adultos tenham anticorpos (soropositivos) contra o vírus varicela-zóster, menos da metade se lembra de ter tido catapora. *As infecções não aparentes ou assintomáticas são as principais fontes de contágio*.

As infecções virais podem causar **doença aguda** ou **crônica** (**infecção persistente**). A habilidade e a rapidez do sistema imune de uma pessoa em controlar e resolver uma infecção viral normalmente determinam se ocorre doença aguda ou crônica, assim como a intensidade dos sintomas (Fig. 48-3). O episódio agudo de uma infecção persistente pode ser

assintomático (poliomavírus JC) ou pode causar, futuramente, sintomas similares (varicela e zóster) ou diferentes (HIV) daqueles da doença aguda. **Vírus lentos e príons** possuem períodos de incubação longos, durante os quais se acumula destruição suficiente de vírus ou de tecidos, antes de uma rápida progressão dos sintomas.

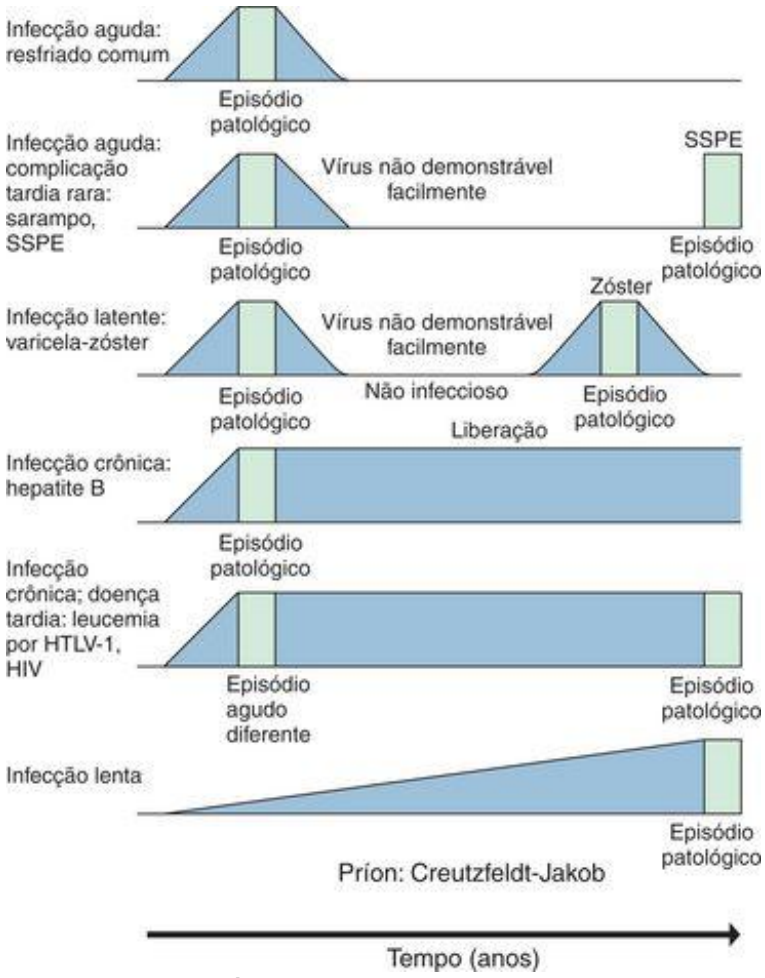


Figura 48-3 Infecção aguda e vários tipos de infecção persistente, conforme ilustrado pelas doenças indicadas na coluna da esquerda. O *azul* representa a presença do vírus; o *verde* indica o episódio de doença. SSPE: panencefalite esclerosante subaguda (*subacute sclerosing panencephalitis*).

(Modificado de White DO, Fenner FJ: Medical Virology, 3rd. Ed., New York, Academic, 1986.)

Epidemiologia

A epidemiologia estuda a disseminação da doença em uma população. A infecção de uma população é similar àquela de uma pessoa, pois o vírus precisa se espalhar e ser controlado pela imunização dessa população (Quadro 48-4). Os vírus precisam continuar a infectar novos hospedeiros imunologicamente suscetíveis.

Quadro 48-4 Epidemiologia Viral

Mecanismos de Transmissão Viral†

Aerossóis

Alimentos, água

Fômites (p. ex., tecidos, roupas)

Contato direto com secreções (p. ex., saliva, sêmen)

Contato sexual, nascimento

Transfusão de sangue ou transplante de órgão

Zoonoses (animais, insetos [arbovírus])

Doença e Fatores Virais que Promovem a Transmissão

Estabilidade do vírion em resposta ao meio ambiente (p. ex., secagem, detergentes, temperatura)

Replicação e secreção de vírus em aerossóis e secreções transmissíveis (p. ex., saliva, sêmen)

Transmissão assintomática

Transitoriedade ou ineficácia da resposta imune para controlar reinfecção ou a recorrência

Fatores de Risco

Idade

Saúde

Estado imune

Profissão: contato com agente ou vetor

História de viagem

Estilo de vida

Crianças em creches

Atividade sexual

Tamanho Crítico da Comunidade

Pessoas suscetíveis, soronegativas

Distribuição geográfica e Sazonalidade

Presença de cofatores ou vetores no meio ambiente

Hábitat e estação do ano para vetores artrópodes (mosquitos)

Sala de aula: proximidade e aglomeração

Inverno (reclusão das pessoas em casa com aquecimento doméstico)

Modos de Controle

Quarentena

Eliminação do vetor

Imunização

Vacinação

Tratamento

* *Infecção da população em vez de uma pessoa.*

† *Consulte também a* Tabela 48-5

Exposição

As pessoas são expostas aos vírus durante toda a vida. Entretanto, em profissões, estilos de vida e forma de viver aumentam a probabilidade do contato com certos vírus. Por outro lado, muitos vírus são ubíquos. A exposição ao HSV-1, HHV6, varicela-zóster, parvovírus B19, de Epstein-Barr e a muitos vírus respiratórios e entéricos pode ser detectada na maioria das crianças ou no início da vida adulta pela presença de anticorpos aos vírus.

Hábitos de higiene insatisfatórios e condições de superpopulação na comunidade, escola e trabalho promovem a exposição a vírus respiratórios e entéricos. Os centros de atendimento ambulatorial e creches são fontes de infecções virais, especialmente pelos vírus disseminados por via respiratória e fecal-oral. Viagens e atividades profissionais que mantêm as pessoas em contato com vetores de vírus (p. ex., mosquitos) as colocam em risco de infecção por arbovírus e outras zoonoses. A promiscuidade sexual também promove a disseminação e a aquisição de vários vírus. Profissionais da saúde como médicos, dentistas, enfermeiros e técnicos também são expostos, com frequência, a vírus respiratórios e outros, mas estão peculiarmente expostos a adquirirem vírus de sangue contaminado (HBV, HIV) ou de fluidos vesiculares (HSV).

Transmissão Viral

Os vírus são transmitidos por contato direto (incluindo o contato sexual), por injeção com fluidos ou sangue contaminado, pelo transplante de órgãos e pelas vias respiratória e fecal-oral (Tab. 48-5). *A via de transmissão depende da fonte do vírus (o sítio de tecido de replicação e secreção viral) e da habilidade do vírus em sobreviver aos perigos e barreiras do meio ambiente e do corpo em seu caminho para o tecido-alvo*. Por exemplo, os vírus que se replicam no trato respiratório (vírus Influenza A) são liberados em gotículas aéreas, enquanto os vírus entéricos (picornavírus e reovírus) são transmitidos pela via fecal-oral. O citomegalovírus é transmitido na maioria das secreções corporais, pois infecta as células mucoepiteliais, secretoras e outras células encontradas na pele, nas glândulas secretoras, pulmões, fígado e outros órgãos.

Tabela 48-5 Transmissão Viral

Modo	Exemplos
Transmissão respiratória	Paramixovírus, vírus da influenza, picornavírus, rinovírus, vírus varicela-zoster, vírus B19.
Transmissão fecal-oral	Picornavírus, rotavírus, reovírus, norovírus, adenovírus
Contato (lesões, saliva, fômites)	Vírus herpes simples, rinovírus, poxvírus, adenovírus)
Zoonoses (animais, insetos)	Togavírus (alfa), flavivírus, buniavírus, orbivírus, arenavírus, hantavírus, vírus da raiva, vírus influenza A, vírus orf (pox).
Transmissão pelo sangue	Vírus da imunodeficiência humana, HTLV-1, vírus da hepatite B, vírus da hepatite C, vírus da hepatite delta, citomegalovírus.
Contato sexual	Vírus transmitidos pelo sangue, vírus herpes simples, papilomavírus humano, molusco contagioso.
Transmissão materno-neonatal	Vírus da rubéola, citomegalovírus, vírus B19, ecovírus, vírus herpes simples, vírus varicela-zóster.
Genética	Príons, retrovírus

HTLV-1, Vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1.

A presença ou ausência do envelope é o principal determinante estrutural do modo de transmissão viral. Os **vírus não envelopados** (vírus de capsídeo desnudo) podem resistir ao dessecamento, ao efeito de detergentes e aos extremos de pH e de temperatura, o que nem sempre acontece com os vírus envelopados (Cap. 4, Quadro 4-4). Especificamente, a maioria dos vírus não envelopados pode resistir ao meio ambiente ácido do estômago e à bile dos intestinos, semelhante a um detergente, à desinfecção leve e ao tratamento insuficiente dos esgotos. Esses vírus são transmitidos geralmente pelas vias respiratória e fecal-oral e podem, com frequência, ser adquiridos de objetos contaminados, chamados de **fômites**. Por exemplo, o vírus da hepatite A, um picornavírus, é um vírus não envelopado transmitido pela via fecal-oral, podendo ser adquirido de água contaminada, frutos do mar e outros alimentos. Os rinovírus e outros vírus não envelopados podem ser disseminados por contato com fômites como lenços e brinquedos.

Diferentemente dos robustos vírus não envelopados, a maioria dos **vírus envelopados** é comparativamente frágil (Cap. 4, Quadro 4-5). Seu envelope deve estar intacto para que sejam infecciosos. Assim, estes vírus precisam permanecer úmidos e são disseminados (1) em gotículas respiratórias, sangue, muco, saliva e sêmen; (2) por meio de injeção; ou (3) em transplantes de órgãos. A maioria dos vírus envelopados também é instável ao tratamento com ácidos e detergentes, um aspecto que impede sua transmissão pela via fecal-oral. As exceções são o HBV e os coronavírus.

Os animais também podem atuar como **vetores** que disseminam a doença viral a outros animais e seres humanos e até mesmo a outras localidades. Eles podem atuar como **reservatórios** para os vírus, mantendo e amplificando-os no meio ambiente. As doenças virais que são compartilhadas por animais ou insetos e seres humanos são chamadas de **zoonoses**. Por exemplo, os guaxinins, raposas, morcegos, cães e gatos são vetores para o vírus da raiva. Os artrópodos, incluindo os mosquitos, carrapatos e mosquitos-pólvora, podem agir como vetores para togavírus, flavivírus, buniavírus e reovírus. Estes vírus são frequentemente chamados de **arbovírus**, pois são transmitidos por artrópodos (***ar****thropod* ***bor****ne*). O Capítulo 62 apresenta uma discussão mais detalhada sobre arbovírus. A maioria possui faixa muito ampla de hospedeiros, capaz de replicação em insetos específicos, pássaros, anfíbios e mamíferos, além de seres humanos. Além disso, os arbovírus devem estabelecer um estado de viremia no reservatório animal, de modo que o inseto, ao se alimentar de sangue, possa adquirir o vírus.

Outros fatores que podem promover a transmissão de vírus são potenciais para a infecção assintomática, como condições de moradia em conglomerado, determinadas profissões, certos estilos de vida, centros de atendimento médico ambulatorial e viagens. A transmissão de alguns vírus pode ocorrer durante uma infecção assintomática (p. ex., HIV, varicela-zóster) o que dificulta a restrição da disseminação viral. Essa é uma característica importante das doenças sexualmente transmitidas. Os vírus que causam infecções produtivas persistentes (p. ex., citomegalovírus, HIV) constituem um problema especial, pois a pessoa infectada é uma fonte contínua de vírus que podem se espalhar para pessoas sem imunidade prévia. Os vírus com muitos sorotipos diferentes (rinovírus) ou aqueles capazes de alterar sua antigenicidade (influenza e HIV) também encontram rapidamente populações imunologicamente suscetíveis.

Manutenção de um Vírus na População

A persistência de um vírus na comunidade depende da disponibilidade de um número crítico de pessoas suscetíveis e sem memória imunológica (soronegativas). A eficiência da transmissão do vírus determina o tamanho da população suscetível necessária para a manutenção do vírus na população. A imunização, por meios naturais ou por vacinação, é a melhor maneira de reduzir o número dessas pessoas suscetíveis.

Idade

A idade é fator importante na determinação da suscetibilidade às infecções virais. Neonatos, crianças, adultos e idosos são suscetíveis a vírus diferentes e apresentam respostas sintomáticas diferentes à infecção. Essas diferenças podem resultar de variações no tamanho do corpo, nas habilidades de recuperação e, o mais importante, na situação de imunidade das pessoas nesses grupos etários. Diferenças em estilos de vida, hábitos, ambiente escolar e de trabalho nas diferentes idades também determinam quando as pessoas estão expostas aos vírus.

Os neonatos e as crianças adquirem várias doenças virais respiratórias e exantematosas na primeira exposição, pois não têm imunidade prévia. Os lactentes estão especialmente mais propensos a apresentações mais graves de infecções respiratórias por paramixovírus e gastroenterite virais por causa de seu tamanho corporal e exigências fisiológicas (p. ex., nutrientes, água, eletrólitos). Entretanto, as crianças geralmente não montam uma resposta imunopatológica tão intensa quanto os adultos, e algumas doenças (como as causadas pelos vírus herpes) são mais benignas nas crianças.

Os idosos são especialmente suscetíveis a novas infecções virais e à reativação de vírus latentes. Já que são menos capazes de iniciar uma nova resposta imune, de reparar o tecido danificado e de se recuperar, portanto mais suscetíveis a complicações após a infecção e a

surtos de novas cepas dos vírus influenza A e B. Os idosos também estão mais suscetíveis ao herpes zóster (cobreiro), que é uma recorrência do vírus varicela-zóster, resultante de declínio nessa resposta imune específica nessa faixa etária.

Estado Imune

A competência da resposta imune de uma pessoa e seu histórico imunológico determinam a rapidez e a eficiência com que a infecção é resolvida e também pode determinar a intensidade dos sintomas. A reexposição de uma pessoa a um vírus para o qual possua imunidade prévia geralmente resulta em doença assintomática ou moderada e sem transmissão viral. As pessoas que se encontram em estado de imunossupressão como resultado de AIDS, câncer ou terapia imunossupressora estão em risco maior de sofrer doença mais séria na infecção primária (sarampo, vacínia) e estão mais suscetíveis a recorrência de infecções com vírus latentes (p. ex., herpervírus, papovavírus).

Outros Fatores do Hospedeiro

O estado geral de saúde da pessoa desempenha papel importante na determinação da competência e da natureza da resposta imune e da habilidade de reparar o tecido doente. A má-nutrição pode comprometer o sistema imune de uma pessoa e reduzir sua capacidade de regenerar tecidos. As doenças e as terapias imunossupressoras podem permitir que a replicação viral ou a recorrência se desenvolvam sem serem combatidas. A constituição genética também exerce papel importante em determinar a resposta do sistema imune à infecção viral. Especificamente, as diferenças genéticas em genes de resposta imune, em genes para receptores virais e em outros *loci* genéticos afetam a suscetibilidade a uma infecção viral e a intensidade da doença.

Considerações Geográficas e Sazonais

A distribuição geográfica de um vírus é geralmente determinada pela presença dos cofatores ou vetores requeridos ou pela existência de uma população suscetível e sem imunidade prévia. Por exemplo, muitos dos arbovírus são limitados ao nicho ecológico de seus vetores artrópodes. O transporte global intenso está eliminando muitas das restrições à distribuição viral determinada geograficamente.

As diferenças sazonais na ocorrência da doença viral correspondem aos comportamentos que promovem a disseminação do vírus. Por exemplo, os vírus respiratórios prevalecem mais no inverno, pois as aglomerações facilitam a disseminação e as condições de temperatura e de umidade estabilizam os vírus disseminados. Os vírus entéricos, por outro lado, prevalecem no verão, possivelmente porque os hábitos de higiene ficam mais relaxados nesse período. As diferenças sazonais em doenças por arbovírus refletem o ciclo de vida do vetor artrópode ou de seu reservatório (p. ex., os pássaros).

Surtos, Epidemias e Pandemias

Os **surtos** de uma infecção viral geralmente resultam da introdução de um vírus (p. ex., hepatite A) em uma nova localidade. O surto se origina de uma **fonte comum** (p. ex., preparação dos alimentos) e, com frequência, pode ser contido uma vez identificada a fonte. As **epidemias** ocorrem em uma área geográfica maior e resultam da introdução de uma nova cepa de um vírus em uma população sem imunidade prévia. As **pandemias** são epidemias

mundiais, resultantes geralmente da introdução de um novo vírus (p. ex., o HIV). As pandemias do vírus influenza A costumavam ocorrer aproximadamente a cada 10 anos, como resultado da introdução de novas cepas do vírus.

Controle da Disseminação Viral

A disseminação de um vírus pode ser controlada por quarentena, boa higiene, alterações no estilo de vida, eliminação do vetor ou imunização da população. A **quarentena** era o único meio de limitar as epidemias de infecções virais e é mais eficaz para limitar a disseminação dos vírus que sempre causam doença sintomática (p. ex., varíola). Atualmente, esse recurso é usado em hospitais para limitar a **disseminação nosocomial** dos vírus, especialmente para os pacientes de alto risco (p. ex., os pacientes imunocomprometidos). O saneamento adequado dos itens contaminados e a desinfecção das fontes de abastecimento de água são meios de limitar a disseminação de vírus entéricos. As alterações no estilo de vida fizeram a diferença na disseminação dos vírus sexualmente transmitidos como HIV, HBV e HSV. A eliminação de um artrópode ou de seu nicho ecológico (p. ex., drenagem de pântanos nas localidades habitadas) se mostrou eficaz no controle da disseminação dos arbovírus.

A **melhor maneira de limitar a disseminação viral é a imunização das populações**. A imunização, seja aquela produzida pela infecção natural ou por vacinação, protege os indivíduos e reduz o tamanho das populações suscetíveis e sem imunidade prévia necessárias para promover a disseminação e a manutenção dos vírus.

Questões

1. Quais são as vias pelas quais os vírus penetram no corpo? Para cada via, relacione as barreiras à infecção e um vírus que infecta o corpo por meio desse caminho.

1. Ver tabela abaixo

2. Descreva ou desenhe a via de doença de um vírus que seja transmitido pelo ar e que cause lesões na pele (semelhante ao da varicela).

2. O vírus da varicela é inalado, inicia a replicação no pulmão ativando interferon e a resposta inflamatória local. A viremia se inicia propagando o vírus para as células T e chegando aos linfonodos, fígado e baço. Na segunda etapa da viremia o vírus espalha-se para a pele, causando lesões.

3. Identifique as estruturas que impulsionam a resposta protetora do anticorpo ao adenovírus, ao vírus influenza A, ao poliovírus e ao vírus da raiva.

3. Anticorpos protetores são gerados contra as proteínas de ligação viral ou outras estruturas.

Adenovírus: proteína da fibra

Vírus infelunza A: hemaglutinina

Poliovírus: estrutura do capsídeo em forma de vale

Vírus da raiva: glicoproteína G

4. Descreva os principais papéis de cada um dos elementos a seguir na promoção da resolução de uma infecção viral: interferon, macrófago, células NK, células T CD4, células T

CD8 e anticorpo.

4. Interferon alfa e beta: ativa a expressão de proteínas para promoção do estado antiviral, por exemplo, PKR (uma proteína quinase RNAds-dependente) e a polimerase 2′5′ A (também chamada de 2′-5′-oligo-adenilate sintetase). Também promovem ativação das células NK.

Interferon gama: ativa macrófagos, tornando-os aptos para realizar citólise e produzir IL12, um indutor de respostas Th1.

Macrófagos: células apresentadoras de antígenos e, sob ativação do interferon gama, promovem citólise de células infectadas. Células *Natural Killer*: promovem citólise de células infectadas independente do MHC e dependente de anticorpos.

Células T CD4: células T Helper que promovem a resposta antiviral através da produção de citocinas. Promovem a apoptose de células infectadas através da interação FAS-FAS ligante.

Células T CD8: promove citólise de células infectadas (citólise restrita às células que possuem MHC I).

Anticorpos: neutralização e opsonização de virus.

5. Por que o interferon-α e o interferon-β são produzidos antes do interferon-γ?

5. Os interferons α e γ são produzidos pelas células infectadas, enquanto o interferon γ é produzido por NK ou células T, como parte das respostas imune inata ou celular.

6. Como a nucleoproteína do vírus influenza se transforma em antígeno para as células T CD8 citolíticas?

6. A nucleoproteína do vírus influenza é a proteína predominante do vírus, que é degradada pelo proteossoma de células dendríticas e convertida em peptídeos pequenos para passar através da TAP para o retículo endoplasmático e preencher a fenda peptídeo antigênico da molécula MHC I. A ligação do antígeno é necessária para o movimento das moléculas MHC I em direção à superfície celular e apresentação do antígeno como parte da resposta das células T CD8.

7. Quais eventos ocorrem durante os períodos de pródromo de uma doença por vírus respiratório (p. ex., vírus parainfluenza) e da encefalite (p. ex., vírus da encefalite de St. Louis)?

7. Durante o pródromo de uma infecção por vírus respiratório, a replicação viral ocorre no pulmão e interferon alfa e beta são produzidos, gerando sintomas de gripe e cansaço. O vírus se replica e se espalha para outros locais no pulmão. O dano tecidual é reparado após o controle da replicação viral pelas respostas inata e imune.

8. Relacione as características virais (estrutura, replicação, tecido-alvo) que promoveriam a transmissão viral pela via fecal-oral, por artrópodes, por fômites, pelo leite materno e pela atividade sexual.

8. Ver tabela a seguir

Método de Transmissão	Características virais que promovem a transmissão
Fecal-oral	Estrutura de capsídeo impermeável aos ácidos biliares e do trato gastrointestinal
Artrópodes	Estabelecimento de viremia suficiente para possibilitar a aquisição do vírus pelos artrópodes durante uma picada.
Fômites	Estabilidade ao ressecamento e ao calor (vírus não envelopados).
Leite materno	Secreção de partículas virais no leite
Atividade sexual	Longo período assintomático de liberação viral que permite a transmissão

Atividade sexual	antes do conhecimento da infecção.

9. Quais são os diferentes mecanismos pelos quais os vírus oncogênicos imortalizam as células? Descreva-os.

9. Oncogênese rápida: Incorporação do oncogene viral no cromossomo hospedeiro estimulando o crescimento celular. (Não existem vírus humanos descritos que agem desta maneira.) Exemplo: vírus do sarcoma de Rous em frangos.

Oncogênese lenta: Integração viral próxima de um gene envolvido no crescimento celular permitindo que os promotores na repetição terminal longa do vírus ajam induzindo uma grande expressão destes genes levando estímulo ao crescimento. Exemplo: vírus linfotrópico 1 da célula T humana (HTLV-1 – *human T-lymphotropic virus 1*) – promove a transativação de genes promotores de crescimento, por exemplo, IL2 e receptor IL2.

Via de Transmissão	Barreiras	Exemplos de vírus
Oral	Saliva, IgA, mucosas	Poliovírus
Respiratória	IgA, mucosas	Influenza
Contato	Pele, mucosas	vírus herpes simples, papilomavírus humano
Sexual	Mulheres: IgA, mucosas; Homens: pele	vírus herpes simples, HIV, papilomavírus humano
Injeção, sangue e derivados, transplante.	Anticorpos e células T	Citomegalovírus, HIV, HTLV, hepatites B, C, D,
Picada de inseto ou animal (zoonose)	Anticorpos, interferon	Virus da encefalite equina do leste, vírus da febre amarela, raiva.

Bibliografia

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.
Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.
Cohen J, Powderly WG, editors, 2nd ed. Infectious Diseases. St Louis: Mosby. 2004.
Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.
Emond RT, Welsby PD, Rowland HAK. Color Atlas of Infectious Diseases, 4th ed. St Louis: Mosby, 2003.
Evans AS, Kaslow RA. Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control, 4th ed. New York: Plenum, 1997.
Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.
Haller O, Kochs G, Weber F. The interferon response circuit: Induction and suppression by pathogenic viruses. *Virology*. 2006;344:119-130.
Hart CA, Broadhead RL. Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases. St Louis: Mosby, 1992.
Hart CA, Shears P. Color Atlas of Medical Microbiology. London: Mosby, 2004.
Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL. Krugman's Infectious Diseases of Children, 11th ed. St Louis: Mosby, 2004.
Knipe DM, Howley PM, editors, 4th ed. Fields' Virology. New York: Lippincott Williams & Wilkins. 2001.
Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors, 6th ed. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2005.
Mims CA. et al: Medical Microbiology, 4th ed. Edinburgh: Mosby, 2007.
Mims CA, White DO. Viral Pathogenesis and Immunology. Oxford: Blackwell, 1984.
Rosenthal KS. Viruses: Microbial spies and saboteurs. *Infect Dis Clin Pract*. 2006;14:97-106.
Shulman ST. et al: The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1997.
Stark GR. et al: How cells respond to interferons. *Ann Rev Biochem*. 1998;67:227-264.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.
Voyles BA Voyles The Biology of Viruses 2nd ed. McGraw-Hill Boston
White DO, Fenner FJ. Medical Virology, 4th ed. San Diego: Academic, 1994.
Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR. Principles and Practice of Clinical Virology, 5th ed. Chichester England: Wiley, 2004.

Sites

Centers Centers for Disease Control, Health topics A to Z: Disponível em. www.cdc.gov/health/diseases.htm.
National National Center for Infectious Disease, Infectious disease information: Disponível em. www.cdc.gov/ncidod/diseases/index.htm.
National National Center for Infectious Disease, Traveler's health: Disponível em. www.cdc.gov/travel/diseases.htm.
National National Foundation for Infectious Diseases, Fact sheets on diseases: Disponível em. www.nfid.org/factsheets/Default.html.
Virology Virology on the Internet and specific viruses: Disponível em. www.virology.-net/garryfavwebindex.html#C02.081.343.
World World Health Organization, Diseases and vaccines: Disponível em. www.who.int/vaccines-diseases/index.html.
World World Health Organization, Infectious diseases: Disponível em. www.who.int/health-topics/idindex.htm.

49 Agentes Antivirais

Ao contrário das bactérias, os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios que usam o mecanismo biossintético e as enzimas das células do hospedeiro para replicação (Cap. 4). Assim, é mais difícil inibir a replicação viral sem causar toxicidade ao hospedeiro. A maioria dos fármacos antivirais tem como alvo as enzimas codificadas pelos vírus ou estruturas virais que sejam importantes para a replicação. A maior parte desses compostos representa inibidores bioquímicos clássicos de enzimas codificadas pelos vírus. Alguns fármacos antivirais são, na verdade, estimuladores das respostas protetoras imunes inatas do hospedeiro.

Diferentemente dos fármacos antibacterianos, a atividade da maioria dos fármacos antivirais é limitada a uma família de vírus específicos. Os fármacos antivirais estão disponíveis para vírus que causam morbidade e mortalidade significativas, fornecendo alvos razoáveis para a ação desses fármacos (Quadro 49-1). Entretanto, como já ocorreu com os fármacos antibacterianos, a resistência aos fármacos antivirais está se transformando um problema, por causa do alto índice de mutação dos vírus e do tratamento a longo prazo de alguns pacientes, especialmente aqueles imunocomprometidos (p. ex., pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]).

Quadro 49-1 Vírus Tratáveis com Fármacos Antivirais

Vírus herpes simples

Vírus varicela-zóster

Citomegalovírus

Vírus da imunodeficiência humana

Vírus Influenza A e B

Vírus sincicial respiratório

Vírus da hepatite B e C

Papilomavírus

Picornavírus

Alvos para Fármacos Antivirais

Os diferentes alvos para os antivirais (p. ex., estruturas, enzimas, processos importantes ou essenciais para a produção do vírus) são discutidos quanto aos passos do ciclo de replicação viral que esses fármacos inibem. Esses alvos e seus respectivos agentes antivirais são apresentados na Tabela 49-1 (Cap. 4, Fig. 4-9).

Tabela 49-1 Exemplos de Alvos para Fármacos Antivirais

Passo da Replicação ou Alvo	Agente	Vírus Alvo*
Fixação à célula-alvo	Análogos de peptídeos de proteínas do anexo.	Vírus da imunodeficiência humana (HIV) (gp120/CD4 receptor)
	Anticorpos neutralizantes	A maioria dos vírus
	Heparan e sulfato de dextran	HIV; vírus herpes simples (HSV)
Penetração e desnudamento	Amantadina, rimantadina	Vírus Influenza A
	Tromantadina	HSV
	Arildona, disoxaril, pleconaril	Picornavírus
Transcrição	Interferon	Vírus da hepatite A, B e C; papilomavírus
	Oligonucleotídeos antisense.	Papilomavírus
Síntese da proteína	Interferon	Vírus da hepatite A, B e C; papilomavírus
Replicação do DNA (polimerase)	Análogos de nucleosídeos	Herpesvírus; HIV; vírus da hepatite B; poxvírus etc.
	Fosfonoformato, ácido fosfonoacético	Herpesvírus
Biossíntese de nucleosídeos	Ribavirina	Vírus sincicial respiratório; vírus da febre Lassa
Captadores de nucleosídeos (timidina quinase)	Análogos de nucleosídeos	HSV; vírus varicela-zóster
Processamento de glicoproteínas	–	HIV
Montagem (protease)	Análogos de substrato hidrofóbico	HIV
Integridade do vírion	Nonoxynol-9	HIV; HSV

* *Terapias que podem não ter sido aprovadas para uso em seres humanos.*

Ruptura do Vírus

Os vírus envelopados são suscetíveis a certos lipídios e moléculas semelhantes a detergentes que dispersam ou rompem a membrana do envelope, evitando a aquisição do vírus. O Nonoxynol-9, um composto semelhante a um detergente presente em espermicidas, pode inativar o vírus herpes simples (HSV) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV), além de prevenir a aquisição dos vírus por via sexual. Os rinovírus são suscetíveis aos ácidos, e o ácido cítrico pode ser incorporado aos lenços faciais como meio de bloquear a transmissão viral.

Fixação à Célula-alvo

Na replicação viral, o primeiro passo é mediado pela interação de uma proteína de ligação viral com seu receptor de superfície celular. Essa interação pode ser bloqueada por **anticorpos de neutralização**, que se ligam e recobrem o vírion, ou por **antagonistas de receptores**. A administração de anticorpos específicos (**imunização passiva**) é a forma mais antiga de terapia antiviral. Os antagonistas de receptores incluem peptídeos ou açúcares análogos ao receptor da célula ou a proteína de fixação viral que bloqueiam, competitivamente, a interação do vírus com a célula. Peptídeos específicos da molécula CCXCR5 dos macrófagos e das células T bloqueiam a infecção inicial por HIV. Polissacarídeos ácidos, como o heparan e o sulfato de dextran, interferem na adesão viral e foram sugeridos para o tratamento de infecções por HIV, HSV e outros vírus.

Penetração e Desnudamento

Para que o genoma viral chegue ao citoplasma da célula do hospedeiro, é preciso haver a penetração e desnudamento do vírus. Arildona, disoxaril, **pleconaril** e outros compostos **metilisoxazólicos** bloqueiam o desnudamento dos picornavírus ajustando-se a uma fenda no cânion do receptor de ligação presente no capsídeo evitando a desmontagem deste. Para os vírus que penetram por vesículas endocíticas, o desnudamento pode ser desencadeado por alterações conformacionais em proteínas de ligação que promovem a fusão ou por ruptura da membrana resultante do ambiente ácido da vesícula. **Amantadina, rimantadina** e outras aminas hidrofóbicas (bases orgânicas fracas) são agentes antivirais que podem neutralizar o pH desses compartimentos e inibir o desnudamento do vírion. A amantadina e a rimantadina têm atividade mais específica contra a influenza A. Esses compostos ligam-se e bloqueiam o canal de H^+ formado pela proteína viral M_2. Sem o influxo de H^+, as proteínas da matriz de M_1 não se dissociam do nucleocapsídeo (desnudamento), impedindo o movimento do nucleocapsídeo para o núcleo, a transcrição e a replicação. O bloqueio desse poro de próton também rompe o processamento apropriado da proteína hemaglutinina mais tarde no ciclo de replicação. Na ausência de um poro de próton M_2 funcional, a hemaglutinina altera sua conformação para sua “forma de fusão” e é inativada ao atravessar o ambiente normalmente ácido do complexo de Golgi. A **tromantadina**, um derivativo da amantadina, também inibe a penetração do HSV. A penetração e o desnudamento do HIV são bloqueados por um peptídeo de 33 aminoácidos, o T20 (**enfuvirtida [Fuzeon®])**, que inibe a ação da proteína de fusão viral, a gp41.

Síntese de RNA

Embora a síntese do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) seja essencial para a produção do vírus, ela não é um bom alvo para os fármacos antivirais. Seria difícil inibir a síntese do mRNA viral sem afetar a síntese do mRNA celular. Os vírus do ácido desoxirribonucleico (DNA) usam as transcriptases da célula do hospedeiro para a síntese do mRNA. As RNA polimerases codificadas pelos vírus de genoma RNA podem não ser suficientemente diferentes das transcriptases do hospedeiro para serem inibidas seletivamente e o alto índice no qual estes vírus sofrem mutações resulta na geração de muitas cepas resistentes aos fármacos. A **guanidina** e a 2-hidroxibenzilbenzimidina são dois compostos que podem bloquear a síntese do RNA do picornavírus ao aderirem à proteína 2C desse vírus, a qual é essencial para a síntese do RNA. A **ribavirina** lembra a riboguanosina e inibe a biossíntese dos nucleosídeos, a modificação 5′ do mRNA (*capping*) promove a supermutação e outros processos (celular e viral) importantes para a replicação de muitos vírus.

O processamento apropriado (*splicing*) e a translação do mRNA viral podem ser inibidos por interferon e oligonucleotídeos antissense. A **isatina-β-tiossemicarbazona** induz à degradação do mRNA em células infectadas por poxvírus e foi usada como tratamento para varíola. A infecção viral de uma célula tratada com **interferon** desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos que bloqueiam a replicação viral. Especificamente, a degradação do mRNA viral e celular é intensificada e a montagem ribossômica é bloqueada, evitando a síntese proteica e a replicação viral. O interferon é apresentado mais detalhadamente no Capítulo 12. O interferon e indutores artificiais de interferon (**Ampligen, poli rI:rC**) estão sendo aprovados para uso clínico (papiloma, hepatite B e C) ou estão em estudos clínicos.

Replicação do Genoma

A maioria dos fármacos antivirais são **análogos de nucleosídeos**, os quais são nucleosídeos com modificações da base, do açúcar ou de ambos (Fig. 49-1). As **DNA polimerases** virais do vírus herpes e as **transcriptases reversas** dos vírus HIV e da hepatite B *são os alvos principais para a maioria dos fármacos antivirais, pois esses alvos são essenciais à replicação dos vírus e diferentes das enzimas do hospedeiro*. Antes de serem usados pela polimerase, os análogos de nucleotídeos devem ser fosforilados para a forma de trifosfato por enzimas virais (p. ex., a timidina quinase do HSV), enzimas celulares, ou ambas. Por exemplo, a timidina quinase do HSV e do varicela-zóster (VZV) aplica o primeiro fosfato ao **aciclovir (ACV)**, e as enzimas celulares aplicam os restantes. Mutantes de HSV sem atividade da timidina quinase são resistentes ao ACV. As enzimas celulares fosforilam a **azidotimidina (AZT)** e muitos outros análogos de nucleosídeos.

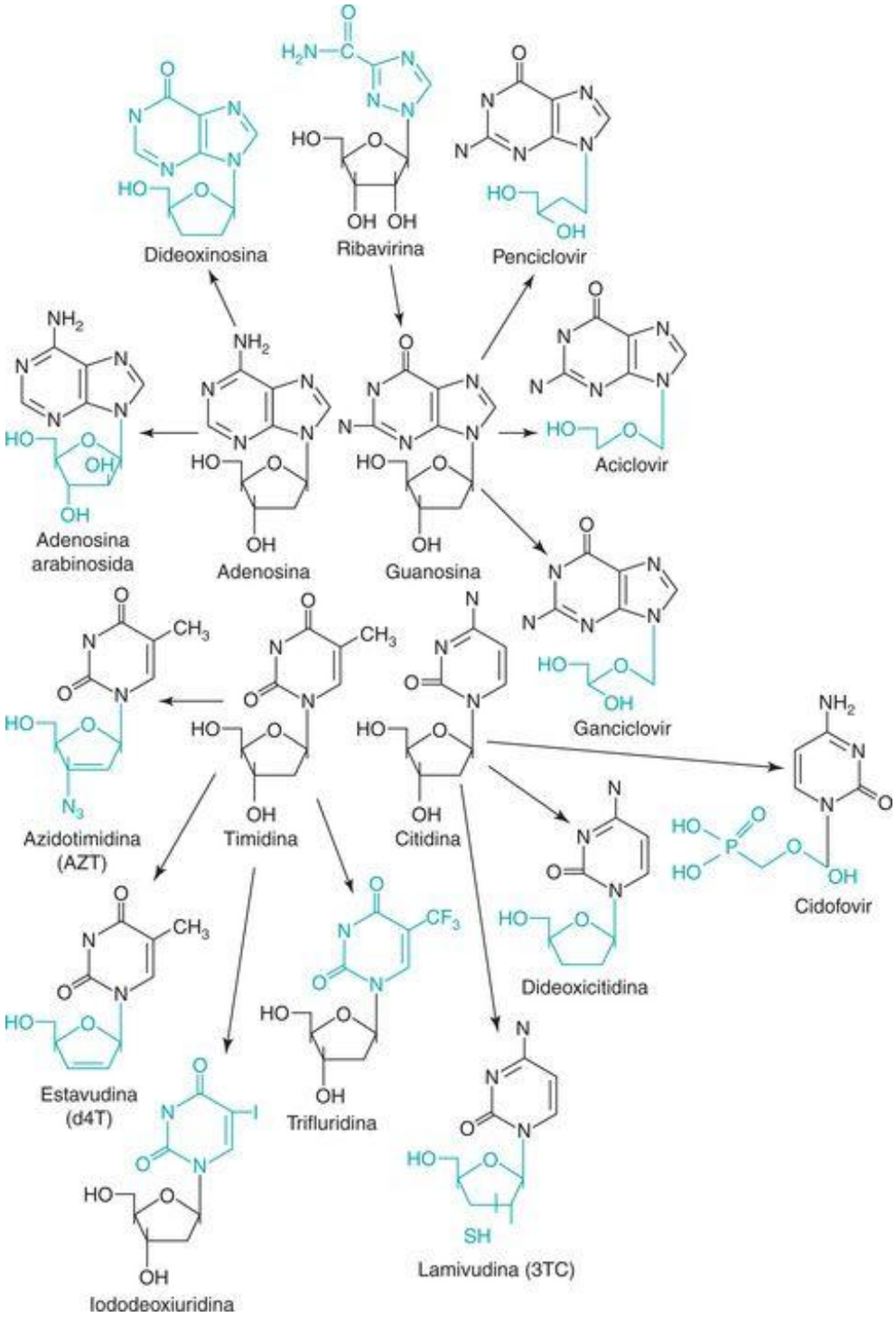


Figura 49-1 Estrutura dos análogos de nucleosídeos mais comuns que atuam como fármacos antivirais. As distinções químicas entre o desoxinucleosídeo natural e os análogos dos fármacos antivirais estão em destaque. As setas indicam os fármacos relacionados. O valaciclovir (*não mostrado*) é o éster de L-valil do aciclovir. O famciclovir (*não mostrado*) é o diacetil 6-desoxi-análogo do penciclovir. Esses dois fármacos são metabolizados em fármaco ativo no fígado ou na parede intestinal.

Esses análogos inibem seletivamente as polimerases virais, pois essas enzimas são menos precisas que as enzimas das células do hospedeiro. A ligação de um análogo de nucleosídeo com modificações da base, do açúcar ou de ambos é centenas de vezes melhor em enzimas virais do que em enzimas da célula do hospedeiro. Esses fármacos **evitam o alongamento da cadeia**, como resultado da ausência de uma hidroxila na posição 3′ do açúcar, ou **alteram o reconhecimento e o pareamento da base**, como resultado de uma modificação basal, e induzem mutações inativantes (Fig. 49-1). Os fármacos antivirais que causam o término da cadeia do DNA por meio de resíduos de açúcar de nucleosídeos modificados incluem: ACV, ganciclovir (GCV), valaciclovir, penciclovir, famciclovir, adefovir, cidofovir, adenina arabinosida (vidarabina, ara-A), zidovudina (AZT), lamivudina (3TC), dideoxicitidina e dideoxinosina. Os fármacos antivirais que se incorporam ao genoma viral e causam erros de replicação (mutações) e de transcrição (mRNA e proteínas inativas) por causa das bases modificadas de nucleosídeos incluem: **ribavirina, 5-iododesoxivuridina (idoxuridina)** e **trifluorotimidina** (**trifluridina**). A rapidez e a grande extensão de incorporação de nucleotídeos durante a replicação viral tornam a replicação de retrovírus e dos vírus do DNA especialmente suscetível a esses fármacos. Vários outros análogos de nucleosídeos estão sendo também desenvolvidos como fármacos antivirais.

Os análogos de pirofosfato que se assemelham ao produto derivado da reação da polimerase, como o **ácido fosfonofórmico (foscarnet, PFA)** e **ácido fosfonoacético**, são inibidores clássicos das polimerases do herpesvírus. **Nevirapina, delavirdina** e outros inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa aderem a sítios na enzima que não o sítio do substrato, agindo como inibidores não competitivos da enzima.

As enzimas captadoras de desoxirribonucleotídeos (p. ex., a timidina quinase e a ribonucleosídeo redutase dos herpesvírus) também são alvos enzimáticos dos fármacos antivirais. A inibição dessas enzimas reduz os níveis de desoxirribonucleotídeos necessários à replicação do genoma do vírus do DNA, evitando a replicação viral.

A integração do cDNA do HIV ao cromossomo do hospedeiro catalisado pela enzima integrase viral é essencial à replicação do vírus. Um inibidor da integrase já está aprovado para a terapia anti-HIV.

Síntese de Proteína

Embora a síntese proteica das bactérias seja o alvo para muitos compostos antibacterianos, a síntese da proteína viral não é um alvo tão propício para os fármacos antivirais. Os vírus usam os ribossomos das células do hospedeiro e mecanismos sintéticos para replicação, de modo que a inibição seletiva não é possível. O **interferon-**α **(IFN-**α**)** e o **Interferon-**β **(IFN-**β**)** detêm o vírus ao promoverem a inibição da síntese proteica viral na célula infectada. A inibição de modificações pós-traducionais das proteínas, como a proteólise de uma poliproteína viral ou processamento de glicoproteína (castanospermina, desoxinojirimicina) podem inibir a replicação viral.

Montagem e Liberação de Vírions

A **protease do HIV** é única e **essencial** à montagem de vírions e à produção de partículas virais infecciosas. A modelagem molecular computadorizada foi usada para desenhar inibidores da protease do HIV, como **saquinavir, ritonavir** e **indinavir**, inibidores que se encaixam ao sítio ativo da enzima. As estruturas da enzima foram definidas por cristalografia de raios X e estudos de biologia molecular. Proteases de outros vírus também são alvos para os fármacos antivirais.

A **neuraminidase do vírus influenza** também se tornou alvo para os fármacos antivirais. **Zanamivir (Relenza®)** e **oseltamivir (Tamiflu®)** atuam como inibidores enzimáticos e, diferentemente da amantadina e da rimantadina, podem inibir os vírus influenza A e B. A amantadina e a rimantadina inibem também a liberação do influenza A.

Estimuladores de Respostas Imunes Inatas do Hospedeiro

Os melhores agentes antivirais são aqueles inatos do hospedeiro e da resposta imune antiviral. A estimulação ou a complementação da resposta natural é uma abordagem eficaz para limitar ou tratar infecções virais. As respostas inatas de células dendríticas, macrófagos e outras células podem ser estimuladas por **imiquimod, resiquimod e oligodesoxinucleotídeos CpG** que aderem a receptores *toll-like* para estimular a liberação de citocinas protetoras, ativação de células *natural killer* (NK) e subsequentes respostas imunes mediadas por células. O **interferon** e os indutores de interferon, incluindo os polinucleotídeos e o RNA de dupla fita (p. ex., **Ampligen, poli rI:rC**) facilitam o tratamento de doenças crônicas de hepatite C e papilomavírus. Os **anticorpos**, adquiridos naturalmente ou por imunização passiva (Caps. 12 e 13), evitam tanto a aquisição quanto a disseminação do vírus. A imunização passiva é, por exemplo, administrada após exposição aos vírus da raiva e da hepatite A e hepatite B.

Análogos de Nucleosídeos

A maioria dos fármacos antivirais aprovados nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) (Tab. 49-2) representa análogos de nucleosídeos que inibem as polimerases virais. A resistência ao fármaco é normalmente causada por uma mutação da polimerase.

Tabela 49-2 Algumas Terapias com Fármacos Antivirais Aprovados nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*)

Vírus	Fármaco Antiviral	Nome Comercial
Vírus herpes simples e varicela-zóster	Aciclovir*	Zovirax®
	Valaciclovir*	Valtrex®
	Penciclovir	Denavir®
	Famciclovir*	Famvir®
	Iododexiuridina (idoxuridina)†	Stoxil®
	Trifluridina	Viroptic®
Citomegalovírus	Ganciclovir	Cytovene®
	Valganciclovir	Valcyte®
	Cidofovir	Vistide®
	Fosfonoformato (foscarnet)	Foscavir®
Vírus Influenza A	Amantadina	Symmetrel®
	Rimantadina	Flumadine®
Vírus influenza A e B	Zanamivir	Relenza®
	Oseltamivir	Tamiflu®
Vírus da hepatite B	Lamivudina	Epivir®
	Adefovir dipivoxil	Hepsera®
Vírus da hepatite C	Interferon-α, ribavirina	Vários

Papilomavírus	Interferon-α	Vários
Vírus sincicial respiratório e da febre do Lassa	Ribavirina	Virazole®
Picornavírus	Pleconaril	Picovir®
Vírus da Imunodeficiência Humana		
Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos	Azidotimidina (zidovudina)	Retrovir®
	Dideoxinosina (didanosina)	Videx®
	Dideoxicitidina (zalcitabina)	Hivid®
	Estavudina (d4T)	Zerit®
	Lamivudina (3TC)	Epivir®
Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos	Nevirapina	Viramune®
	Delavirdina	Rescriptor®
Inibidores da protease	Saquinavir	Invirase®
	Ritonavir	Norvir®
	Indinavir	Crixivan®
	Nelfinavir	Viracept®
Antagonista do correceptor CCR5	Maraviroc	Selzentry®
Inibidor de fusão	Enfuvirtide	Fuzeon®

* *Ativo também contra o vírus varicela-zóster*.

† *Somente uso tópico*.

Aciclovir e Valaciclovir, Penciclovir e Famciclovir

O **Aciclovir (acicloguanosina)** e seu derivado valil, o valaciclovir, diferem somente em considerações farmacológicas. O aciclovir difere do nucleosídeo guanosina por possuir uma cadeia lateral acíclica (hidroxietoximetila), em vez de um açúcar ribose ou desoxirribose. O ACV tem demonstrado ação seletiva contra o HSV e o VZV, herpesvírus que codificam a timidina quinase (Fig. 49-2). A timidina quinase viral ativa o fármaco por fosforilação e as enzimas da célula hospedeira completam a progressão para a forma de difosfato e, por fim, para a forma de trifosfato. Uma vez que não há fosforilação inicial em células não infectadas, não há fármaco ativo para inibir a síntese do DNA celular ou causar toxicidade. O trifosfato do ACV compete com a guanosina trifosfato para inibir a polimerase e leva ao término da cadeia do DNA viral em crescimento, pois não há grupo de 3′-hidroxila na molécula do ACV para permitir o alongamento da cadeia. Isso inativa a polimerase do DNA. A toxicidade mínima do ACV também resulta do seu uso superior (100 vezes ou mais) pela DNA polimerase viral quando comparado ao seu uso pelas DNA polimerases celulares. A **resistência ao aciclovir** se desenvolve por mutação na timidina quinase, impedindo a ativação do ACV, ou na DNA polimerase evitando a ligação do ACV.

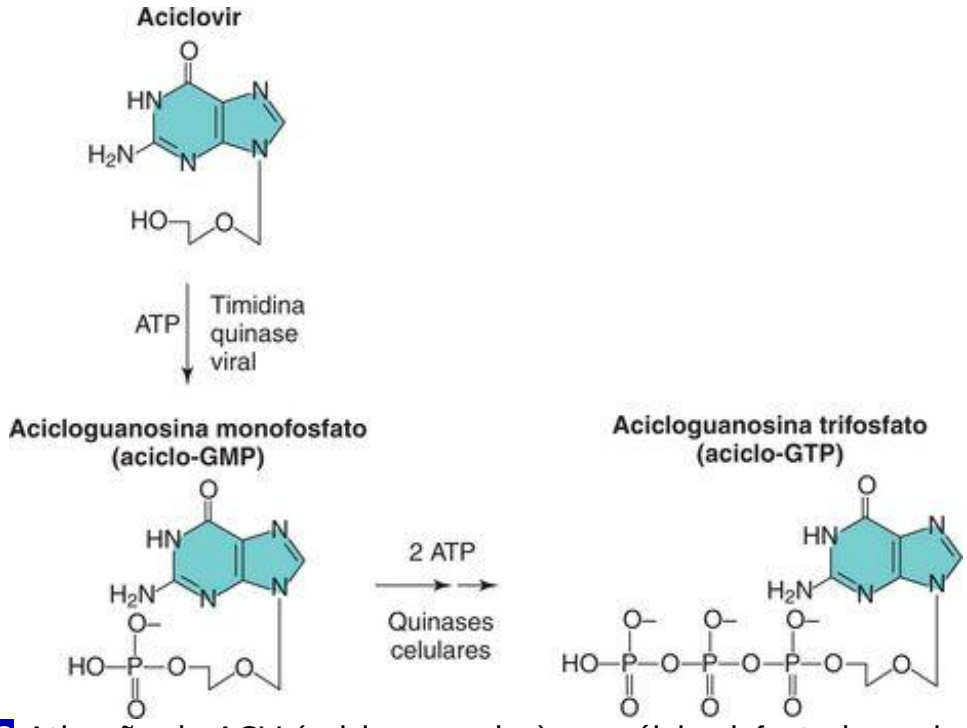


Figura 49-2 Ativação de ACV (acicloguanosina) em células infectadas pelo vírus herpes simples. O ACV é convertido em acicloguanosina monofosfato (aciclo-GMP) pela timidina quinase viral herpes-específica e a seguir em acicloguanosina trifosfato (aciclo-GTP) pelas quinases celulares.

O ACV é eficaz contra todas as infecções por HSV, incluindo encefalite, herpes disseminado e outras doenças herpéticas graves. O fato de não ser um elemento tóxico para células não infeccionadas permite sua aplicação como tratamento profilático para evitar surtos recorrentes, especialmente em pessoas imunocomprometidas. Pode-se evitar um episódio recorrente se o surto for tratado antes do início das respostas inflamatórias. O ACV inibe a replicação do HSV, mas não pode resolver a infecção latente por HSV.

O ACV também pode ser usado para o tratamento de infecção por VZV, embora sejam necessárias doses mais altas. O VZV é menos sensível ao agente por que a fosforilação do ACV pela timidina cinase do VZV é menos eficiente. O **valaciclovir**, o éster valil derivado do ACV, é absorvido com mais eficiência após administração oral sendo convertido rapidamente em ACV, aumentando assim a biodisponibilidade do ACV para o tratamento de casos graves

de HSV e VZV.

O **penciclovir** inibe o HSV e o VZV da mesma forma que o ACV, mas é concentrado e persiste por mais tempo que o ACV nas células infectadas. O penciclovir também exerce alguma atividade contra o vírus de Epstein-Barr e contra o citomegalovírus (CMV). O **famciclovir** é um pró-fármaco derivado do penciclovir que é bem absorvida por via oral, sendo então convertida em penciclovir no fígado ou no revestimento intestinal.

A resistência ao penciclovir e ao famciclovir se desenvolve da mesma maneira que para o aciclovir.

Ganciclovir

O **ganciclovir** (diidroxipropoximetil guanina) (GCV) difere do ACV por possuir um único grupo hidroximetila na cadeia lateral acíclica (Fig. 49-1). O resultado notável dessa adição é o fato de ela conferir atividade considerável contra o CMV. Esse vírus não codifica a timidina quinase, mas uma outra quinase do CMV fosforila o GCV. Uma vez ativado pela fosforilação, o GCV inibe todas as DNA polimerases de herpesvírus. Essas DNA polimerases virais possuem quase 30 vezes mais afinidade para o fármaco que a DNA polimerase celular. Semelhante ao aciclovir, um éster valil do GCV (**valganciclovir**) foi desenvolvido para melhorar as propriedades farmacológicas do ganciclovir.

O GCV é eficaz no tratamento da retinite por CMV e mostra alguma eficácia no tratamento de esofagite, colite e pneumonia por CMV em pacientes com AIDS. Entretanto, o potencial para a toxicidade da medula óssea limita o uso desse fármaco no tratamento das infecções por CMV nesses pacientes.

É interessante observar que a toxicidade potencial tem sido usada como base para o desenvolvimento de uma terapia antitumoral. Em uma aplicação, um gene da timidina quinase do HSV foi incorporado às células de um tumor cerebral por meio de um vetor de retrovírus. O retrovírus se replicou somente nas células tumorais em crescimento e a timidina cinase foi expressa somente nas células do tumor, tornando-as suscetíveis ao GCV.

Cidofovir e Adefovir

O **cidofovir** e o **adefovir** são análogos de nucleosídeos que contêm um fosfato ligado ao análogo do açúcar. Isso elimina a necessidade da difícil fosforilação inicial para se tornar um nucleosídeo. Os compostos com esse tipo de análogo de açúcar são substratos para as DNA polimerases ou transcriptases reversas virais e possuem um espectro expandido de vírus suscetíveis. O cidofovir, um análogo da citidina, inibe a replicação de poliomavírus e papilomavírus e é eficaz contra as polimerases de todos os herpervírus, adenovírus e poxvírus. O adefovir e o dipivoxil adefovir (um pró-fármaco diéster) são análogos da adenosina e estão aprovados para tratamento contra o vírus da hepatite B.

Azidotimidina

Desenvolvida originalmente como um fármaco anticâncer, a **azidotimidina** foi a primeira terapia útil para a infecção por HIV. O AZT (Retrovir®), um análogo de nucleosídeo da timidina, inibe a transcriptase reversa do HIV (Fig. 49-1). Como outros nucleosídeos, o AZT deve ser fosforilado pelas enzimas das células do hospedeiro. Ele não tem a 3′-hidroxila necessária para o alongamento da cadeia de DNA e evita a síntese do DNA complementar. O efeito terapêutico seletivo do AZT se baseia na sensibilidade cem vezes menor da DNA polimerase celular do hospedeiro em comparação com a transcriptase reversa do HIV.

O tratamento oral contínuo com AZT é administrado às pessoas infectadas com HIV e contagens reduzidas das células T CD4 para evitar a progressão da doença. O tratamento de gestantes HIV-positivas com AZT pode reduzir a probabilidade ou prevenir a transmissão do vírus ao bebê. Os efeitos colaterais do AZT variam de náuseas a toxicidade da medula óssea, potencialmente fatal.

A alta taxa de erros da polimerase do HIV cria mutações extensas e promove o desenvolvimento de cepas resistentes ao fármaco antiviral. Esse problema está sendo tratado pela administração de terapia com vários fármacos como tratamento inicial (**terapia antirretroviral altamente ativa [*higly active antiretroviral therapy* – HAART]**). É muito difícil para o HIV desenvolver resistência a vários fármacos com múltiplas enzimas-alvo. As cepas de HIV resistentes a fármacos múltiplos têm a probabilidade de serem mais fracas que as cepas que as originaram.

Dideoxinosina, Dideoxicitidina, Estavudina e Lamivudina

Vários outros análogos de nucleosídeos foram aprovados como agentes anti-HIV. A **dideoxinosina** (didanosina) é um análogo de nucleosídeo que é convertido em trifosfato de dideoxiadenosina (Fig. 49-1). Semelhante ao AZT, a dideoxinosina, a **dideoxicitidina** e a **estavudina** (d4T) não possuem o grupo 3′-hidroxila. O açúcar modificado e anexo à **lamivudina** (2′-desoxi-3′-tiacidina [3TC]) também inibe a transcriptase reversa do HIV evitando o alongamento da cadeia do DNA e a replicação do HIV. Esses fármacos estão disponíveis para o tratamento da AIDS em pacientes que não respondem à terapia com AZT, ou podem ser administrados em combinação com o AZT. A lamivudina é também ativa contra a polimerase do vírus da hepatite B, que é uma enzima semelhante à transcriptase reversa.

Ribavirina

A **ribavirina** é um análogo do nucleosídeo guanosina (Fig. 49-1), mas difere deste pois seu anel básico é incompleto e aberto. Como outros análogos de nucleosídeos, a ribavirina precisa ser fosforilada. O fármaco é ativo *in vitro* contra uma ampla variedade de vírus.

O monofosfato de ribavirina se parece com o monofosfato de guanosina e inibe a biossíntese do nucleosídeo, modificações 5′ do mRNA (*capping*) e outros processos importantes para a replicação de muitos vírus. A ribavirina depleta os estoques celulares da guanina pela inibição da inosina monofosfato desidrogenase, que é uma enzima importante na via sintética deste nucleosídeo. O fármaco também previne a síntese de mRNA com a modificação 5′-*cap* por interferir na guanilação e na metilação das bases de ácido nucleico. Além disso, o trifosfato de ribavirina inibe as RNA polimerases e promove a hipermutação do genoma viral. Seus múltiplos sítios de ação podem explicar a ausência de mutantes resistentes à ribavirina dos vírus sincicial respiratório e influenza A.

A ribavirina é administrada em aerossol a crianças com broncopneumonia séria causada por vírus sincicial respiratório e pode ser utilizada em adultos com quadros sérios de gripe ou sarampo. O fármaco pode ser efetivo para o tratamento da influenza B e das febres hemorrágicas de Lassa, de *Rift Valley*, da Crimeia-Congo, da Coreia e da Argentina, para as quais a administração é oral ou intravenosa. A ribavirina também atua ativamente contra o vírus da hepatite C, especialmente em combinação com interferon-α.

Outros Análogos de Nucleosídeos

Idoxuridina, trifluorotimidina (Fig. 49-1) e **fluorouracil** são análogos da timidina. Esses fármacos: (1) inibem a biossíntese da timidina, um nucleotídeo essencial para a síntese do DNA; ou (2) substituem a timidina e se incorporam ao DNA viral. Essas ações inibem a síntese do vírus ou causam erros extensos de leitura do genoma, levando à mutação e inativação do vírus. Esses fármacos têm como alvo as células com intensa replicação de DNA, como as infectadas com HSV, e poupam do dano as células que não estejam em crescimento.

A idoxuridina foi o primeiro fármaco anti-HSV aprovado para uso em seres humanos, mas foi substituído pela trifluridina e por outros agentes mais eficazes e menos tóxicos. O fluorouracil é um fármaco antineoplásico que mata rapidamente as células em crescimento, mas que tem sido também usado para tratamento tópico de verrugas causadas pelo papilomavírus humano.

A **adenina arabinosida** (Ara-A) foi o principal fármaco anti-HSV até o aparecimento do ACV. O Ara-A é um análogo de nucleosídeo de purina idêntico, em estrutura, à adenosina, exceto pelo fato de a arabinose ter sido substituída por ribose como açúcar (Fig. 49-1). Esse agente é fosforilado por enzimas celulares (especialmente a adenosina quinase), mesmo em células não infectadas, e por isso apresenta uma toxicidade potencialmente maior que o ACV. A enzima viral é de 6 a 12 vezes mais sensível que a enzima celular. A resistência pode se desenvolver como resultado de mutações na DNA polimerase viral.

Muitos outros análogos de nucleosídeos com atividade antiviral contra os herpesvírus, o vírus da hepatite B e o HIV estão sendo investigados para uso clínico.

Inibidores da Polimerase de não Nucleosídeos

O **Foscarnet (PFA)** e o ácido fosfonoacético relacionado (PAA) são compostos simples que lembram um pirofosfato (Fig. 49-3). Esses fármacos inibem a replicação viral ao aderirem ao sítio de ligação do pirofosfato na DNA polimerase bloqueando a ligação dos nucleotídeos. Tanto o PFA quanto o PAA não inibem as polimerases celulares nas concentrações farmacológicas, mas podem causar problemas renais e outras desordens por causa de sua habilidade em quelar íons divalentes de metal (p. ex., cálcio) e se tornarem incorporados aos ossos. O PFA inibe a DNA polimerase de todos os herpesvírus e a transcriptase reversa do HIV sem precisar ser fosforilado por nucleosídeos quinases (p. ex., a timidina quinase). O PFA foi aprovado para o tratamento de retinite causada por CMV em pacientes com AIDS.

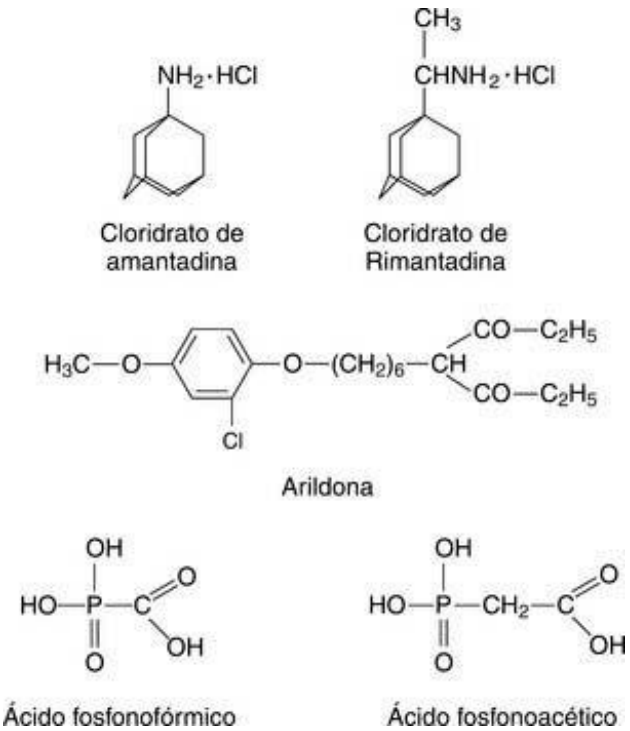


Figura 49-3 Estruturas de fármacos antivirais não nucleosídeos.

Nevirapina, delavirdina, efavirenz e outros não nucleosídeo inibidores da transcriptase reversa aderem a sítios na enzima diferentes do sítio destinado ao substrato. Uma vez que os mecanismos de ação desses fármacos diferem daqueles dos análogos de nucleosídeos, o mecanismo de resistência do HIV aos agentes também é diferente. Como resultado, esses fármacos são muito úteis em combinação com análogos de nucleosídeos para o tratamento da infecção por HIV.

Inibidores da Protease

A estrutura peculiar da protease do HIV e seu papel essencial na produção de um vírion funcional transformaram essa enzima em um bom alvo para os fármacos antivirais. **Saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, amprenavir** e outros agentes atuam deslizando para o interior do sítio hidrofóbico ativo da enzima para inibir sua ação. Como ocorre com outros fármacos anti-HIV, as cepas resistentes ao fármaco surgem por meio de mutações da protease. A combinação de um inibidor da protease com o AZT e um segundo análogo de nucleosídeo (terapia antirretroviral altamente ativa – HAART) pode reduzir os níveis do HIV no sangue para níveis não detectáveis. O desenvolvimento de resistência ao "coquetel" de fármacos anti-HIV também é menos provável que aquele a um único fármaco. Inibidores de protease estão sendo desenvolvidos também para o vírus da hepatite C e outros.

Fármacos Anti-influenza

Amantadina e **rimantadina** são compostos anfipáticos de amina com eficácia clínica contra o vírus influenza A, mas não contra o influenza B ou outros vírus (Fig. 49-3). Esses fármacos exercem vários efeitos sobre a replicação do influenza A. Ambos os compostos são acidotróficos concentrando-se e tamponando o conteúdo das vesículas endossômicas envolvidas na absorção do vírus influenza. Esse efeito pode inibir as mudanças acidomediadas na conformação da proteína hemaglutinina que promove a fusão do envelope viral com as membranas celulares. Entretanto, a especificidade para o vírus da influenza A é o resultado de sua habilidade de ligação e bloqueio do canal de prótons formado pela proteína matriz M_2 do vírus da influenza A. A resistência é o resultado de uma matriz de M_2 alterada ou proteína de hemaglutinina.

Esses dois fármacos podem ser úteis para melhorar a infecção por influenza A se forem administrados nas primeiras 48 horas de exposição. Eles também são úteis como terapia profilática na ausência de vacinação. Além disso, amantadina é uma terapia alternativa para a doença de Parkinson. O principal efeito tóxico é no sistema nervoso central, com os pacientes sofrendo de nervosismo, irritabilidade e insônia.

Zanamivir (Relenza®) e **oseltamivir (Tamiflu®)** são utilizados como tratamento aos vírus influenza A e B por atuarem como inibidores da enzima neuraminidase. Na ausência de ação da neuraminidase, a hemaglutinina do vírus liga-se ao ácido siálico de outras partículas virais, formando um aglomerado e impedindo a liberação viral. Esses fármacos podem ser administrados profilaticamente como alternativa à vacinação ou para reduzir a duração da doença quando administradas nas primeiras 48 horas de infecção.

Imunomoduladores

Formas de interferon-α (IFN-α) obtidas através de engenharia genética já foram aprovadas para uso humano. Os interferons atuam por ligação aos receptores da superfície das células e iniciando uma resposta celular antiviral. Além disso, eles estimulam a resposta imune e promovem a eliminação da infecção viral pelo sistema imunológico.

O IFN-α é ativo contra muitas infecções virais, incluindo a hepatite A, B e C, o HSV, o papilomavírus e o rinovírus. Ele foi aprovado para o tratamento de condiloma acuminado (verrugas genitais, uma apresentação do papilomavírus) e de hepatite C (especialmente com ribavirina). A combinação de polietileno glicol com interferon alfa (interferon alfa peguilado) aumenta a potência desse agente. IFN-α peguilado é usado com ribavirina para tratar infecções pelo vírus da hepatite C. O interferon natural causa sintomas semelhantes aos da gripe observados durante muitas infecções virêmicas e do trato respiratório e o agente sintético tem efeitos colaterais semelhantes durante o tratamento. O interferon é discutido mais detalhadamente no Capítulo 14.

O **imiquimod**, um ligante de receptor *toll-like*, estimula respostas inatas para atacar a infecção viral. Essa abordagem terapêutica pode ativar respostas protetoras locais contra papilomas, que geralmente escapam ao controle imune.

Questões

1. Relacione os passos da replicação viral que são alvos fracos para os fármacos antivirais. Por quê?

1. Etapas da replicação viral que dependem de processos celulares são geralmente alvos pobres para drogas antivirais. Estes incluem: a síntese de proteínas, a síntese de mRNA e processamento (*splicing, capping* etc.)

2. Quais vírus podem ser tratados com um fármaco antiviral? Distinguir os vírus tratáveis com antivirais análogos de nucleosídeo.

2. Viroses tratáveis:

Vírus DNA:
- vírus herpes simples – tratamento com análogo de nucleotídeo
- vírus varicela zóster - tratamento com análogo de nucleotídeo
- citomegalovírus - tratamento com análogo de nucleotídeo
- varíola - tratamento com análogo de nucleotídeo
- vírus da hepatite B - tratamento com análogo de nucleotídeo

Vírus RNA:
- Picornavírus
- Influenza A
- Influenza A e B
- vírus sincicial respiratório: tratamento com análogo de nucleotídeo
- vírus da hepatite C: tratamento com análogo de nucleotídeo
- vírus da imunodeficiência humana: tratamento com análogo de nucleotídeo

3. Mutação no gene de quais enzimas ou proteínas confeririam resistência aos seguintes fármacos antivirais: ACV, ara-A, fosfonoformato, amantadina, AZT?

3. Aciclovir: DNA polymerase, timidina quinase (de HSV ou HZV)

Ara-A: DNA polimerase (HSV)

Fosfonoformato (ácido fosfonofórmico): DNA polimerase de herpesvírus (exemplo, CMV). Amantadina: Proteína M2 do vírus influenza A

AZT: DNA polimerase dependente de RNA de HIV

4. Um paciente foi exposto ao vírus influenza A e está no terceiro dia de sintomas. Ele ouviu que existe um fármaco anti-influenza e solicita o tratamento. Você informa que a terapia não é apropriada. A quais agentes terapêuticos o paciente se refere e por que você não faz o tratamento?

4. Amantadina e rimantidine inibem a replicação do vírus influenza A, impedindo o desnudamento do vírus no citoplasma. Esses medicamentos são eficazes como profiláticos e devem ser administrados antes das respostas inflamatória e imune.

Oseltamivir e zanamivir são inibidores da neuraminidase, que inibem tanto vírus influenza A como B, impedindo a liberação do vírus pela célula infectada.

Bibliografia

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Cohen J, Powderly WG, editors, 2nd ed. Infectious Diseases. St Louis: Mosby. 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Galasso GJ, Whitley RJ, Merigan TC. Antiviral Agents and Human Viral Diseases, 4th ed. Philadelphia: Lippincott, 1997.

Hodinka RL. What clinicians need to know about antiviral drugs and viral resistance. *Infect Dis Clin North Am*. 1997;11:945-967.

Knipe DM, Howley PM, editors, 4th ed. Fields' Virology. New York: Lippincott Williams & Wilkins. 2001.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical Virology, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2004.

Richman DD. Antiviral drug resistance. *Antiviral Res*. 2006;71:117-121.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Diseases, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.

Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

50 Diagnóstico Laboratorial de Doenças Virais

Avanços no diagnóstico laboratorial de doenças virais tornaram a identificação de vírus em amostras clínicas mais rápida e sensível. Estes avanços incluem anticorpos (utilizados como reagentes) melhores para análise direta de amostras e técnicas de genética molecular para a identificação direta de genomas virais. Com frequência, o isolamento do organismo é desnecessário e descartado para minimizar o risco no laboratório e ao pessoal técnico envolvido. Quanto mais rápido for o processo laboratorial, mais rápida será a escolha da terapia antiviral apropriada.

A história do paciente e os sintomas fornecem as primeiras dicas no diagnóstico de uma infecção viral, com frequência pela exclusão de outros tipos de infecção (p. ex., bacteriana ou fúngica). Os exames laboratoriais de doenças virais são realizados para (1) confirmar o diagnóstico identificando o agente viral da infecção; (2) determinar a terapia antiviral apropriada; (3) definir o curso da doença; (4) monitorar a doença em termos epidemiológicos; e (5) educar os médicos e os pacientes.

Os métodos laboratoriais são capazes de obter os seguintes resultados:

1. Descrição dos **efeitos citopatológicos** (**CPE**) induzidos pelo vírus sobre as células.

2. Detecção por microscopia eletrônica de partículas virais.

3. Isolamento e crescimento do vírus.

4. Detecção de componentes virais (p. ex., proteínas, enzimas, genomas).

5. Avaliação da resposta imune do paciente ao vírus (**sorologia**).

As técnicas moleculares e imunológicas usadas em muitos desses procedimentos estão descritas nos Capítulos 16 e 17. Vírus, antígenos virais, genomas virais e CPE podem ser detectados por meio de análise direta de amostras clínicas ou após o crescimento do vírus em cultura de células de tecidos no laboratório (Quadro 50-1).

Quadro 50-1 Procedimentos Laboratoriais para Diagnóstico de Infecções Virais

Exame citológico
Microscopia eletrônica
Isolamento e crescimento em cultura do vírus
Detecção de proteínas virais (antígenos e enzimas)
Detecção do genoma viral
Sorologia

Coleta de Amostras

Os sintomas e a história do paciente, incluindo viagens recentes, a estação do ano e um diagnóstico presuntivo, ajudam a determinar os procedimentos apropriados a serem usados para identificar um agente viral (Tab. 50-1). Por exemplo, um quadro de encefalite focal com localização do lobo temporal, precedida por cefaleias e desorientação, sugere infecção pelo vírus herpes simples (HSV), para o qual o líquido cefalorraquidiano é analisado pela pesquisa de sequências do ácido desoxirribonucleico (DNA) viral. Esta pesquisa é realizada por amplificação do genoma viral através da reação em cadeia da polimerase (PCR). O desenvolvimento dos sintomas da meningite durante o verão sugere arbovírus, caso em que amostras do líquido cefalorraquidiano (LCR) e do sangue deverão ser colhidas, ou um enterovírus, para o qual amostras de LCR, *swab* da garganta e fezes deverão ser colhidas para análise por PCR e possível isolamento do vírus.

Tabela 50-1 Amostras para Diagnóstico Viral

Vírus Patogênicos Comuns	Amostras para Cultura	Comentários
Trato Respiratório		
Adenovírus; vírus influenza; enterovírus (picornavírus); rinovírus; paramixovírus; vírus da rubéola; HSV	Lavado nasal, *swab* da garganta, *swab* nasal, escarro.	O enterovírus também é excretado nas fezes
Trato Gastrointestinal		
Reovírus; rotavírus; adenovírus; vírus Norwalk, calicivírus	Fezes, *swab* retal	As amostras são analisadas por microscopia eletrônica e detecção de antígenos (ELISA); os vírus não são cultiváveis
Exantema maculopapular		
Adenovírus, enterovírus (picornavírus)	*Swab* da garganta, *swab* retal	—
Vírus da rubéola; vírus do sarampo	Urina	—
Exantema Vesicular		
Vírus Coxsackie; echovírus; HSV; VZV	Líquido de vesículas, raspagem ou *swab*, enterovírus nas fezes	Diagnóstico inicial de HSV e VZV pode ser obtido de raspado da vesícula (esfregaço de Tzanck)
Sistema Nervoso Central (Meningite Asséptica, Encefalite)		
Enterovírus (picornavírus)	Fezes	PCR
Arbovírus (p. ex., togavírus, bunyavírus)	Raramente cultivados	Diagnóstico feito por testes sorológicos
Vírus da raiva	Tecido, saliva, biópsia cerebral	Diagnóstico através da pesquisa de antígenos por imunofluorescência
HSV; CMV; vírus da caxumba; vírus do sarampo	Líquido cefalorraquidiano	PCR, isolamento do vírus e pesquisa de antígenos
Trato Urinário		
Adenovírus; CMV	Urina	O CMV pode ser excretado sem doença aparente
Sangue		
HIV; vírus da leucemia humana de células T; vírus da hepatite B, C e D	Sangue	Detecção sorológica de antígeno ou anticorpo (ELISA), PCR e RT-PCR

Dados de Cherneskey MA, et al: Cumitech 15: Laboratory Diagnosis of Viral Infections. Washington, DC, ASM Press, 1982: e de Hsiung GD: Diagnostic Virology.

New Haven, Conn, Yale, 1982.

CMV: citomegalovírus; ELISA: ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas; HIV: vírus da imunodeficiência humana; HSV: vírus herpes simples; PCR: reação em cadeia da polimerase; RT-PCR: PCR após transcrição reversa; VZV: vírus varicela-zóster.

A seleção da amostra apropriada para cultura viral é frequentemente complicada, uma vez que vários vírus podem causar a mesma doença clínica. Por exemplo, muitos agentes podem causar meningite asséptica, de modo que pode ser necessária a obtenção de vários tipos de amostra para identificar o agente etiológico.

As amostras deverão ser colhidas logo no início da fase aguda da infecção, antes que o vírus deixe de ser excretado nas secreções do indivíduo infectado. Os vírus respiratórios, por exemplo, podem ser liberados apenas entre 3 e 7 dias e essa excreção pode cessar antes que os sintomas desapareçam. O HSV e o vírus varicela-zóster (VZV) podem não ser recuperáveis de lesões após 5 dias do início dos sintomas. Pode ser possível isolar um enterovírus do líquido cefalorraquidiano durante apenas 2 a 3 dias do início das manifestações do sistema nervoso central. Além disso, os anticorpos produzidos em resposta à infecção podem bloquear a detecção do vírus.

Quanto mais curto o intervalo entre a coleta de uma amostra e sua entrega no laboratório, maior o potencial para isolamento de um vírus. Isso porque muitos vírus são lábeis e as amostras são suscetíveis ao crescimento bacteriano e/ou fúngico. Os vírus são mais bem transportados e armazenados sob congelamento e em meio especial contendo antibióticos e proteínas, como albumina sérica ou gelatina. Perdas significativas em títulos infecciosos ocorrem quando vírus envelopados (p. ex., HSV, VZV, vírus influenza) são mantidos à temperatura ambiente ou congelados a – 20°C. Isso não é um risco para os vírus não envelopados (p. ex., adenovírus e enterovírus).

Citologia

Muitos vírus produzem um efeito citopatológico (CPE) característico. Na amostra de tecido ou na cultura celular os efeitos citopatológicos característicos incluem alterações na morfologia da célula, lise celular, vacuolização, formação de sincícios (Fig. 50-1) e corpos de inclusão. Os **sincícios** são células gigantes multinucleadas formadas por fusão viral de células individuais. Paramixovírus, HSV, VZV e HIV promovem a formação de sincícios. **Corpos de inclusão** são ou alterações histológicas nas células, causadas por componentes virais, ou alterações nas estruturas celulares induzidas pelo vírus. Por exemplo, os corpos de inclusão em "olho de coruja" encontrados nas células dos tecidos infectados com CMV (Cap. 53, Fig. 53-17) ou no sedimento da urina de pacientes com a infecção são prontamente identificáveis. As inclusões de Cowdry tipo A em células únicas ou em grandes sincícios (células múltiplas fundidas) são um achado característico em células infectadas com HSV ou VZV (Fig. 50-2). A raiva pode ser detectada por meio dos corpúsculos de Negri (inclusões do vírus da raiva) em tecido cerebral (Fig. 50-3).

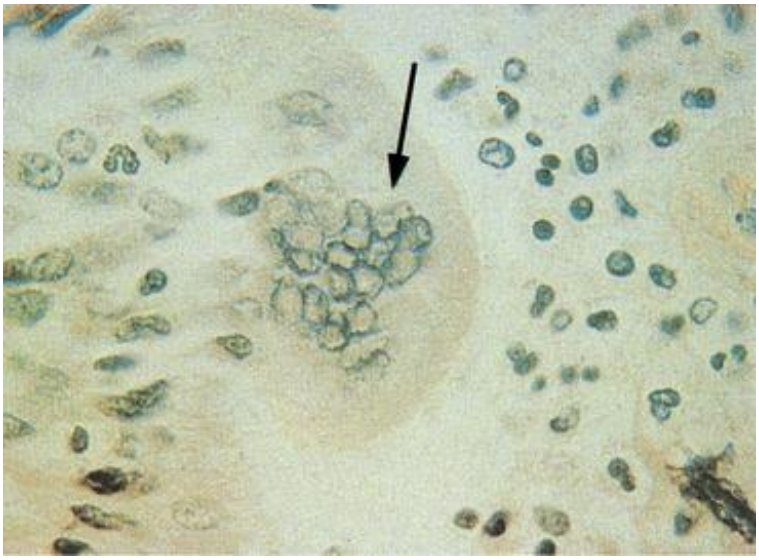


Figura 50-1 Formação de sincícios pelo vírus do sarampo. Célula gigante multinucleada (*seta*) visível em corte histológico de tecido de biópsia do pulmão de um quadro de pneumonia de células gigantes induzida pelo vírus do sarampo em criança imunocomprometida.

(Cortesia de Hart C, Broadhead RL: Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases, London, Wolfe, 1992.)

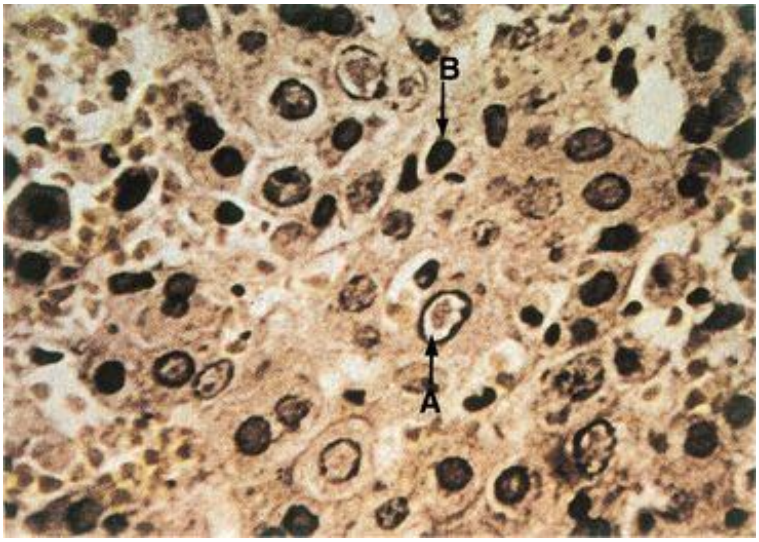


Figura 50-2 CPE induzido por HSV. Uma amostra de biópsia de um fígado infectado com HSV mostra um corpúsculo de inclusão intranuclear eosinofílico do tipo Cowdry A (*A*) cercado por um halo e um anel de cromatina deslocado para perto da membrana nuclear. Uma célula infectada (*B*) mostra núcleo condensado menor (picnótico). CPE: efeito citopatológico; HSV: vírus herpes simples.

(Cortesia do Dr. J. I. Puch, St. Albans; de Emond RT, Rowland HAK: A Color Atlas of Infectious Diseases, 3rd. Ed., London, Mosby, 1995.))

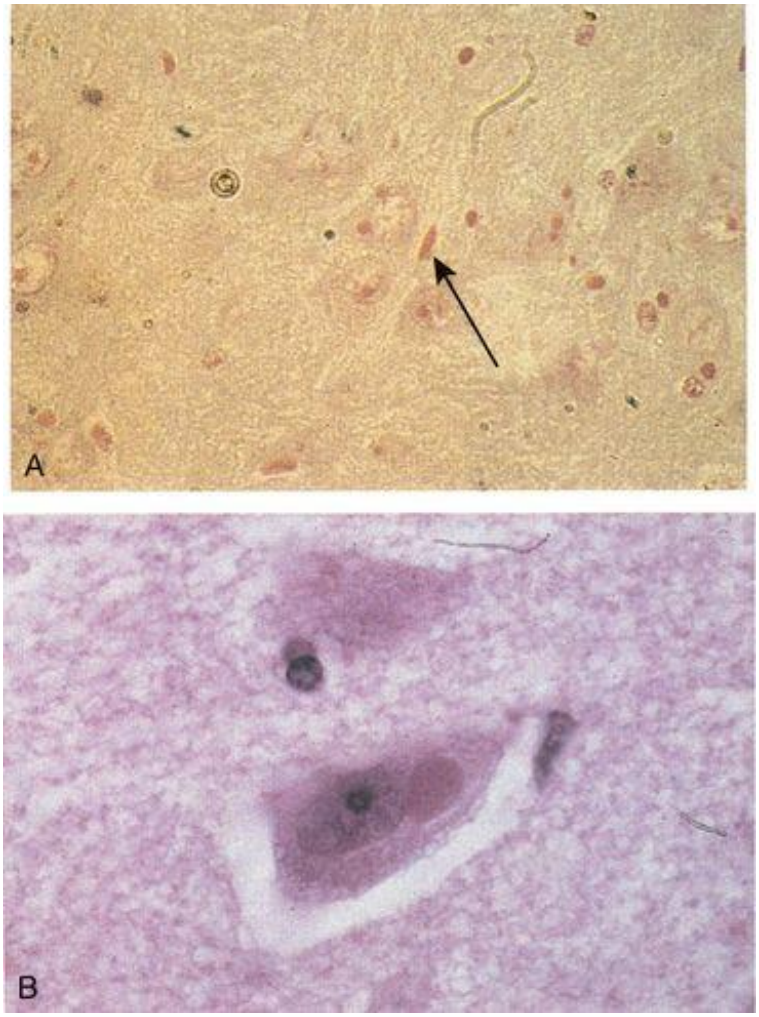


Figura 50-3 Corpúsculos de Negri causados por raiva. **A,** Corte do cérebro de um paciente com raiva mostrando corpúsculos de Negri (*seta*). **B,** Ampliação de outra amostra de biópsia.

*(**A,** Cortesia de Hart C, Broadhead RL: Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases, London, Wolfe, 1992.)*

Frequentemente, as amostras citológicas serão examinadas quanto à presença de antígenos virais específicos por imunofluorescência, ou genomas virais através da hibridização *in situ* ou PCR, permitindo uma identificação rápida e definitiva. Esses testes são específicos para vírus individuais e devem ser escolhidos com base no diagnóstico diferencial. Esses métodos serão discutidos nos próximos parágrafos.

Microscopia Eletrônica

A microscopia eletrônica não é uma técnica padrão em laboratórios clínicos, mas pode ser usada para detectar e identificar alguns vírus, se houverem partículas virais suficientes. A adição do anticorpo específico contra o vírus em uma amostra pode provocar o acúmulo das partículas virais, facilitando a detecção e a identificação simultâneas do vírus (microscopia imunoeletrônica). Esse método é útil para a detecção dos vírus entéricos, como o rotavírus, que são produzidos em abundância e possuem morfologia característica. O tecido de biópsia ou de amostra clínica processado de maneira apropriada também pode ser examinado quanto à presença de estruturas virais.

Isolamento e Cultivo Viral

Um vírus pode ser cultivado em cultura de tecido, em ovos embrionados e em animais de experimentação (Quadro 50-2). Embora ovos embrionados ainda sejam usados para o crescimento de vírus para algumas vacinas (p. ex., influenza), em laboratórios clínicos foram substituídos por culturas de células para o isolamento rotineiro de vírus. Animais experimentais são raramente usados em laboratórios clínicos para fins de isolamento viral.

Quadro 50-2 Sistemas para Propagação de Vírus

Pessoas

Animais: vacas (p. ex., vacina de Jenner contra a varíola), galinhas, camundongos, ratos e camundongos lactentes

Ovos embrionados

Cultura de órgãos

Cultura de tecidos

Primária

Linhagens de células diploides

Linhagens de células tumorais ou imortalizadas

Cultura de Células

Tipos específicos de células de cultura tecidual são usados para o crescimento de vírus. As **culturas de células primárias** são obtidas separando-se órgãos específicos dos animais com tripsina ou colagenase. As células resultantes desse método são então cultivadas como monocamadas (fibroblastos ou células epiteliais) ou em suspensão (linfócitos) em meio artificial complementado com soro bovino ou outra fonte de fatores de crescimento. As células primárias podem ser dissociadas com tripsina, diluídas e deixadas para crescer em novas monocamadas (*passagem*) para se tornarem culturas de células secundárias. **Linhagens de células diploides** são culturas de um único tipo celular capaz de se submeter a um grande número de passagens, embora não infinitas, antes de envelhecerem, ou sofrerem alteração significativa em suas características. **Linhagens de células tumorais** e **linhagens de células imortalizadas** são obtidas a partir de tumores de pacientes, por exposição a vírus ou elementos químicos, consistem em tipos celulares únicos que podem ser submetidos a passagens contínuas sem envelhecerem.

Células primárias do rim do macaco são excelentes para o isolamento de vírus influenza, paramixovírus, muitos enterovírus e alguns adenovírus. Células diploides fetais humanas, geralmente fibroblásticas, suportam o crescimento de um amplo espectro de vírus (p. ex., HSV, VZV, CMV, adenovírus, picornavírus). Células HeLa, uma linhagem contínua de células epiteliais derivadas de um câncer humano, são excelentes para o isolamento de vírus respiratórios sinciciais, de adenovírus e do HSV. Muitos vírus clinicamente significativos podem ser isolados em pelo menos uma dessas culturas celulares.

Detecção Viral

Um vírus pode ser detectado e inicialmente identificado por meio da observação dos efeitos citopatológicos (CPEs) induzidos pelo vírus na monocamada de células (Quadro 50-3; Fig. 50-4) ou por imunofluorescência ou análise do genoma da cultura das células infectadas. Por exemplo, um único vírus infecta, dissemina-se e destrói as células adjacentes (**considerando cultura viral em placa**). O tipo celular utilizado para a cultura, as características dos efeitos citopatológicos e a rapidez do crescimento viral podem ser usados para identificar inicialmente muitos vírus clinicamente importantes. Essa abordagem para identificação de vírus é semelhante àquela usada para identificar bactérias, a qual se baseia no crescimento e na morfologia das colônias em meios diferenciais seletivos.

Quadro 50-3 Efeitos Citopatológicos Virais

Morte da célula:
Arredondamento da célula
Degeneração
Agregação
Perda de adesão com a placa de cultura
Alterações histológicas características: corpos de inclusão no núcleo ou no citoplasma, marginação de cromatina
Sincícios: células gigantes multinucleadas, causados pela fusão celular de células induzida pelo vírus
Alterações na superfície da célula:
Expressão de antígeno viral
Hemadsorção (expressão de hemaglutinina)

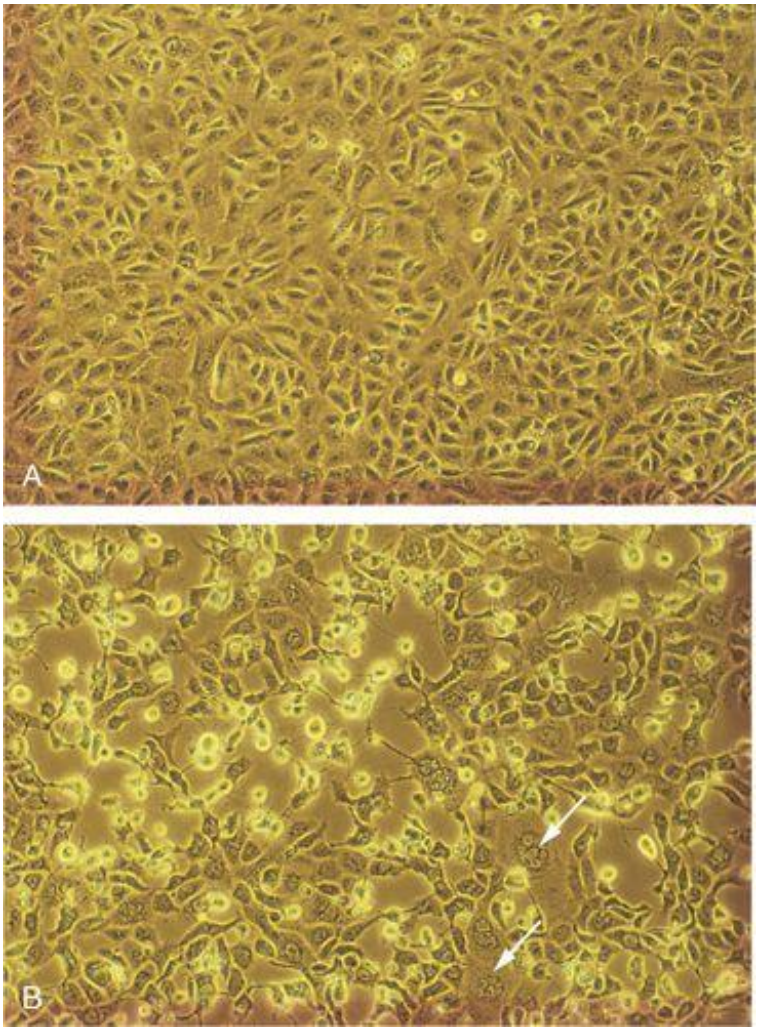


Figura 50-4 Efeito citopatológico de infecção por HSV. **A,** Células Vero, uma linhagem celular de rim de macaco verde africano, não infectadas; **B**, Células Vero infectadas com HSV-1 mostrando células arredondadas e multinucleadas, além da perda da monocamada. *As setas indicam os sincícios*.

Alguns vírus crescem lentamente ou simplesmente não crescem ou ainda não causam CPE imediato em linhagens celulares usadas tipicamente em laboratórios de virologia clínica. Alguns causam doenças que são perigosas aos profissionais do laboratório. Esses vírus são mais frequentemente diagnosticados com base em achados sorológicos ou através da detecção de genomas ou proteínas/antígenos virais.

Propriedades virais características também podem ser usadas para identificar vírus que não possuem efeito citopatológico clássico. O vírus da rubéola, p. ex., pode não causar CPE, mas interfere na replicação dos picornavírus em um processo conhecido por **interferência heteróloga**, que pode ser usada para identificar esse vírus. As células infectadas com o vírus influenza, parainfluenza, vírus da caxumba e togavírus expressam uma glicoproteína viral (hemaglutinina) que se liga aos eritrócitos de espécies animais definidas à superfície da célula infectada (**hemadsorção**) (Fig. 50-5). Quando liberados no meio de cultura celular, esses vírus podem ser detectados a partir da aglutinação de eritrócitos, um processo denominado de **hemaglutinação**. O vírus poderá então ser identificado a partir do anticorpo específico que bloqueia a hemaglutinação, num processo chamado de **inibição de hemaglutinação (HI**, para *hemagglutination inhibition*). Uma abordagem inovadora para detecção do vírus herpes simples usa células de cultura de tecido geneticamente modificadas que expressam o gene β-galactosidase e podem ser coradas de azul quando infectadas com HSV (sistema enzimático de indução de vírus - ELVIS, para *enzyme-linked virus inducible system*).

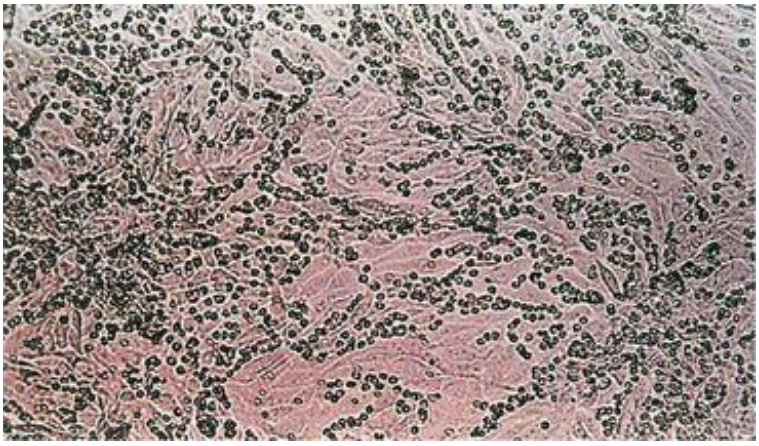


Figura 50-5 Hemadsorção de eritrócitos para células infectadas com vírus influenza, da caxumba, parainfluenza ou togavírus. Esses vírus expressam hemaglutinina em sua superfície, que adere aos eritrócitos das espécies animais selecionadas.

Um vírus pode ser quantificado determinando-se a maior diluição que retém as seguintes propriedades (**título**):

1. **Dose em cultura de tecido (TCD_{50}):** título do vírus que causa efeitos citopatológicos em metade das células da cultura tecidual.

2. **Dose letal (LD_{50}):** título do vírus que mata 50% de um conjunto de animais experimentais.

3. **Dose infecciosa (ID_{50}):** título de vírus que inicia um sintoma detectável, anticorpo ou outra resposta em 50% de um conjunto de animais experimentais.

O número de vírus infecciosos também pode ser avaliado com a contagem das placas produzidas por diluições de 10 vezes da amostra (**unidades formadoras de placas**). A proporção de partículas virais (detectadas por microscopia eletrônica) em relação às unidades formadoras de placas é sempre maior que 1, pois numerosas partículas virais defeituosas são produzidas durante a replicação viral.

Interpretação dos Resultados da Cultura

Em geral, a detecção de qualquer vírus em tecidos do hospedeiro, no líquido cefalorraquidiano, sangue ou líquido de vesículas pode ser considerada um achado altamente significativo. Entretanto, a propagação viral também pode ser induzida por uma condição subjacente (p. ex., outra infecção, um estado de imunossupressão, estresse) e pode, portanto, não estar relacionada aos sintomas da doença. Certos vírus podem ser excretados intermitentemente sem causar sintomas na pessoa afetada, por períodos que variam de semanas (enterovírus nas fezes) a muitos meses ou anos (HSV ou CMV na orofaringe e na vagina; adenovírus na orofaringe e no trato intestinal). Além disso, o vírus poderá não ser isolado de uma amostra se esta for manuseada inadequadamente, se contiver anticorpo neutralizante ou se foi obtida antes ou depois da excreção viral.

Detecção de Proteínas Virais

Enzimas e outras proteínas são produzidas durante a replicação viral e podem ser detectadas por meios bioquímicos, imunológicos e de biologia molecular (Quadro 50-4). As proteínas virais podem ser separadas por eletroforese e seus padrões usados para identificar e distinguir vírus diferentes. Por exemplo, as proteínas das células infectadas por HSV e as proteínas dos vírions quando separadas por eletroforese exibem padrões diferentes para diferentes tipos e cepas de HSV-1 e HSV-2.

Quadro 50-4 Ensaios para Proteínas Virais e Ácidos Nucleicos

Proteínas

Padrões de proteínas (eletroforese)

Atividades enzimáticas (p. ex., transcriptase reversa)

Hemaglutinação e hemadsorção

Detecção de antígenos (p. ex., imunofluorescência direta e indireta, ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas, *Western blot*)

Ácidos Nucleicos

Padrões de clivagem com endonuclease de restrição

Tamanho do RNA em vírus de RNA segmentados (eletroforese)

Hibridização *in situ* do genoma do DNA (citoquímica)

*Southern blo*t, *Northen blot* e *dot blot*

PCR (DNA)

PCR após transcrição reversa (RNA)

PCR em tempo real

b-DNA e testes relacionados (DNA, RNA)

PCR, reação em cadeia da polimerase

A detecção e o ensaio de enzimas ou atividades características podem identificar e quantificar vírus específicos. Por exemplo, a presença da transcriptase reversa no soro ou em culturas celulares indica a presença de um retrovírus. De modo semelhante, a hemaglutinação ou a hemadsorção podem ser aplicadas para detectar a hemaglutinina produzida pelo vírus influenza.

Os anticorpos podem ser usados como ferramentas sensíveis e específicas para detectar, identificar e quantificar o vírus e o antígeno viral em amostras clínicas ou culturas celulares (imuno-histoquímica). Especificamente, anticorpos monoclonais ou monoespecíficos são úteis para a distinção dos vírus. Antígenos virais na superfície da célula ou em seu interior podem ser detectados por **imunofluorescência** e por ensaio imunoenzimático (EIA, para *enzyme imunoassay*) (Cap. 17, Figs. 17-2 e 17-3). Vírus ou antígenos liberados de células infectadas podem ser detectados por **ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas (ELISA –**; ***enzyme-linked immunosorbent assay*)**, por radioimunoensaio (RIA - *radioimmunoassay*) e por **aglutinação de látex (LA –**; ***latex aglutination*)** (definições no Cap. 17). Testes para agentes virais específicos são comercialmente disponíveis.

A detecção do CMV e de outros vírus pode ser reforçada pelo uso de uma combinação de cultura celular e meios imunológicos. Nesse método, a amostra clínica é centrifugada, sobre células cultivadas em uma lamínula no fundo de um tubo de ensaio (***Shell vial***). Esse procedimento aumenta a eficiência e acelera a progressão da infecção das células sobre a lamínula. As células podem então ser analisadas por imunofluorescência (**fluorescência direta**) ou EIA para antígenos virais precoces, que são detectáveis dentro de 24 horas, em vez da espera de 7 a 14 dias para a manifestação de um efeito citopatológico.

Detecção de Material Genético Viral

A estrutura e a sequência genética do genoma são as principais características de distinção da família, tipo e cepa de vírus (Quadro 50-4). Os padrões eletroforéticos de ácido ribonucleico (RNA) (influenza, reovírus) ou tamanho dos fragmentos de restrição por endonucleases dos genomas virais de DNA são como impressões digitais genéticas para esses vírus. Cepas diferentes de HSV-1 e HSV-2 podem ser diferenciadas por polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP - *restriction fragment length polymorphism)*. Novos métodos para detecção de genoma viral usam sondas genéticas específicas para cada sequência e abordagens de amplificação do DNA semelhantes à PCR, que permite análise de vírus infecciosos mais rápida e com risco minimizado.

As sondas de DNA, com sequências complementares a regiões específicas de um genoma viral, podem ser usadas de modo similar a anticorpos, como ferramentas sensíveis e específicas de detecção de um vírus. Essas sondas podem detectar o vírus mesmo na ausência da replicação viral. A análise por sondas de DNA é especialmente útil para detectar vírus não produtivos ou de replicação lenta como CMV e papilomavírus, para os quais não existe CPE, ou quando o antígeno viral não pode ser detectado por meio de testes imunológicos (Cap. 16, Fig. 16-3). Sequências genéticas virais específicas em amostras de biópsia de tecido fixado e permeabilizado podem ser detectadas por **hibridização *in situ***.

Os genomas virais também podem ser detectados em amostras clínicas com o uso de ***dot blot*** ou ***Southern blot***. Neste último método, o genoma viral ou os fragmentos de clivagem do genoma por endonucleases de restrição são separados por eletroforese e transferidos para membranas de nitrocelulose e a seguir detectados nas membranas por sua hibridização a sondas de DNA. O RNA viral separado por eletroforese (***Northen blot*****:** hibridização com sondas de RNA:DNA) e transferido para uma membrana de nitrocelulose pode ser detectado de modo semelhante. As sondas de DNA são detectadas por autorradiografia ou métodos fluorescentes ou ainda semelhantes ao EIA. Já estão disponíveis comercialmente muitas sondas virais e *kits* para detecção de vírus.

Para muitos laboratórios, a pesquisa de genomas virais por **PCR, PCR após transcrição reversa (RT-PCR)** e ensaios relacionados está se transformando na principal ferramenta para detecção e identificação de diversos vírus. O uso de *primers* apropriados para PCR pode promover amplificação de um milhão de vezes de uma sequência-alvo em poucas horas. Essa técnica é especialmente útil para detectar sequências latentes e integradas de vírus como: retrovírus, herpesvírus, papilomavírus e outros papovavírus, como a evidência de vírus presente em baixas concentrações e em vírus cujo isolamento seja muito difícil ou perigoso em culturas celulares. A técnica RT-PCR usa a transcriptase reversa retroviral para converter RNA viral em DNA e permitir a amplificação por PCR das sequências de ácido nucleico viral. Essa abordagem foi muito útil para identificar e distinguir os hantavírus que causaram o surto no Novo México em 1993.

A quantificação do nº cópias de HIV em um paciente (carga viral) pode ser determinada por **PCR em tempo real**. A concentração do genoma do HIV em uma amostra de sangue é proporcional à taxa de amplificação do PCR do DNA genômico.

O PCR é o protótipo para várias outras técnicas de amplificação do genoma do HIV. A **amplificação baseada na transcrição** usa transcriptase reversa e *primers* específicos de sequencias virais para fazer um DNA complementar (cDNA) que também possui uma sequência reconhecida pela RNA polimerase dependente do DNA do bacteriófago T7. O DNA é transcrito em RNA pela T7 RNA polimerase e os novos fragmentos de RNA formados são então ciclados na reação para ampliar a sequência relevante. Diferentemente do PCR, essas reações não exigem equipamento especial.

Outras amplificações de genoma e abordagens de detecção são similares, em conceito, ao ELISA. Essas abordagens usam fragmentos de DNA imobilizados complementares à sequência genômica viral relevante para capturar o genoma viral, seguidas pela adesão de outra sequência complementar que contém um sistema de detecção. A sequência cDNA pode

ser anexa a uma **cadeia ramificada de DNA** extensa na qual cada um dos ramos provoca uma reação que amplifica o sinal para níveis detectáveis. Este tipo de ensaio é chamado de b-DNA (*branched-DNA ou DNA ramificado)*. Outra variação do tema usa um anticorpo que reconhece complexos de DNA-RNA para capturar híbridos de sonda de DNA-RNA viral no poço de um placa, seguido de um anticorpo marcado com enzima e métodos ELISA para detectar a presença do genoma. Como o ELISA, esses métodos podem ser automatizados e definidos para analisar um painel de vírus.

Sorologia Viral

A resposta imune humoral fornece a história das infecções de um paciente. Estudos sorológicos são usados para a identificação de vírus difíceis de serem isolados e cultivados em cultura celular, como de vírus que causam doenças de longa duração (Quadro 17-2). A sorologia pode ser usada para identificar o vírus e sua cepa ou sorotipo, para diferenciar doença aguda de crônica e ainda determina se a infecção é primária ou trata-se de uma reinfecção. A detecção de **anticorpo imunoglobulina M (IgM) específico para o vírus**, que está presente durante as 2 ou 3 primeiras semanas de uma infecção primária, geralmente indica infecção primária recente. A **soroconversão** é indicada por, pelo menos, um **aumento de quatro vezes no título do anticorpo** entre o soro obtido durante a fase aguda da doença e aquele obtido pelo menos 2 a 3 semanas mais tarde, durante a fase de convalescência. A reinfecção ou recorrência em outro momento da vida do paciente causa resposta de memória (secundária ao reforço). Os títulos de anticorpo podem permanecer elevados em pacientes que sofrem recorrência frequente de uma doença (p. ex., herpesvírus).

Devido à imprecisão inerente de ensaios sorológicos baseados em diluições seriadas que dobram o fator de diluição, é necessário um aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre a fase aguda e a convalescença para indicar a soroconversão. Por exemplo, amostras com 512 e 1.023 unidades de anticorpos ambas forneceriam positividade para presença de anticorpos na diluição de 512 vezes, mas não em diluição de 1.024 vezes e os títulos de ambas seriam informados como 512. Por outro lado, amostras com 1.020 e 1.030 unidades não são significativamente diferentes, mas seriam informadas com títulos de 512 e 1.024, respectivamente.

O curso de uma infecção crônica também pode ser avaliado pelo perfil sorológico. Especificamente, a presença de anticorpos para vários antígenos virais essenciais e seus títulos pode ser usada para identificar o estágio da doença causada por certos vírus. Essa abordagem é especialmente útil para o diagnóstico de doenças virais com cursos lentos (p. ex., hepatite B, mononucleose infecciosa causada pelo vírus Epstein-Barr). Em geral, os primeiros anticorpos a serem detectados são direcionados contra os antígenos mais evidentes para o sistema imune (p. ex., expressos no vírion ou em superfícies de células infectadas). Posteriormente à infecção, quando as células já sofreram lise devido ao vírus infectante à resposta imune celular, anticorpos direcionados contra as proteínas e enzimas virais intracelulares são detectados. Por exemplo, os anticorpos contra o envelope e capsídeo do vírus Epstein-Barr são detectados primeiro. Depois, durante a convalescença, são detectados anticorpos contra antígenos nucleares, como o antígeno nuclear do vírus Epstein-Barr.

Um painel ou bateria sorológica consistindo em ensaios para vários vírus pode ser usado para o diagnóstico de certas doenças. Fatores epidemiológicos locais, a época do ano e os fatores do paciente como imunocompetência, história de viagens e idade influenciam a escolha dos ensaios virológicos a serem incluídos no painel. Por exemplo, o HSV e os vírus da caxumba, das encefalites equinas ocidental e oriental e das encefalites de St. Louis, do Oeste do Nilo e da Califórnia poderiam ser incluídos em um painel de testes para doenças do sistema nervoso central.

Métodos de Testes Sorológicos

Os testes sorológicos usados em virologia são apresentados no Capítulo 17, Quadro 17-1, e descritos com mais detalhes no Capítulo 1. A **neutralização** e os **testes HI** (inibição de hemaglutinação) estudam os anticorpos com base em seu reconhecimento e ligação ao vírus. O revestimento do vírus por anticorpos bloqueia sua ligação às células indicadoras (Fig. 50-6). A neutralização envolve a inibição, pelo anticorpo, da infecção e dos efeitos citopatológicos do vírus em células de cultura de tecidos. Uma resposta de neutralização por anticorpos é específica para o vírus e a cepa. A presença do anticorpo se dá frequentemente com o início dos sintomas e persiste por longos períodos. O teste HI é usado para a identificação de vírus que podem, seletivamente, aglutinar eritrócitos de várias espécies animais (p. ex., galinhas, porcos da Índia, humanos). A presença de anticorpos no soro evita que uma quantidade padronizada de vírus se ligue aos eritrócitos e provoque sua aglutinação.

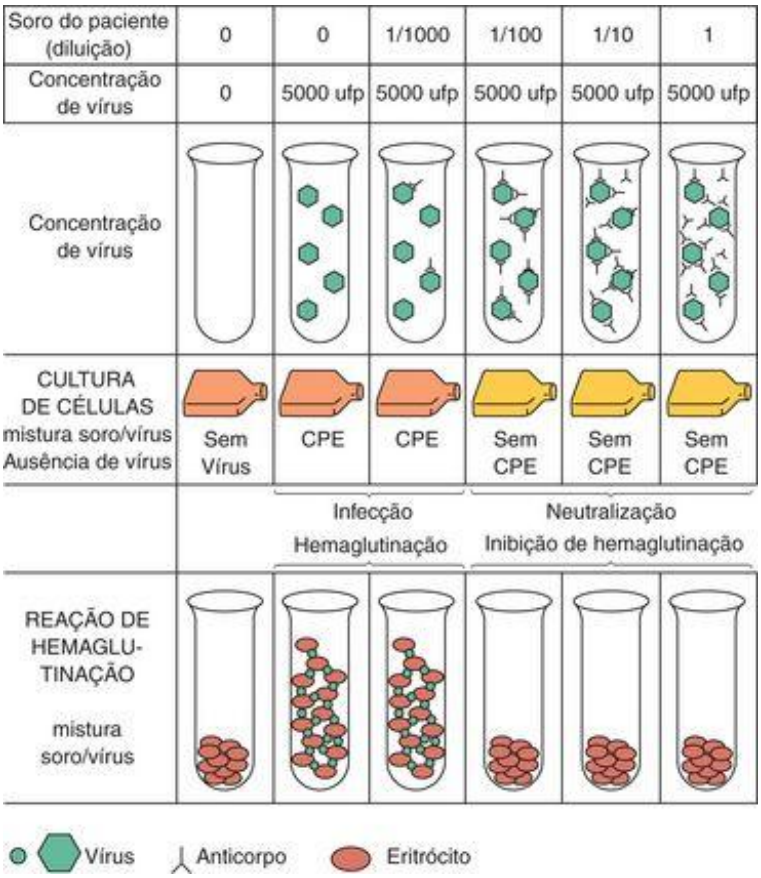


Figura 50-6 Ensaios de neutralização, hemaglutinação e inibição de hemaglutinação. No ensaio mostrado, diluições de 10 vezes de soro foram incubadas com vírus. Alíquotas da mistura foram então acrescentadas às culturas celulares ou eritrócitos. Na ausência de anticorpo, o vírus infectou a monocamada (indicada por CPE) e causou a hemaglutinação (ou seja, formou uma suspensão de eritrócitos semelhante a gel). Na presença do anticorpo, a infecção foi bloqueada (neutralização) e a hemaglutinação foi inibida, permitindo que os eritrócitos precipitem. O título de anticorpos no soro foi de 100 ufp (unidades formadoras de placas).

Exames envolvendo imunofluorescência indireta e os imunoensaios de fase sólida como **LA, ELISA** e **RIA** são usados, com frequência, para detectar e quantificar antígenos virais e anticorpos antivirais. O teste ELISA é usado para triagem do suprimento de sangue e excluir indivíduos que são soropositivos para os vírus da hepatite B, C e HIV. A análise por ***Western blot*** tornou-se muito importante para confirmar a soroconversão e, portanto, a infecção com HIV. A habilidade dos anticorpos do paciente em reconhecer proteínas virais específicas

separadas por eletroforese, transferidas para uma membrana (p. ex., nitrocelulose, nylon) e visualizadas através da adição de um anticorpo anti-humano conjugado com enzimas confirma o diagnóstico indicado pelo ELISA de infecção por HIV (Fig. 50-7).

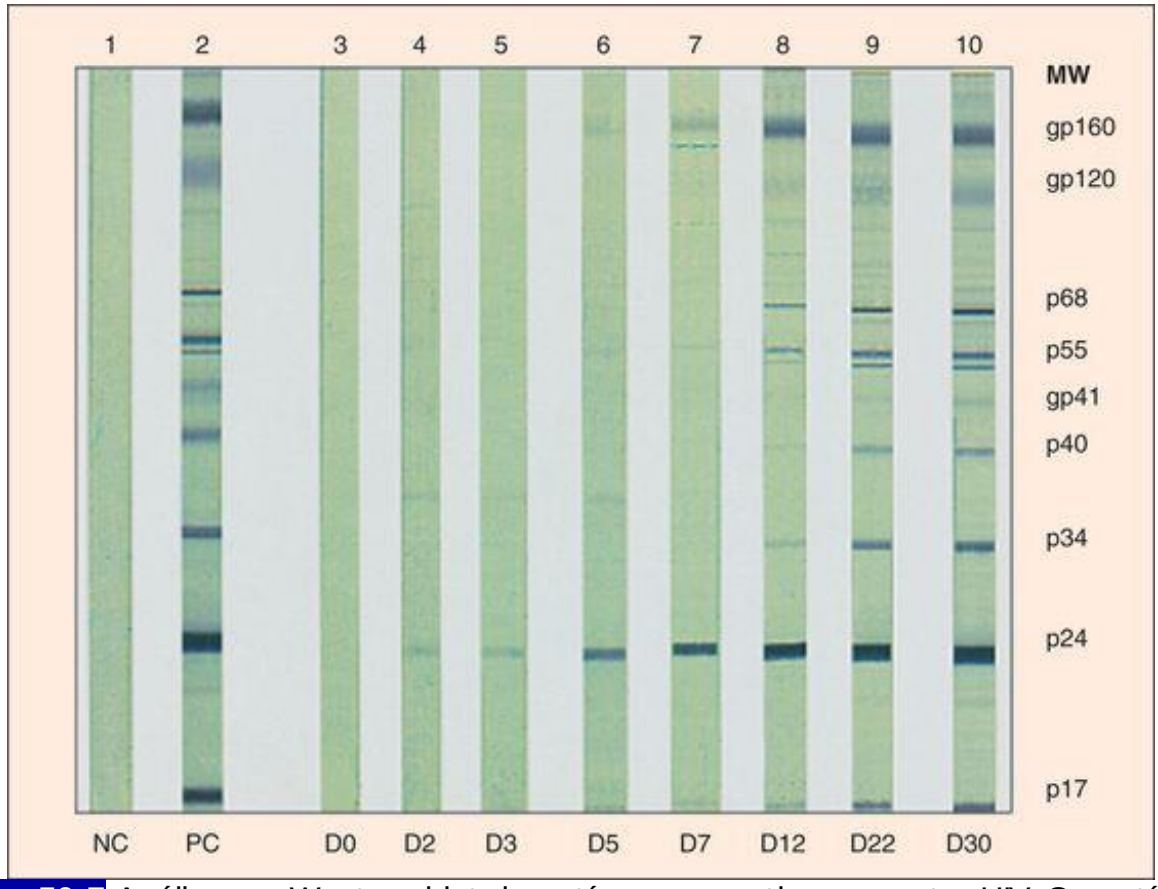


Figura 50-7 Análise por Western blot de antígenos e anticorpo contra HIV. Os antígenos proteicos do HIV são separados por eletroforese e transferidos para tiras de papel de nitrocelulose. A tira é então incubada com o anticorpo do paciente, lavada para remover o anticorpo não aderido e a seguir submetida à reação com anticorpo anti-humano conjugado com enzima e substrato cromóforo. O soro de uma pessoa infectada com HIV contém anticorpos contra este vírus, que se ligam e identificam às principais proteínas antigênicas de HIV. Esses dados demonstram a soroconversão de um indivíduo infectado com HIV com soro colhido no dia 0 (D0) ao dia 30 (D30), comparado a um controle positivo (CP) e a um controle negativo (CN) conhecidos.

(Cortesia de Kuritzkes DR: Diagnostic tests for HIV infection and resistance assays. In Cohen J, Powderly WG: Infectious Diseases, 2nd ed. St. Louis, Mosby, 2004.)

Limitações de Métodos Sorológicos

A presença de um anticorpo antiviral indica infecção prévia, mas não é suficiente para indicar quando essa infecção ocorreu. O achado de IgM específica ao vírus, o aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre soros coletados na fase aguda e na convalescença, ou perfis específicos de anticorpos são indicativos de infecção recente. Resultados falso-positivos ou falso-negativos podem confundir o diagnóstico. Além disso, o anticorpo do paciente pode estar ligado ao antígeno viral (como ocorre em pacientes com hepatite B) formando imunocomplexos, evitando assim a sua detecção. As reações sorológicas cruzadas entre vírus diferentes também podem confundir a identidade do agente infectante (p. ex., o vírus parainfulenxa e o vírus da caxumba expressam antígenos relacionados). Ao contrário, o anticorpo usado no ensaio pode ser muito específico (muitos anticorpos monoclonais) e não reconhecer outros vírus da mesma família, dando um resultado falso-negativo (p. ex., rinovírus). Uma boa compreensão dos sintomas clínicos e o conhecimento das limitações e dos problemas potenciais com ensaios sorológicos auxiliam no diagnóstico adequado.

Questões

1. Na autópsia de uma pessoa que faleceu por raiva, obtém-se uma amostra de tecido cerebral. Quais procedimentos poderão ser usados para confirmar a presença de células infectadas com o vírus da raiva nesse tecido?

1. Infecção pelo vírus da raiva pode ser identificada através da observação de corpúsculos de inclusão de Negri e da presença de proteínas virais por imunofluorescência.

2. Obtém-se um esfregaço cervical de Papanicolaou de uma mulher portadora de papiloma vaginal (verruga). Certos tipos de papiloma foram associados ao carcinoma cervical. Qual método ou métodos poderiam ser usados para detectar e identificar o tipo de papiloma nesse esfregaço?

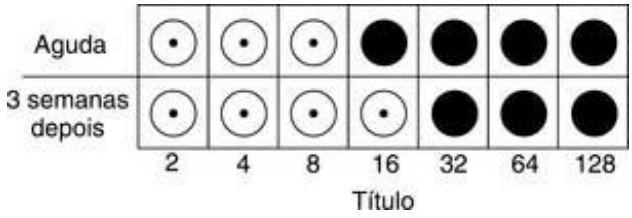
2. O genoma do HPV pode ser detectado e tipado por hibridização *in situ* usando sondas ou por PCR usando *primers* espécie-específicos. A imunofluorescência não é usada porque as proteínas virais são expressas em poucas células.

3. Um processo judicial deverá ser estabelecido para identificar a fonte de uma infecção por HSV. São obtidas amostras de soro e isolados de vírus da pessoa infectada e de dois contatos. Quais métodos deverão ser usados para determinar se a pessoa está infectada com HSV-1 ou HSV-2? Quais métodos poderão ser usados para comparar o tipo e a cepa de HSV obtidos de cada uma dessas três pessoas?

3. HSV1 e HSV2 podem ser diferenciados pelo uso de anticorpos específicos para cada um dos dois vírus. O anticorpo pode ser utilizado em um teste de neutralização, mas melhores resultados são conseguidos com uso de ELISA ou imunofluorescência. A técnica de PCR também possibilita distinguir entre HSV 1 e 2.

Cepas diferentes de vírus podem ser diferenciadas pelo uso da técnica de PCR com *primers* para regiões variáveis do genoma ou pelo polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP - r*estriction fragment length polymorphism)*.

4. Um homem de 50 anos de idade sofre de sintomas semelhantes aos da gripe. A figura a seguir mostra os resultados dos testes de inibição de hemaglutinação (HI) em amostras de soro colhidas quando a doença se manifestou (fase aguda) e 3 semanas depois. Os dados da HI para a cepa circulante de influenza A (H3N2) estão apresentados na parte superior. Os círculos preenchidos representam hemaglutinação. Esse paciente está ou não infectado pela cepa circulante do vírus influenza A?



4. A figura mostra que o título do soro convalescente testado 3 semanas após o soro agudo é diferente apenas por um tubo de diluição (duas vezes). Para que um resultado seja significativo, quando se trata de título de anticorpos, preconiza-se uma diferença de pelo menos de quatro vezes entre os dois soros. Portanto, o paciente não foi infectado pelo vírus H3N2.

5. Um oficial de polícia se perfura acidentalmente com a agulha da seringa de um viciado em drogas. Ele está preocupado com a possibilidade de ter sido infectado com o vírus do HIV. Amostras são colhidas desse oficial 1 mês depois, para análise. Quais ensaios seriam apropriados para determinar se o homem está infectado com o vírus? Nesse caso, pode ser cedo demais para detectar uma resposta de anticorpo ao vírus. Quais procedimentos seriam apropriados para detectar o vírus ou componentes virais?

5. Infecção recente pode ser indicada pela detecção do genoma do HIV, realizada por RT-PCR (transcrição reversa seguida de PCR) ou outra técnica de biologia molecular. A técnica de PCR, por exemplo, amplifica o genoma que pode estar presente na amostra. Ainda, demonstrar a presença da proteína viral p24 também seria uma indicação de infecção recente. É muito cedo para se obter uma indicação confiável de infecção pela presença de anticorpos contra o HIV.

Bibliografia

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester England: Wiley, 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Baily and Scott's Diagnostic Microbiology, 11th ed. St Louis: Mosby, 2007.

Hsiung GD. Diagnostic Virology, 3rd ed. New Haven Conn: Yale, 1982.

Knipe DM, Howley PM. Fields' Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Lennette EH. Laboratory Diagnosis of Viral Infections, 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1999.

Menegus MA. Diagnostic virology. Belshe RB, editor, 2nd ed. Textbook of Human Virology.

St Louis: Mosby. 1991.
Murray PR. Pocket Guide to Clinical Microbiology, 3rd ed. Washington DC: ASM Press, 2004.
Murray PR. et al: Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington DC: ASM Press, 2007.
Specter S. et al: Clinical Virology Manual, 3rd ed. Washington DC: ASM Press, 2000.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.
Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

Site

Viruses in cell culture: Disponível em www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/linda.html.

51 Papilomavárus e Poliomavárus

O que costumava ser chamado de **família papovavírus** (*Papovaviridae*) foi dividido em duas famílias, *Papillomaviridae* e *Polyomaviridae* (Tab. 51-1). Estes vírus são capazes de causar infecções líticas, crônicas, latentes e transformadoras, dependendo das células hospedeiras. Os papilomavírus humanos (HPVs) causam **verrugas**, e vários genótipos estão associados ao câncer humano (p. ex., **carcinoma cervical)**. Os vírus BK e JC, membros da *Polyomaviridae*, geralmente causam infecção assintomática, mas estão associados a doença renal e **leucoencefalopatia multifocal progressiva** (**PML** - *progressive multifocal leukoencephalopathy*), respectivamente, em pessoas imunocomprometidas. O vírus símio 40 (**SV40 –**; *simian virus 40*) é o protótipo dos poliomavírus.

Tabela 51-1 Papilomavírus Humano e Poliomavírus e suas Doenças

Vírus	Doença

Papilomavírus	Verrugas
Poliomavírus	
Vírus BK	Doença renal*
Vírus JC	Leucoencefalopatia multifocal progressiva*

* *Doença que ocorre em pacientes imunossuprimidos*.

Os papilomavírus e poliomavírus são vírus pequenos, não envelopados, de capsídeo icosaédrico, com genoma de ácido desoxirribonucleico (DNA) circular de dupla fita (Quadro 51-1). Eles codificam proteínas que promovem o crescimento celular. A promoção do crescimento celular facilita a replicação viral lítica em um tipo de célula permissiva, mas **pode transformar oncogenicamente uma célula que seja não permissiva**. Os poliomavírus, especialmente o SV40, foram extensivamente estudados como um modelo de vírus oncogênicos.

Quadro 51-1 Propriedades Características dos Poliomavírus e Papilomavírus

Vírion com pequeno capsídeo icosaédrico

O genoma de **DNA circular de dupla fita** é replicado e montado no núcleo

Papilomavírus: **HPV** tipos 1 a 58+ (determinados pelo genótipo; tipos definidos por homologia de DNA, tropismo para tecido e associação com oncogênese)

Poliomavírus: SV40, **vírus JC** e **vírus BK**

Os vírus possuem tropismos teciduais definidos, determinados por interações com receptores e pelo maquinário de transcrição das células

Os vírus codificam proteínas que promovem multiplicação celular por ligação às proteínas supressoras de crescimento celular p53 e p105RB (produto do gene de retinoblastoma p105). O antígeno T dos poliomas se liga à p105RB e p53. **E6 dos papilomas se liga à p53 e E7 se liga àp105RB**

Os vírus podem causar infecções líticas em células permissivas, mas causam infecções abortivas, persistentes, ou latentes ou ainda **imortalizam (transformam)** células não permissivas

Papilomavírus Humano

Estrutura e Replicação

A classificação dos HPVs é baseada em uma homologia de sequência de DNA. Pelo menos 100 tipos foram identificados e classificados em 16 grupos (A a P). O HPV pode ser ainda distinguido como **HPV cutâneo** ou **HPV de mucosa** com base no tecido suscetível. Entre os HPVs de mucosa, existe um grupo associado ao câncer cervical. Vírus em grupos similares frequentemente causam tipos semelhantes de verrugas.

O **capsídeo icosaédrico** de HPV tem 50 a 55nm de diâmetro e consiste em 2 proteínas estruturais formando 72 capsômeros (Fig. 51-1). O genoma do HPV é **circular** e possui aproximadamente 8 mil pares de bases. O DNA do HPV codifica sete ou oito genes precoces (E1 a E8), conforme o vírus, e dois genes tardios ou estruturais (L1 e L2). Uma região reguladora contém as sequências de controle para transcrição, a sequência *N*-terminal compartilhada para proteínas precoces e a origem da replicação. Todos os genes estão localizados em uma fita (fita positiva) (Fig. 51-2).

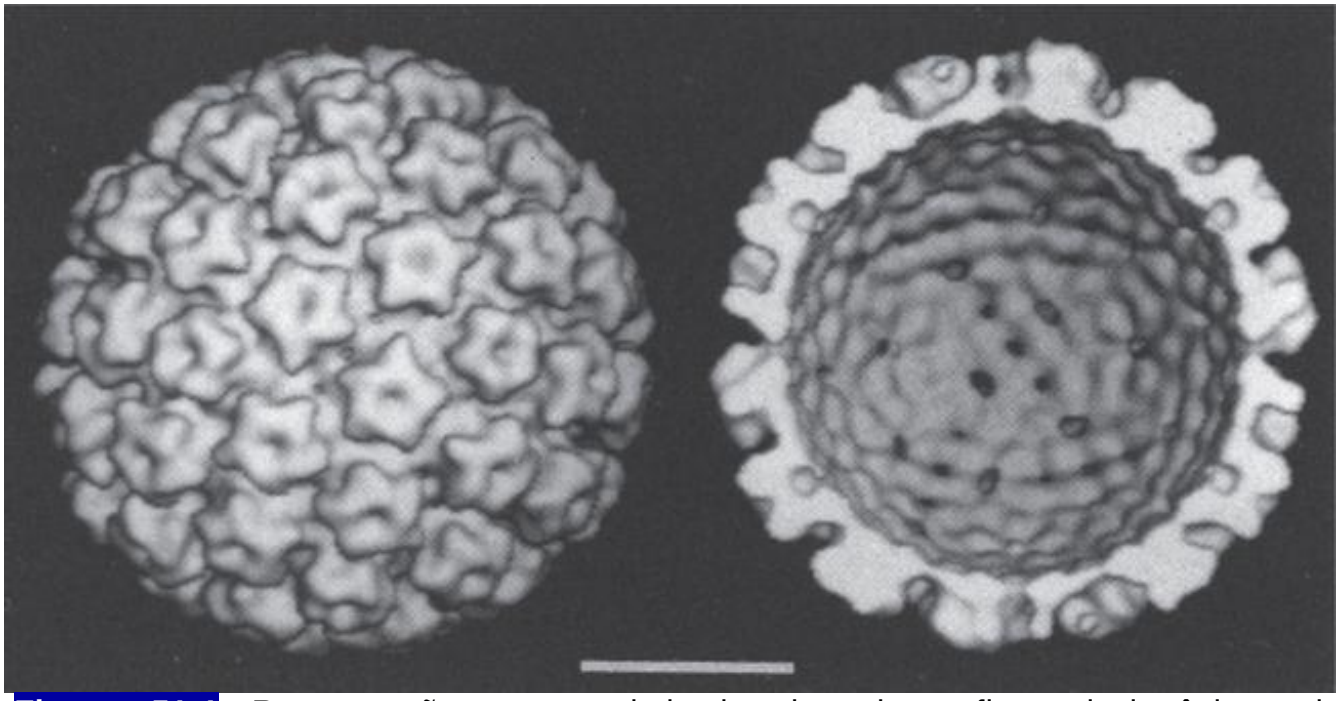


Figura 51-1 Reconstrução computadorizada de micrografias crioeletrônicas de papilomavírus humano (HPV). *Esquerda*, Imagem da superfície do HPV demonstrando 72 capsômeros organizados em um icosadeltaedro. Todos os capsômeros (pentâmeros e hexâmeros) parecem assumir um formato regular de estrela de 5 pontas. *Direita*, Corte transversal computadorizado do capsídeo mostra a interação dos capsômeros e canais no capsídeo.

(De Baker TS, et al: Biophys J 60:1445-1456, 1991.)

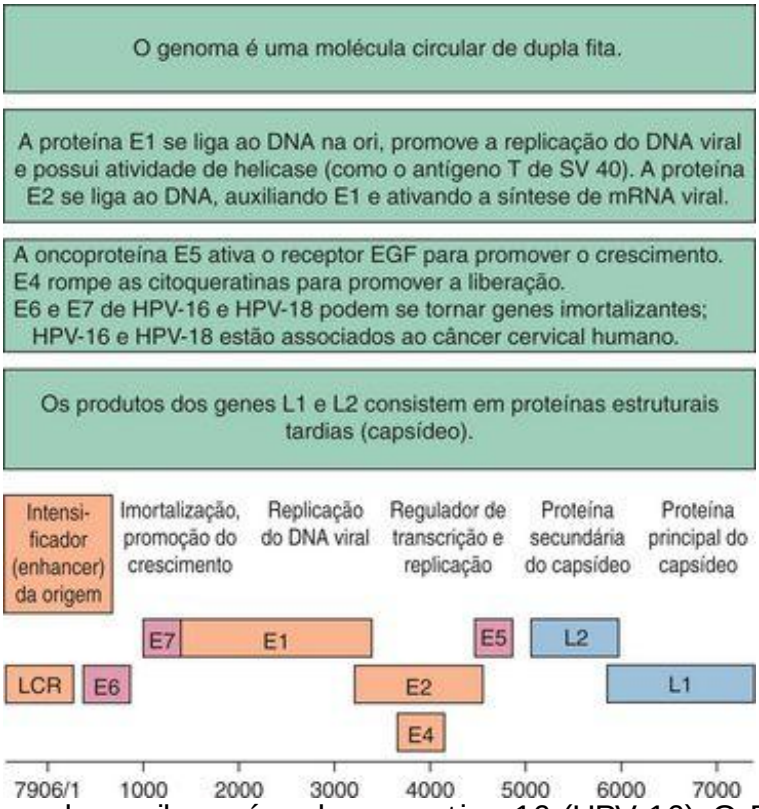


Figura 51-2 Genoma do papilomavírus humano tipo 16 (HPV-16). O DNA normalmente é uma molécula circular de dupla fita, mas é mostrado aqui em uma forma linear. E6, proteína oncogênica que se liga a p53 promovendo sua degradação; E7, proteína oncogênica que se liga à p105RB (produto do gene de retinoblastoma p105); L1, proteína principal do capsídeo; L2, proteína secundária do capsídeo; LCR (URR), região de controle longa (região reguladora *upstream*); ori, origem da replicação.

(Cortesia de Tom Broker, Baltimore.)

A replicação do HPV é controlada pelo equipamento de transcrição da célula hospedeira, conforme determinado pela diferenciação do epitélio da pele ou da mucosa onde o vírus está inserido (Fig. 51-3). O vírus acessa a camada de células basais por lacerações na pele. Os genes precoces do vírus estimulam a multiplicação celular, facilitando a replicação do genoma viral pela DNA polimerase das células hospedeiras quando estas se dividem. O aumento induzido pelo vírus no número de células causa espessamento das camadas basal e espinhosa (estrato espinhoso) levando à formação de verrugas e condilomas. À medida que as células basais se diferenciam, os fatores nucleares específicos expressos nas diferentes camadas, tipos de pele e mucosa, promovem a transcrição de diferentes genes virais. A expressão dos genes virais está correlacionada à expressão de queratinas específicas. Os genes tardios que codificam as proteínas estruturais são expressos apenas na camada superior com diferenciação terminal e o vírus é montado no núcleo. Quando a célula de pele infectada amadurece e segue seu caminho até a superfície, o vírus amadurece e é liberado juntamente com as células mortas da camada superficial.

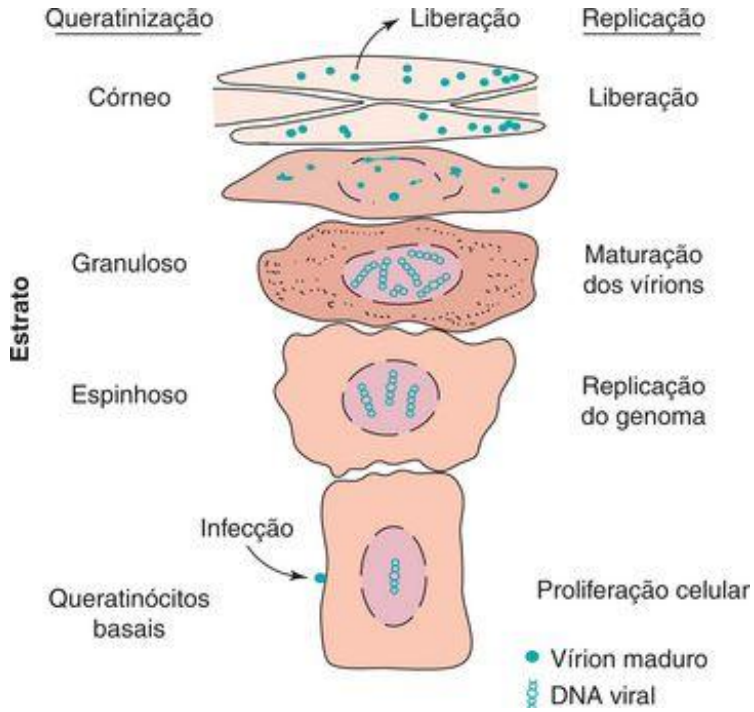


Figura 51-3 Desenvolvimento do papiloma (verruga). A infecção por papilomavírus humano (HPV) promove o crescimento da camada basal, aumentando o número de células espinhosas (acantose). Estas alterações causam o espessamento da pele e promovem a produção de queratina (hiperqueratose), consequentemente causando a formação de projeções epiteliais (papilomatose). O vírus é produzido nas células granulares próximas à camada final de queratina.

Patogênese

Os papilomavírus infectam e se replicam no epitélio escamoso da pele (**verrugas**) e membranas mucosas **(papilomas genitais, orais** e **conjuntivais)**, induzindo proliferação epitelial. Os tipos de HPV são muito específicos para o tecido, causando diferentes apresentações de doença. A verruga aparece como resultado de estimulação viral do crescimento celular e espessamento das camadas basal e espinhosa, como da camada granulosa. **Coilócitos**, característicos da infecção por papilomavírus, são queratinócitos aumentados com halos transparentes ao redor de núcleos condensados. Geralmente, o desenvolvimento de uma verruga leva de 3 a 4 meses (Fig. 51-4). A infecção viral permanece localizada e geralmente regride espontaneamente, mas pode recorrer. Os mecanismos patogênicos do HPV estão resumidos no Quadro 51-2.

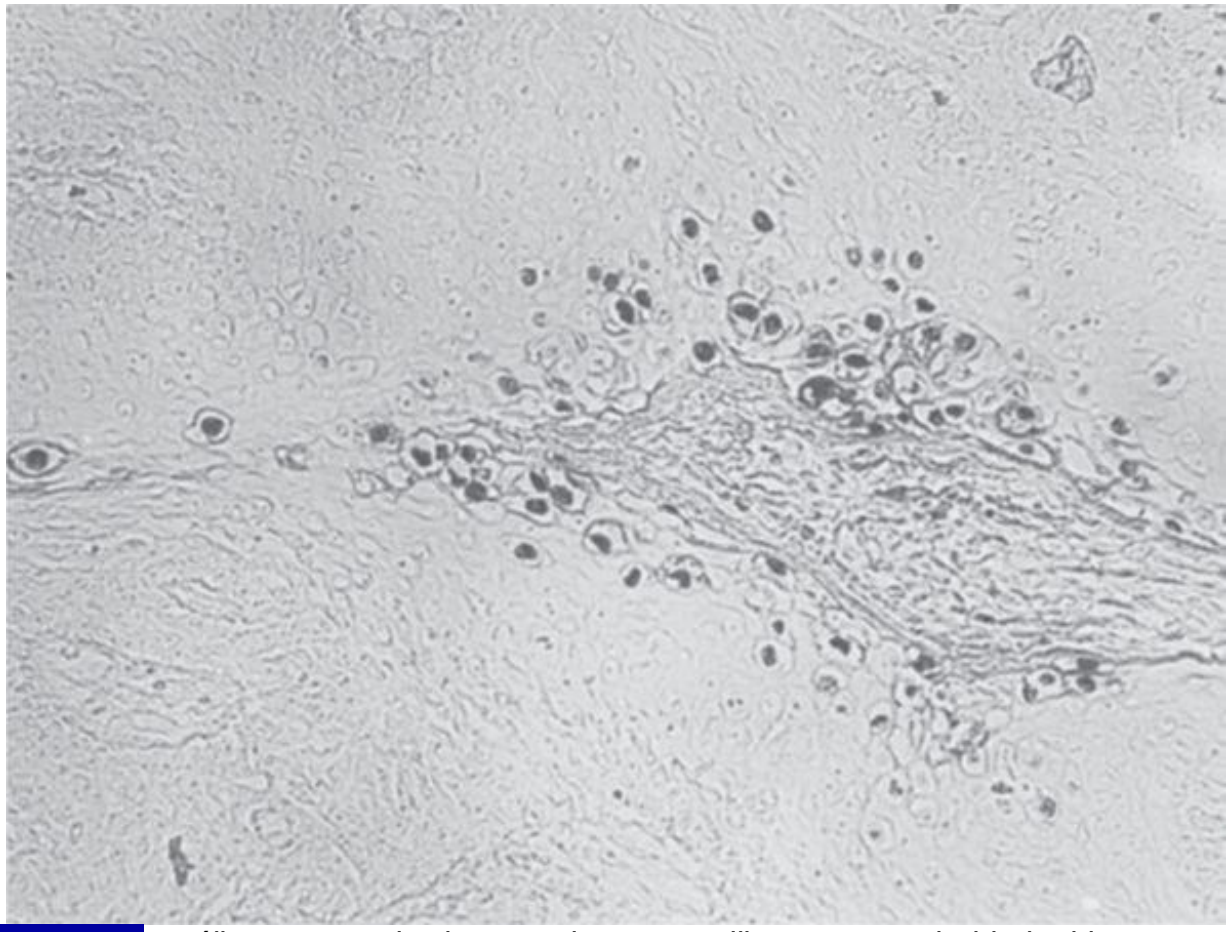


Figura 51-4 Análise por sonda de DNA de um condiloma anogenital induzido por HPV 6. Uma sonda de DNA marcada com biotina foi localizada pela conversão de um substrato em precipitado cromogênico por avidina conjugada a peroxidase. Uma coloração escura é vista sobre os núcleos das células coilocitóticas.

(De Belshe RB: Textbook of Human Virology, 2nd ed. St Louis, Mosby, 1991.)

Quadro 51-2 Mecanismos Patológicos de Papilomavírus e Poliomavírus

Papilomavírus

Os vírus são adquiridos por **contato íntimo** e infectam as células epiteliais da pele ou membranas mucosas.

O tropismo tecidual e a apresentação da doença dependem do tipo de papilomavírus.

O vírus persiste na camada basal e então produz novos vírus em queratinócitos terminalmente diferenciados.

Os vírus causam o crescimento benigno das células formando **verrugas**.

A infecção por HPV evade do sistema imunológico e persiste.

As verrugas cedem espontaneamente, possivelmente como resultado da resposta imunológica.

Alguns tipos estão associados à **displasia** que pode se tornar **cancerosa** com a ação de cofatores.

O DNA de tipos específicos de HPV está presente (integrado) nos cromossomos de células tumorais.

Poliomavírus (Vírus JC e BK)

O vírus provavelmente é adquirido pela via respiratória e disseminado por viremia para os rins precocemente na vida.

As infecções são **assintomáticas**.

O vírus estabelece infecção **persistente** e **latente** em órgãos como rins e pulmões.

Em indivíduos **imunocomprometidos**, o vírus JC é ativado, se dissemina para o cérebro e causa leucoencefalopatia multifocal progressiva (**PML** – *progressive multifocal leucoencephalopaty*), uma doença viral lenta convencional.

Na PML, o vírus JC transforma parcialmente os astrócitos e extermina os oligodendrócitos, causando lesões características e áreas de desmielinização.

O vírus BK é ubíquo, mas não está associado a doenças graves.

A imunidade inata e mediada por células é importante para o controle e resolução de infecções por HPV. O HPV pode suprimir ou escapar das respostas imunológicas protetoras. Além de apresentar níveis muito baixos de expressão antigênica (exceto na célula cutânea "à beira da morte" com diferenciação terminal), o queratinócito é um sítio imunologicamente privilegiado para a replicação. Respostas inflamatórias são necessárias para a ativação de respostas citolíticas protetoras e promoção da resolução de verrugas. Indivíduos imunossuprimidos exibem recorrências e apresentações mais severas de infecções por papilomavírus.

O potencial oncogênico do HPV foi extensivamente estudado. O DNA viral é encontrado em tumores benignos e malignos, especialmente papilomas de mucosa. O HPV-16 e HPV-18 causam papilomas e displasia cervical, e **pelo menos 85% dos carcinomas cervicais contêm HPV-DNA integrado**. A ruptura do genoma circular no interior dos genes E1 ou E2 para promover integração frequentemente faz com que estes genes sejam inativados, consequentemente impedindo a replicação viral sem impedir a expressão de outros genes do HPV, incluindo os genes E6 e E7 (Fig. 51-5). As proteínas E6 e E7 do HPV-16 e HPV-18 foram identificadas como **oncogenes** porque ligam e inativam as proteínas supressoras do crescimento celular (supressoras de transformação), p53 e p105RB (produto do gene de retinoblastoma p105). E6 se liga à proteína p53 visando sua degradação, e E7 se liga e inativa p105RB. Sem estes freios sobre a multiplicação celular, as células ficam mais suscetíveis à mutação, aberrações cromossômicas ou à ação de um cofator e consequentemente se transformam em câncer.

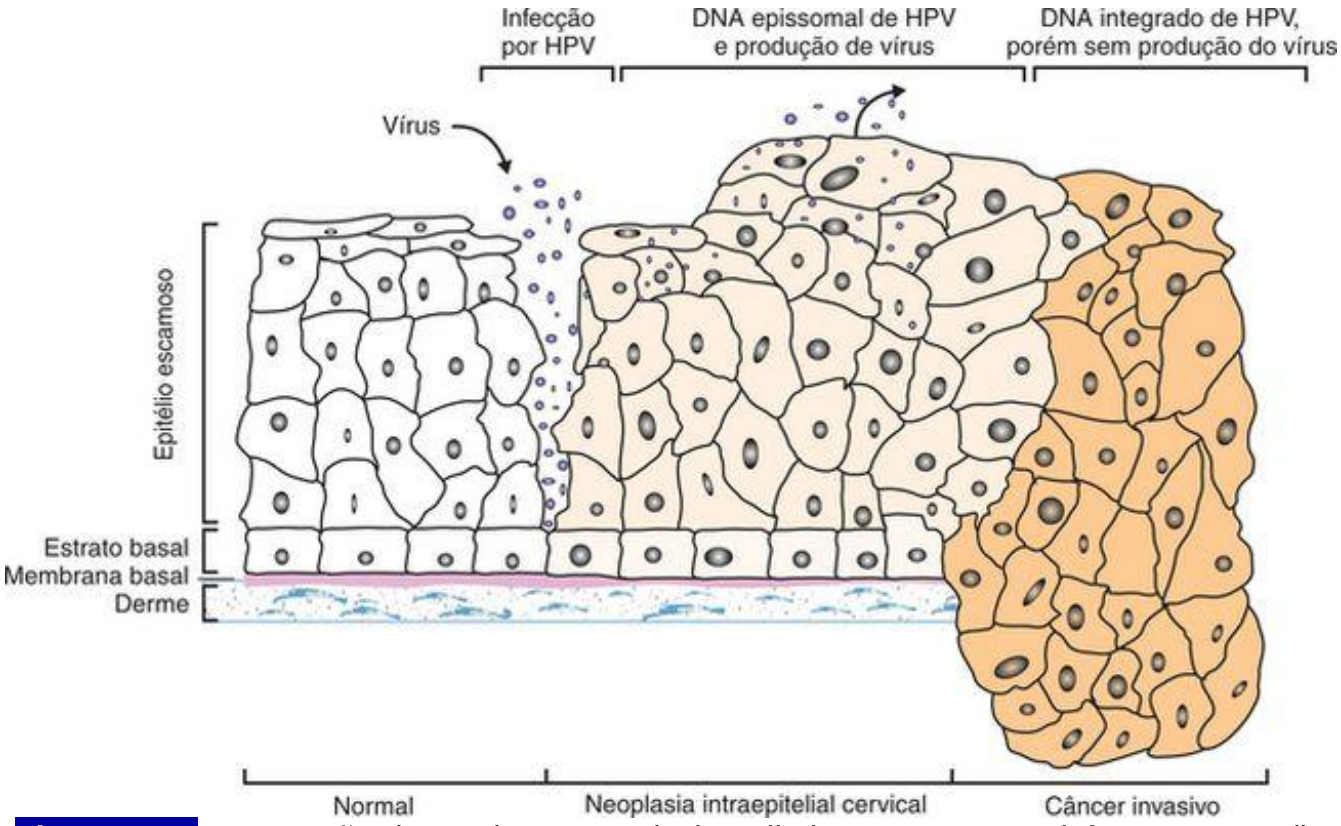


Figura 51-5 Progressão do carcinoma cervical mediado por HPV. HPV infecta e se replica nas células epiteliais do colo uterino, amadurecendo e liberando o vírus quando as células epiteliais progridem até a diferenciação terminal. A estimulação do crescimento das células basais produz uma verruga. Em algumas células, o genoma circular é integrado aos cromossomos do hospedeiro, inativando o gene *E2*. A expressão dos outros genes sem a produção do vírus estimula o crescimento das células e possibilita uma progressão para neoplasia.

(Adaptado de Woodman CBJ, Collins SI, Young LS: The natural history of cervical HPV infection: Unresolved issues. Nat Rev Cancer 7:11-22, 2007.)

Epidemiologia

O HPV resiste à inativação e pode ser transmitido por fômites, como superfícies de balcões ou mobília, pisos de banheiros e toalhas (Quadro 51-3). A excreção viral assintomática pode promover transmissão. A infecção por HPV é adquirida (1) por contato direto através de pequenas lacerações na pele ou mucosa; (2) durante a relação sexual; ou (3) quando um bebê passa por um canal de parto infectado.

Quadro 51-3 Epidemiologia dos Poliomavírus e Papilomavírus

Doença/Fatores Virais

O capsídeo viral é resistente à inativação

O vírus persiste em hospedeiros

A disseminação e excreção viral são assintomáticas

Transmissão

Papilomavírus: **contato direto, contato sexual** (doença sexualmente transmissível) para alguns tipos de vírus ou passagem por um canal de parto infectado para papilomas laríngeos (tipos 6 e 11)

Poliomavírus: inalação ou contato com água contaminada

Quem está sob risco?

Papilomavírus: verrugas são comuns; pessoas sexualmente ativas correm risco de infecção por tipos de HPV correlacionados a câncer oral e genital

Poliomavírus: ubíquos; indivíduos imunocomprometidos correm risco de leucoencefalopatia multifocal progressiva

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Os vírus são encontrados no mundo inteiro

Não há incidência sazonal

Modos de Controle

Não existem modos de controle

Verrugas comum, plantar e plana são mais frequentes em crianças e adultos jovens. Os papilomas laríngeos ocorrem em crianças pequenas e adultos de meia-idade.

O papilomavírus humano possivelmente é a infecção sexualmente transmitida mais prevalente no mundo, existindo certos tipos de HPV comuns entre pessoas sexualmente ativas. Pelo menos 20 milhões de pessoas nos Estados Unidos estão infectados pelo HPV, com aproximadamente 6 milhões de novos casos genitais por ano. O HPV está presente em 99,7% de todos os casos de câncer cervical. HPV-16, HPV-18, HPV-31 e HPV-45 são tipos de alto risco e HPV-6 e HPV-11 são tipos de baixo risco para carcinoma cervical, a segunda principal causa de morte por câncer em mulheres (aproximadamente 12 mil casos e 4 mil mortes por ano nos Estados Unidos). Outros tipos de HPV (incluindo 52 e 58) também estão associados a infecções vaginais e câncer. Aproximadamente 5% de todos os exames de citologia cervical (Papanicolau) contêm células infectadas por HPV e 10% das mulheres infectadas pelos tipos de HPV de alto risco desenvolverão **displasia** cervical, um estado pré-canceroso. Múltiplos parceiros sexuais, tabagismo, uma história familiar de câncer cervical e imunossupressão constituem os principais fatores de risco para infecção e progressão para câncer.

Síndromes Clínicas

As síndromes clínicas e os tipos de HPV que as causam estão resumidos na Tabela. 51-2.

Tabela 51-2 Síndromes Clínicas Associadas aos Papilomavírus

Síndrome	Tipos de HPV	
	Comum	Incomuns
Síndromes Cutâneas		
Verrugas cutâneas		
Verruga plantar	1	2, 4
Verruga comum	2, 4	1, 7, 26, 29
Verruga plana	3, 10	27, 28, 41

Epidermodisplasia verruciforme	5, 8, 17, 20, 36	9, 12, 14, 15, 19, 21-25, 38, 46
Síndromes Mucosas		
Tumores benignos de cabeça e pescoço		
Papiloma laríngeo	6, 11	—
Papiloma oral	6, 11	2, 16
Papiloma conjuntivo	11	—
Verrugas anogenitais		
Condiloma acuminado	6, 11	1, 2, 10, 16, 30, 44, 45
Neoplasia intraepitelial cervical, câncer	16, 18	11, 31, 33, 35, 42-44

Modificado de Balows A, et al (eds): Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice, vol 2. New York, Springer-Verlag, 1988.

Verrugas

Uma **verruga** é uma proliferação benigna e autolimitada da pele, que regride com o tempo. A maioria das pessoas com infecção por HPV apresenta os tipos comuns dos vírus (HPV-1 a HPV-4) que infectam superfícies queratinizadas, geralmente nas mãos e pés (Fig. 51-6). A infecção inicial ocorre na infância ou no início da adolescência. O período de incubação antes do desenvolvimento de uma verruga pode ser tão longo quanto 3 a 4 meses. O aspecto da verruga (abaulada, plana ou plantar) depende do tipo de HPV e do local infectado.

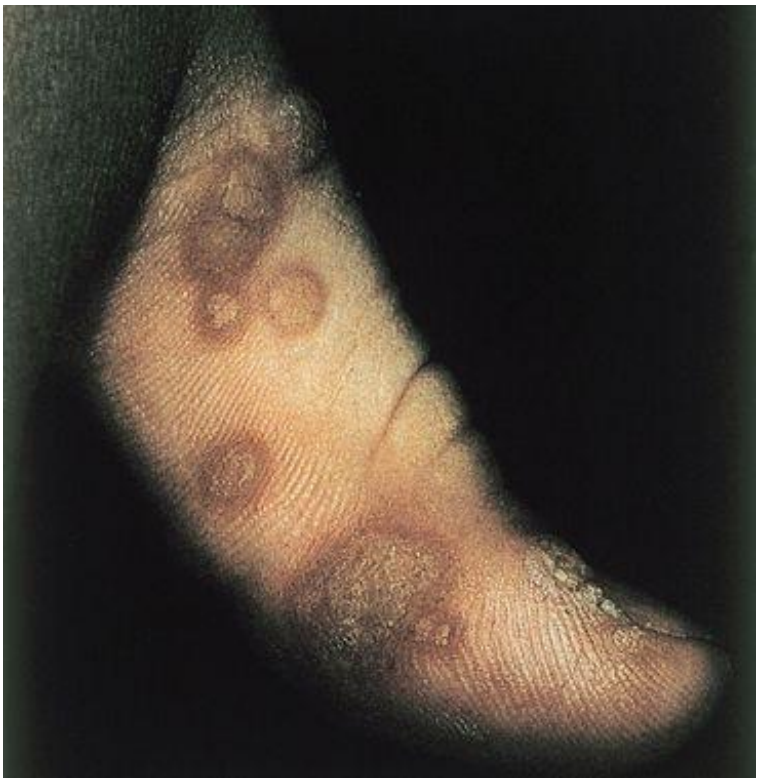


Figura 51-6 Verrugas comuns.

(De Habif TP: Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnostic and Therapy. St Louis, Mosby, 1985.)

Tumores Benignos de Cabeça e Pescoço

Papilomas orais isolados constituem os tumores epiteliais mais benignos da cavidade oral. Eles são pedunculados com uma haste fibrovascular e sua superfície geralmente possui um aspecto grosseiro e papilar. Podem ocorrer em pessoas de qualquer grupo etário, geralmente são isolados e raramente recorrem após a excisão cirúrgica. Os **papilomas de laringe** estão comumente associados ao HPV-6 e HPV-11 e constituem os tumores epiteliais benignos mais comuns da laringe. A infecção em crianças provavelmente ocorre ao nascimento e pode apresentar risco à vida se os papilomas obstruírem as vias aéreas. Ocasionalmente os papilomas podem ser encontrados mais abaixo nas vias aéreas, por exemplo, na traqueia e nos brônquios.

Verrugas Anogenitais

Verrugas genitais **(condilomas acuminados)** ocorrem quase exclusivamente no epitélio escamoso da genitália externa e áreas perianais. Aproximadamente 90% são causadas por HPV-6 e HPV-11. Lesões anogenitais infectadas por estes tipos de HPV raramente se tornam malignas em pessoas saudáveis sem outras patologias.

Displasia e Neoplasia Cervical

A infecção do trato genital por HPV é considerada uma doença sexualmente transmissível muito comum. A infecção geralmente é assintomática, mas pode resultar em discreto prurido. Verrugas genitais podem aparecer como verrugas macias, coloração castanha, que podem ser planas, elevadas e algumas vezes em forma de couve-flor. As verrugas podem aparecer dentro de semanas ou meses após o contato sexual com uma pessoa infectada. Alterações citológicas indicativas de infecção por HPV **(células coilocitóticas)** são detectadas nos **esfregaços cervicais corados pelo método de Papanicolaou** (exame de Papanicolaou) (Fig. 51-7). A infecção do trato genital feminino pelo HPV de tipos 16, 18, 31 e 45 (e raramente por outros tipos de HPV) está associada à neoplasia cervical intraepitelial e câncer. As primeiras alterações neoplásicas observadas na microscopia óptica são chamadas de **displasia**. Aproximadamente 40% a 70% das displasias leves regridem espontaneamente.

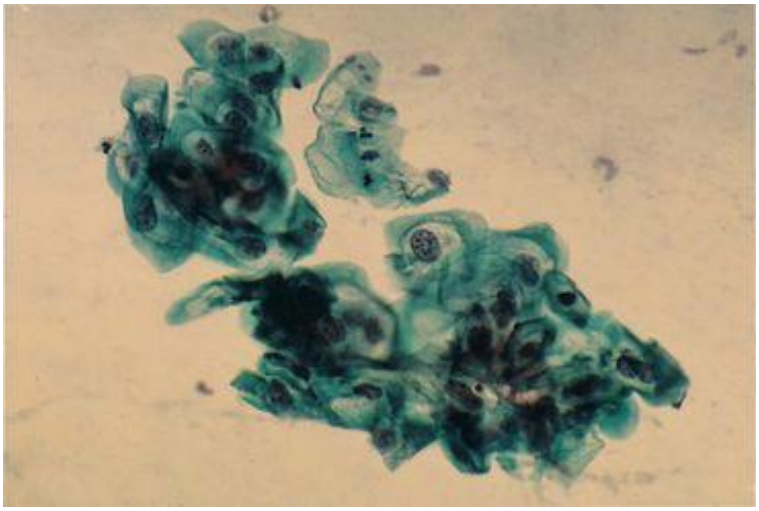


Figura 51-7 Coloração de Papanicolaou de células epiteliais escamosas cervicovaginais esfoliadas, mostrando a vacuolização citoplasmática perinuclear chamada de coilocitose (citoplasma vacuolizado), que é característica da infecção por papilomavírus humano. (ampliação de 400 x)

Acredita-se que o câncer cervical se desenvolva ao longo de uma série contínua de alterações celulares progressivas, desde neoplasia leve (neoplasia intraepitelial cervical [NIC I]) e moderada (NIC II) até neoplasia severa ou carcinoma *in situ* (Fig. 51-5). Esta sequência de eventos pode ocorrer durante 1 a 4 anos. Exames de Papanicolaou regulares e rotineiros podem prevenir ou promover o tratamento precoce e a cura do câncer cervical.

Diagnóstico Laboratorial

Uma verruga pode ser confirmada microscopicamente com base em seu aspecto histológico característico, que consiste em hiperplasia das **células espinhosas** e uma produção excessiva de queratina (**hiperqueratose**) (Fig. 51-7). A infecção por papilomavírus pode ser detectada em esfregaços de Papanicolaou pela presença de células epiteliais escamosas coilocitóticas (citoplasma vacuolizado), que são arredondadas e se apresentam agrupadas (Tab. 51-3; Fig. 51-4). Análises por **sondas moleculares de DNA** e **reação em cadeia da polimerase** (**PCR**) de exames de *swab* cervical e amostras de tecido constituem os métodos de escolha para estabelecer o diagnóstico e determinar o tipo de HPV infectante. Os papilomavírus não crescem em culturas celulares e os testes para anticorpos contra HPV raramente são usados, exceto em estudos de pesquisa.

Tabela 51-3 Diagnóstico Laboratorial de Infecções por Papilomavírus

Teste	Detecta
Citologia	Células coilocitóticas
Análise por sonda de DNA *in situ*[*]	Ácido nucleico viral
Reação em cadeia da polimerase[*]	Ácido nucleico viral
Hibridização por Southern blot	Ácido nucleico viral
Imunofluorescência e coloração por imunoperoxidase	Antígenos virais estruturais
Microscopia eletrônica	Vírus
Cultura	Sem utilidade

***** *Método de escolha*.

Tratamento, Prevenção e Controle

Verrugas regridem espontaneamente, porém a regressão pode levar muitos meses a anos. As verrugas são removidas devido à dor e desconforto, por motivos estéticos e impedir a disseminação para outras partes do corpo ou outras pessoas. São removidas pelo uso de crioterapia cirúrgica, eletrocautério ou meios químicos (p. ex., solução de podofilina 10% a 25%), embora a recorrência seja comum. A cirurgia pode ser necessária para remoção de papilomas da laringe.

Estimuladores das respostas inatas e inflamatórias, como **imiquimod** (Aldara®), **interferon**, e mesmo a retirada com fita colante, podem promover uma cicatrização mais rápida. O fornecimento tópico ou intralesional de **cidofovir** pode tratar verrugas exterminando seletivamente as células infectadas pelo HPV.

Uma nova vacina tetravalente contra HPV aprovada pelo FDA (Gardasil®) consistindo na proteína maior do capsídeo L1 montada em partículas semelhantes ao vírus de HPV 6, 11, 16 e 18 pode prevenir a infecção e consequentemente reduzir a incidência de verrugas anogenitais e câncer cervical. Uma série de três imunizações é recomendada para meninas (não meninos) a partir de 11 anos de idade, antes da atividade sexual. Mulheres vacinadas não são protegidas contra todas as cepas de HPV possíveis. A vacina contra HPV **não substitui o exame Papanicolaou** e as mulheres devem continuar a realizar o teste.

No momento, o melhor modo de impedir a transmissão de verrugas é evitar o contato direto com o tecido infectado. Precauções adequadas (p. ex., o uso de preservativos) podem prevenir a transmissão sexual do HPV.

Polyomaviridae

Os poliomavírus humanos **(vírus BK** e **JC)** são ubíquos, mas geralmente não causam doença. São difíceis de cultivar em cultura celular. SV40, um poliomavírus símio, e o poliomavírus murino em particular foram estudados extensivamente como modelos de vírus causadores de tumor, mas não foram associados a qualquer doença em humanos.

Estrutura e Replicação

Os poliomavírus são menores (45nm de diâmetro), contêm menos ácidos nucleicos (5 mil pares de bases) e são menos complexos que os papilomavírus (Quadro 51-1). Os genomas dos vírus BK, vírus JC e SV40 estão intimamente relacionados e estão divididos em regiões precoce, tardia, não codificadora (Fig. 51-8). A região precoce em uma fita codifica as **proteínas T (transformação)** não estruturais (incluindo os **antígenos grande T e pequeno t** ou *large T* e *small t*), e a região tardia, que está na outra fita, codifica as **três proteínas do capsídeo viral (VP1, VP2 e VP3)** (Quadro 51-4). A região não codificadora contém a origem da replicação do DNA e as sequências de controle da transcrição para os genes precoce e tardio.

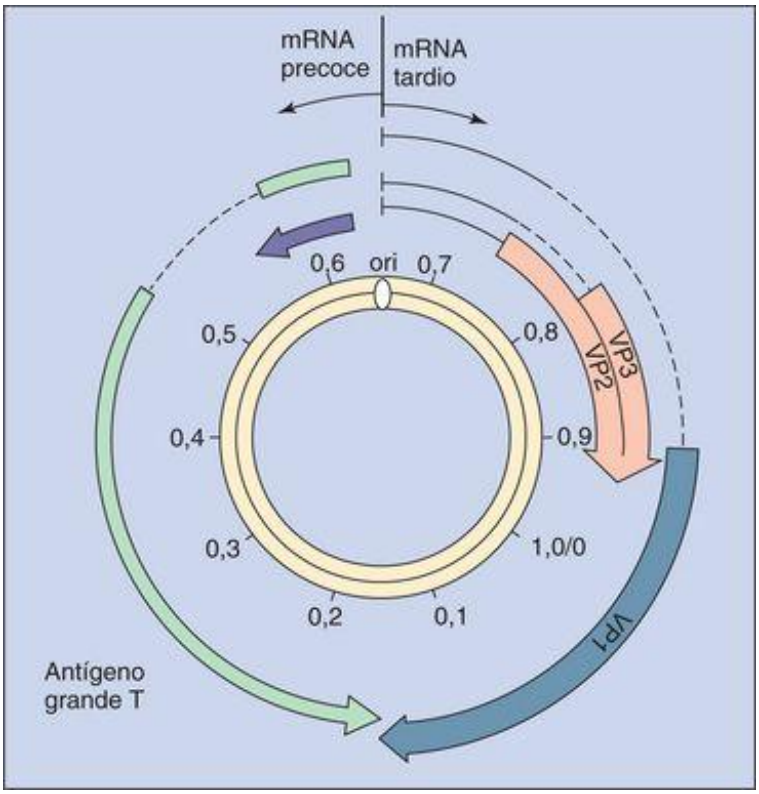


Figura 51-8 Genoma do vírus SV40. O genoma é um protótipo dos outros poliomavírus e contém regiões precoces, tardias e não codificadoras. A região não codificadora contém a sequência inicial para os genes precoces e tardios e para a replicação de DNA (*ori*). Os mRNAs precoces e tardios são processados a partir de transcritos maiores.

(Redesenhado de Butel JS, Jarvis DL: Biochim Biophys Acta 865:171-195, 1986.)

Quadro 51-4 Proteínas dos Poliomavírus

Precoces

Grande T (*Large T*): regulação da transcrição de mRNAs precoces e tardios; replicação do DNA; promoção da multiplicação celular e transformação

Pequeno t (*Small t*): replicação do DNA viral

Tardio

VP1: proteína principal do capsídeo e proteína de fixação viral

VP2: proteína secundária do capsídeo

VP3: proteína secundária do capsídeo

Depois que o vírus entra em uma célula, o DNA viral perde o revestimento e é fornecido ao núcleo. Os genes precoces codificam os antígenos grande T e pequeno t, proteínas que promovem o crescimento celular. A replicação viral requer o maquinário de transcrição e replicação de DNA fornecido pelas células em divisão. Os antígenos grande T de SV40 e dos vírus BK e JC possuem várias funções. Por exemplo, o antígeno T de SV40 se liga ao DNA e controla a transcrição dos genes precoces e tardios, como a replicação do DNA viral. Além disso, o antígeno T se liga e inativa as duas proteínas supressoras de multiplicação celular, p53 e p105RB, promovendo o crescimento celular.

Como ocorre na replicação dos HPVs, a replicação do poliomavírus é altamente dependente dos fatores das células hospedeiras. Células permissivas permitem a transcrição do mRNA viral tardio e replicação viral, que resulta em morte celular. Algumas células não permissivas permitem apenas que os genes precoces, incluindo o antígeno T, sejam expressos, promovendo o crescimento celular e potencialmente levando à transformação oncogênica das células.

O genoma do poliomavírus é usado de modo muito eficiente. A região não codificadora do genoma contém os locais de iniciação para os mRNAs precoces e tardios e a origem da replicação do DNA. As três proteínas tardias são produzidas a partir de mRNAs, que possuem o mesmo local de iniciação, e são então processados em três mRNAs distintos.

O DNA viral circular é mantido e replicado de modo bidirecional, similarmente ao modo em que um plasmídio bacteriano é mantido e replicado. A replicação do DNA precede a transcrição de mRNA tardio e a síntese proteica. O vírus é montado no núcleo e é liberado por lise celular.

Patogênese

Cada poliomavírus é limitado a hospedeiros específicos e determinados tipos celulares dentro destes hospedeiros. Por exemplo, os vírus JC e BK são vírus humanos que provavelmente entram no trato respiratório, a seguir infectam linfócitos e então os rins, com um efeito citopatológico mínimo. O vírus BK estabelece infecção latente nos rins e o vírus JC infecta os rins, células B, células da linhagem monocítica e outras células. A replicação é bloqueada em indivíduos imunocompetentes.

Em pacientes imunocomprometidos, como aqueles com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), a reativação do vírus no rim leva à excreção viral na urina e possivelmente infecções severas do trato urinário (vírus BK) ou viremia e infecção do sistema nervoso central (vírus JC) (Fig. 51-9). O vírus JC cruza a barreira hematoencefálica por replicação nas células endoteliais dos capilares. Uma infecção abortiva dos astrócitos resulta em transformação parcial, produzindo células aumentadas com núcleos anormais semelhantes à glioblastomas. Infecções líticas produtivas de oligodendrócitos causam desmielinização (Quadro 51-3). Embora o SV40 e os vírus BK e JC possam causar tumores em hamsters, estes vírus não estão associados a qualquer tumor humano.

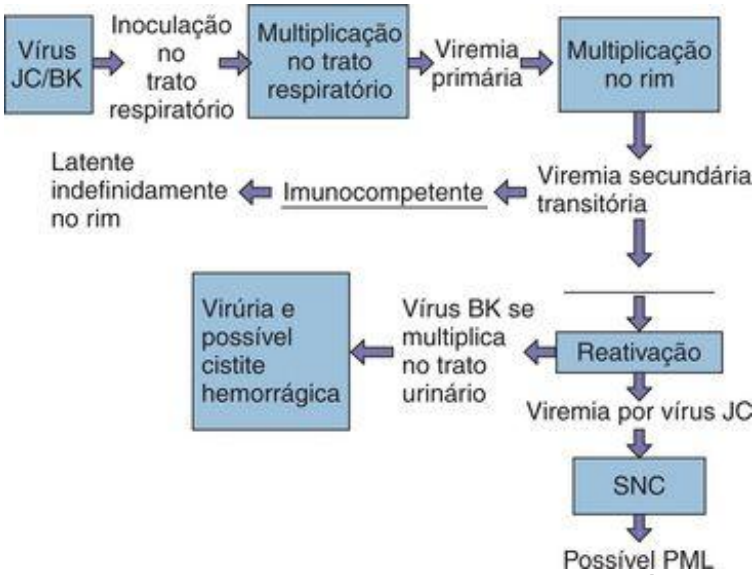


Figura 51-9 Mecanismos de disseminação do poliomavírus no organismo. PML, leucoencefalopatia multifocal progressiva.

Epidemiologia

Os poliomavírus são ubíquos e as infecções por estes vírus são bastante frequentes, sendo que a maioria das pessoas é infectada por ambos os vírus, JC e BK, até a idade de 15 anos (Quadro 51-3). A transmissão respiratória é o modo mais provável de disseminação. Infecções latentes podem ser reativadas em pessoas cujo sistema imunológico seja suprimido como resultado de AIDS, transplante de órgãos ou gravidez. Aproximadamente 10% das pessoas com AIDS desenvolvem PML e a doença é fatal em aproximadamente 90% dos casos.

Lotes iniciais da vacina contra pólio foram contaminados com SV40, que não tinha sido detectado nas culturas primárias de células de macacos usadas na preparação da vacina. Embora muitas pessoas tenham recebido as vacinas contaminadas, não foram relatados tumores relacionados ao SV40.

Síndromes Clínicas (Quadro 51-5)

A infecção primária quase sempre é assintomática. Os vírus BK e JC são ativados em pacientes imunocomprometidos, o que é indicado pela presença do vírus na urina em mais de 40% destes pacientes. Os vírus também são reativados durante a gravidez, mas nenhum efeito sobre o feto foi observado.

Quadro 51-5 Resumos Clínicos

PCR, reação em cadeia da polimerase.

Verruga: Um paciente de 22 anos de idade desenvolve uma área cônica, endurecida e escamosa (pápula) de coloração acastanhada no dedo indicador. Ela possui uma superfície áspera e não é sensível. Em outros aspectos o paciente é saudável e não tem outras queixas. A verruga é tratada topicamente com aplicação diária de ácido salicílico para exterminar as células portadoras do vírus e remover a verruga.

Papiloma cervical: No exame cervical, é observada uma grande pápula plana que fica branca com a aplicação de ácido acético a 4%. O exame de Papanicolaou desta mulher de 25 anos de idade sexualmente ativa apresenta células coilocitóticas.

Carcinoma cervical: Uma mulher de 32 anos de idade comparece para seu exame Papanicolaou de rotina, que mostra evidência de células anormais. Uma biópsia mostra um carcinoma de células escamosas. A análise por PCR do DNA celular revela DNA de HPV-16.

Leucoencefalopatia multifocal progressiva: Um paciente de 42 anos de idade, aidético, apresenta déficits de memória e tem dificuldade para falar, enxergar e manter o equilíbrio, o que é sugestivo de lesões em múltiplos locais no cérebro. A condição progride até paralisia e morte. A autópsia mostra focos de desmielinização com oligodendrócitos contendo corpos de inclusão exclusivamente na substância branca.

A estenose ureteral observada em receptores de transplante renal parece estar associada ao vírus BK, assim como a cistite hemorrágica observada em receptores de transplante de medula óssea. Leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML – *progressive multifocal leukoencephalopathy*) causada pelo **vírus JC** é uma doença desmielinizante aguda que ocorre em pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles com AIDS (Caso Clínico 51-1). Embora rara, a incidência de PML está aumentando devido aos números crescentes de pessoas com AIDS. Como o nome indica, os pacientes podem apresentar múltiplos sintomas neurológicos não atribuíveis a uma única lesão anatômica. Fala, visão, coordenação, capacidade mental, ou uma combinação destas funções são prejudicadas, seguidas por paralisia dos membros superiores e inferiores e, finalmente, a morte. As pessoas com diagnóstico com PML vivem de 1 a 4 meses e a maioria morre dentro de 2 anos.

Caso Clínico 51-1 Leucoencefalopatia multifocal progressiva

Liptai et al. (Neuropediatrics 38:32-35, 2007) descreveram um caso no qual um menino de 15,5 anos de idade infectado pelo HIV apresentou fadiga e depressão. Os sintomas incluíram tontura, visão dupla e perda da coordenação motora, como indicado por sua caligrafia, uso do computador e marcha instável. Ele adquiriu HIV por uma injeção com agulha e seringa sujas quando bebê em um hospital da Transilvânia. Ao longo dos anos, sua contagem de células T CD4 diminuiu lentamente e sua carga viral de HIV aumentou, mais provavelmente devido à aderência inadequada a sua terapia anti-HIV e recusa de uma terapia HAART. Uma lesão de 30 mm no hemisfério cerebelar direito foi observada por ressonância magnética. Leucoencefalopatia multifocal progressiva foi diagnosticada, com base na detecção de sequências do vírus JC no LCR por PCR. Dentro de 10 dias, o menino perdeu a capacidade de andar e desenvolveu paralisia facial e hipoglossal, com deterioração neurológica adicional, incluindo depressão e perda da capacidade de comunicação. Ele morreu 4 meses após o início

dos sintomas. A análise microscópica do cerebelo e do tronco cerebral indicou amplas áreas de desmielinização e necrose, astrocitose e oligodendrócitos com corpos de inclusão nuclear. Embora a infecção pelo vírus JC seja muito frequente e normalmente benigna, ela causa PML em indivíduos imunocomprometidos. Antigamente rara, a PML se tornou mais prevalente em pacientes de AIDS que não tenham adesão ou não estejam sob tratamento, ou ainda para os quais a terapia anti-HIV não seja efetiva.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de PML é confirmado pela presença do DNA viral amplificado por PCR no líquido cefalorraquidiano e por evidências de lesões em exames de ressonância magnética ou tomografia computadorizada. O exame histológico do tecido cerebral obtido por biópsia ou autópsia mostra focos de desmielinização cercados por oligodendrócitos com inclusões adjacentes a áreas de desmielinização. O termo *leucoencefalopatia* se refere à presença de lesões apenas na substância branca. Há pouca ou nenhuma resposta inflamatória celular. Imunofluorescência *in situ*, imunoperoxidase, análise por sonda de DNA e análise por PCR do líquido cefalorraquidiano, urina ou material de biópsia em busca de sequências genéticas específicas também podem ser usadas para detectar o vírus. Testes citológicos urinários podem revelar a presença de infecção por vírus JC ou BK, ao revelar a existência de células aumentadas com inclusões intranucleares densas e basofílicas, semelhantes àquelas induzidas pelo citomegalovírus. É difícil isolar os vírus BK e JC em culturas de tecidos; portanto, este procedimento não é utilizado.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há um tratamento específico disponível para a infecção por poliomavírus, além da diminuição da imunossupressão responsável pela reativação dos poliomavírus e ocorrência de sintomas. A natureza ubíqua dos poliomavírus e a falta de compreensão de seus modos de transmissão tornam improvável que a infecção primária possa ser prevenida.

Estudo de Caso e Questões

Um carpinteiro de 25 anos de idade percebe o aparecimento de várias pápulas hiperqueratóticas (verrugas) na palma da mão de seu dedo indicador. Elas não mudam de tamanho e causam apenas desconforto mínimo. Após um ano, elas desaparecem espontaneamente.

1. Esta infecção viral se disseminará para outros locais do corpo?

1. O HPV que causa verrugas é transmitido pelo contato com a pele e mucosas contendo o vírus e só iniciaria verruga em um outro local pelo contato com o sítio primário. Este vírus não se espalha sistemicamente.

2. Após seu desaparecimento, a infecção tem probabilidade de estar completamente resolvida ou persistirá no hospedeiro?

2. Embora as verrugas possam desaparecer, o genoma viral pode permanecer nas células na base do local da verruga.

3. Que condições virais, celulares e do hospedeiro regulam a replicação deste vírus e outros HPVs?

3. HPVs são controlados pela maquinaria de transcrição do hospedeiro e requerem uma célula em crescimento para fornecer DNA polimerase ativa e desoxirribonucleotídeos como substrato para replicar o genoma. Células que não se encontram em crescimento não permitem a replicação do genoma viral. Além disso, a expressão de mRNA tardios (p. ex., genes que determinam as proteínas do capsídeo) é controlada pelos mesmos promotores que controlam certos genes de queratina e, portanto, vinculados aos estágios de diferenciação dos queratinócitos. Assim, partículas do vírion completo são produzidas apenas nas células da pele com diferenciação terminal e liberadas quando estas células morrem.

4. Como o tipo de papilomavírus causador desta infecção poderia ser identificado?

4. A melhor maneira de identificar um tipo de HPV é a análise do genoma viral por PCR ou hibridização *in situ* ou *Southern blot*. Para isso é necessário utilizar sondas ou *primers* específicos para os diferentes tipos de HPV.

5. É provável que esse tipo de HPV esteja associado a câncer humano? Se não, que tipos estão associados ao câncer, e que cânceres são estes?

5.É improvável que o tipo viral causador da verruga comum esteja associado com o desenvolvimento de câncer. Os HPVs predominantemente associados com câncer são: HPV 11 (câncer de laringe e colo do útero), 16 e 18 (carcinoma do colo do útero).

Bibliografia

Arthur RR. et al: Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Engl J Med*. 1986;315:230-234.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester. England: Wiley, 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

deVilliers EM. et al: Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324:17-24.

Ferenczy A, Franco EL. Prophylactic human papillomavirus vaccines: Potential for sea change. *Expert Rev Vaccines*. 2007;6:511-525.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Franco EL, Harper DM. Vaccination against human papillomavirus infection: A new paradigm in cervical cancer control. *Vaccine*. 2005;23:2388-2394.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Howley PM. Role of the human papillomaviruses in human cancer. *Cancer Res*. 1991;51(Suppl 18):5019. S-5022S.

Hseuh C, Reyes CV. Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Am Fam Physician*. 1988;37:129-132.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Major EO. et al: Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:49-73.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.

Miller DM, Brodell RT. Human papillomavirus infection: Treatment options for warts. *Am Fam Physician*. 1996;53:135-143.

Morrison EA. Natural history of cervical infection with human papillomavirus. *Clin Infect Dis*. 1994;18:172-180.

Siddiqui MA, Perry CM. Human papillomavirus quadrivalent (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine (Gardasil). *Drugs*. 2006;66:1263-1271.

Spence et al: The role of human papillomaviruses in cancer. *Am J Cancer*. 2005;4:49-64.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.

Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

White DO, Fenner FJ. Medical Virology, 4th ed. New York: Academic, 1994.

Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: Unresolved issues. *Nat Rev Cancer*. 2007;7:11-22.

zür-Hausen H. Viruses in human cancers. *Science*. 1991;254:1167-1173.

Sites

Centers for Disease Control and Prevention, Division of Sexually Transmitted Diseases, Human papillomavirus: Disponível em http://www.cdc.gov/std/HPV/

Centers for Disease Control and Prevention, Division of Sexually Transmitted Diseases, HPV vaccine: Disponível em http://www.cdc.gov/std/hpv/STDFact-HPV-vaccine.htm

Merck, HPV vaccine: Disponível em http://www.gardasil.com/

National Institutes of Health, Human papillomavirus: Disponível em http://www3.niaid.nih.gov/healthscience/healthtopics/human_papillomavirus/overview.htm

52 Adenovírus

Os adenovírus foram isolados pela primeira vez em 1953 em uma cultura de células adenoides humanas. Desde então, aproximadamente 100 sorotipos foram reconhecidos, dos quais pelo menos 47 infectam humanos. Todos os sorotipos humanos estão incluídos em um único gênero dentro de família *Adenoviridae*. Com base nos achados dos estudos de homologia de ácido desoxirribonucleico (DNA) e os padrões de hemoaglutinação, todos os 49 sorotipos foram classificados em subgrupos (A a F) (Tab. 52-1). Os vírus em cada subgrupo compartilham muitas propriedades em comum.

Tabela 52-1 Doenças Associadas a Adenovírus

Doença	População de Pacientes
Doenças Respiratórias	
Infecção febril e indiferenciada do trato respiratório superior	Lactentes, crianças pequenas
Febre faringoconjuntival	Crianças, adultos
Doença respiratória aguda	Recrutas militares
Síndrome semelhante à coqueluche	Lactentes, crianças pequenas
Pneumonia	Lactentes, crianças pequenas; recrutas militares;

Pneumonia	pacientes imunocomprometidos
Outras Doenças	
Cistite hemorrágica aguda	Crianças; receptores de transplante de medula óssea
Ceratoconjuntivite epidêmica	Qualquer idade; receptores de transplante renal
Gastroenterite	Lactentes, crianças pequenas
Hepatite	Receptores de transplante de fígado; outros pacientes imunocomprometidos
Meningoencefalite	Crianças; pacientes imunocomprometidos

Os primeiros adenovírus humanos identificados, numerados de 1 a 7, são os mais comuns. Os distúrbios comuns causados pelos adenovírus incluem **infecção do trato respiratório, conjuntivite (olho vermelho), cistite hemorrágica e gastroenterite**. Vários adenovírus apresentam um potencial oncogênico em animais e por este motivo foram extensivamente estudados por biologistas moleculares. Estes estudos elucidaram muitos processos virais e de células eucarióticas. Por exemplo, a análise do gene para proteína do hexâmero do adenovírus levou à descoberta dos íntrons e do processamento (*splicing*) do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) eucariótico. Os adenovírus também estão sendo usados para transferência de DNA na terapia gênica (p. ex., fibrose cística).

Estrutura e Replicação

Os adenovírus são DNA vírus de dupla fita com um genoma de aproximadamente 36.000 pares de bases, suficientemente grandes para codificar 30 a 40 genes. O genoma do adenovírus consiste em um **DNA linear de dupla fita**, com uma **proteína terminal** (massa molecular, 55kDa) ligado covalentemente em cada extremidade 5′. Os vírions são **icosadeltaedros não envelopados** com um diâmetro de 70 a 90nm (Fig. 52-1 e Quadro 52-1). O capsídeo compreende 240 capsômeros, que consistem em hexâmeros e pentâmeros. Os 12 pentâmeros, que estão localizados em cada um dos vértices, possuem uma base pentamérica e fibra. A **fibra** contém as **proteínas de fixação viral** e podem agir como uma hemaglutinina. A base pentamérica e a fibra são tóxicas para as células. Os pentâmeros e as fibras também são portadores de antígenos específicos para cada tipo de adenovírus.

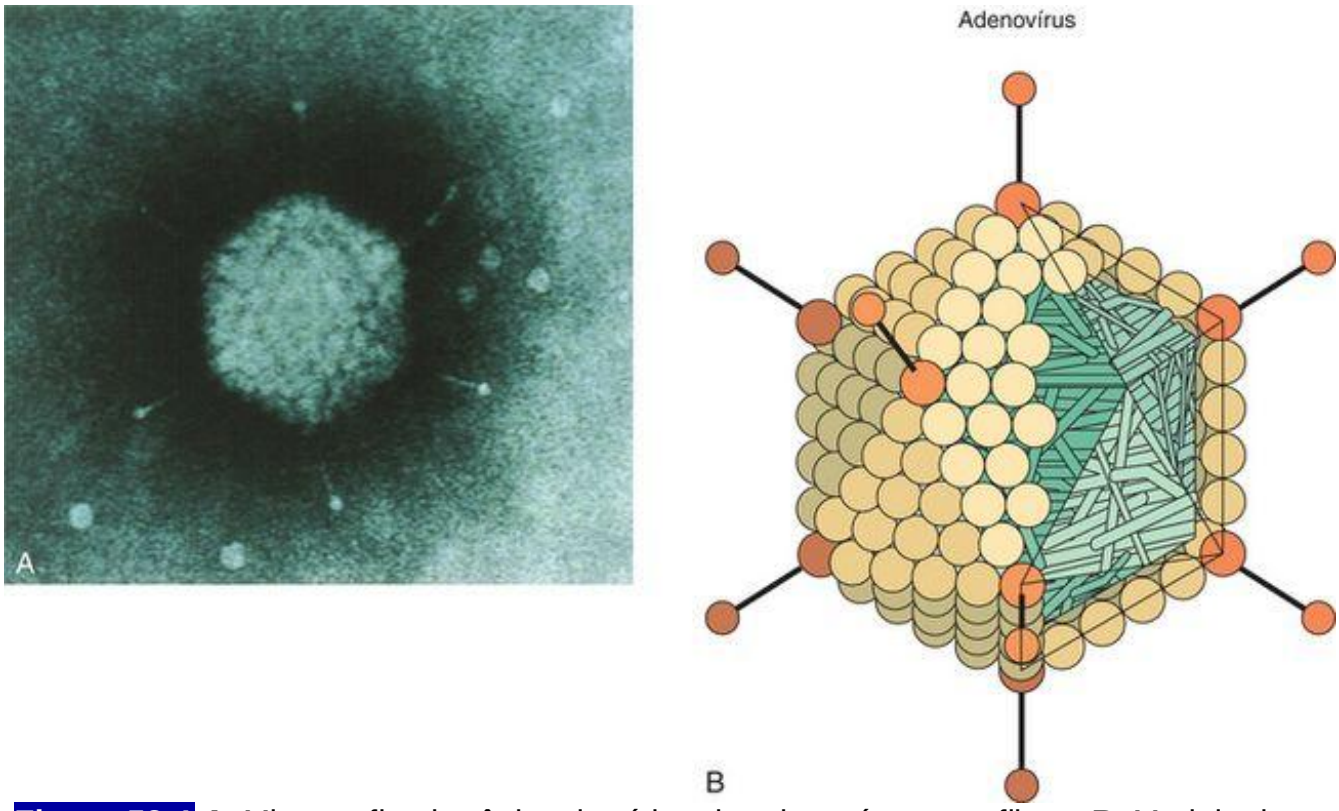


Figura 52-1 **A**, Micrografia eletrônica do vírion do adenovírus com fibras. **B**, Modelo de um vírion de adenovírus com fibras.

*(**A** de Valentine RC, Pereira HG: J Mol Biol 13:13-20, 1965; **B** de Armstrong D, Cohen J: Infectious Diseases, St Louis, Mosby, 1999.)*

Quadro 52-1 Propriedades Características dos Adenovírus

O capsídeo **icosadeltaédrico não envelopado** apresenta **fibras** (proteínas de fixação viral) nos vértices.

O genoma de dupla fita linear possui proteínas terminais 5′.

A síntese da DNA polimerase viral ativa a mudança de expressão de genes precoces para tardios.

O vírus codifica proteínas para promover a síntese de RNA mensageiro e DNA, incluindo sua própria **DNA polimerase**.

Os adenovírus humanos são agrupados de A a F por homologias de DNA e por sorotipos (mais de 42 tipos).

O sorotipo é o resultado principalmente de diferenças nas proteínas da base pentamérica e da fibra, que determinam a natureza do tropismo tecidual e a doença.

O vírus causa infecções **líticas, persistentes e latentes** em humanos e algumas cepas podem **imortalizar determinadas células animais**.

O complexo central (*core complex*) no capsídeo inclui o DNA viral e pelo menos duas proteínas maiores. Existem pelo menos 11 polipeptídios no vírion do adenovírus, das quais nove possuem função estrutural identificada (Tab. 52-2).

Tabela 52-2 Principais Proteínas do Adenovírus

Tabela 52-2. Principais Proteínas do Adenovírus

Gene	Número	Massa Molecular (kDa)	Função
E1A*			Ativa a transcrição do gene viral Liga-se ao supressor do crescimento celular: p105RB promove transformação Desregula o crescimento celular Inibe a ativação de elementos de resposta do interferon
E1B			Liga-se ao supressor de crescimento celular: p53 promove transformação Bloqueia a apoptose
E2			Ativa alguns promotores Proteína terminal no DNA DNA polimerase
E3			Impede inflamação por fator de necrose tumoral α (TFN-α)
E4			Limita o efeito citopatológico viral
VA RNAs			Inibe a resposta de interferon
Capsídeo	II	120	Contém um antígeno da família e alguns antígenos utilizados para sorotipagem
	III	85	Proteína de base pentamérica Tóxica para células em cultura celular
	IV	62	Fibra Responsável pela fixação e hemoaglutinação; contém alguns antígenos utilizados para sorotipagem
	VI	24	Proteínas associadas ao hexâmero
	VIII	13	Proteínas associadas ao pentâmero
	IX	12	
	IIIa	66	
Core (região central)	V	48	Proteína nuclear 1: proteína de ligação ao DNA
	VII	18	Proteína nuclear 2: proteína de ligação ao DNA

E, precoce; RB, produto genético do retinoblastoma; VA, associado ao vírus.
** Os genes precoces codificam vários mRNAs e proteínas por padrões alternativos de processamento (splicing).*

O mapa do genoma do adenovírus mostra as localizações dos genes virais (Fig. 52-2). Os genes são transcritos a partir das duas fitas do DNA e nas duas direções em momentos diferentes durante o ciclo de replicação. Os genes para funções relacionadas estão agrupados juntos. A maioria do RNA transcrito a partir do genoma do adenovírus é processada em vários mRNAs individuais no núcleo. As proteínas precoces promovem o crescimento celular e incluem uma **DNA polimerase** que está envolvida na replicação do genoma. O adenovírus

também codifica proteínas que suprimem respostas imunológicas e inflamatórias do hospedeiro. As proteínas tardias, que são sintetizadas após o início da replicação do DNA viral, consistem primariamente em componentes do capsídeo.

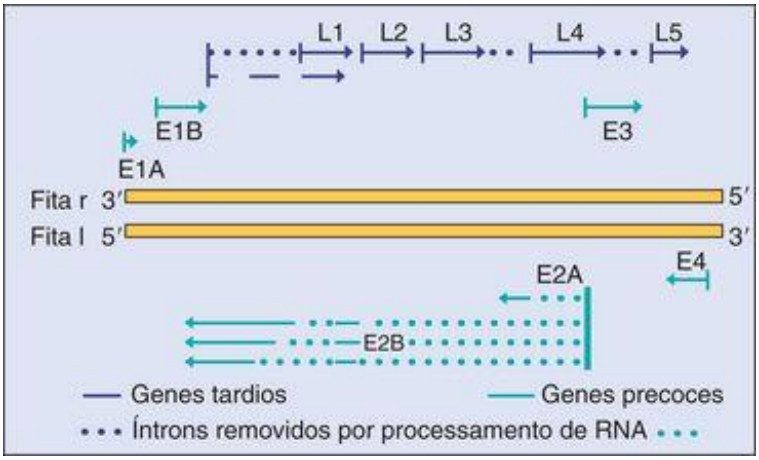


Figura 52-2 Mapa genômico simplificado do adenovírus tipo 2. Os genes são transcritos a partir das duas fitas (l e r) em direções opostas. Os genes precoces são transcritos a partir de quatro sequências promotoras e geram vários RNAs mensageiros. Padrões alternativos de processamento (*splicing*) dos transcritos primários de RNA produzem o repertório completo das proteínas virais. Apenas o *splicing* para o transcrito de E2 é mostrado como exemplo. Todos os genes tardios são transcritos a partir de uma sequência promotora. E, proteína precoce; L, proteína tardia.

(Modificado de Jawetz E, et al: Review of Medical Microbiology, 17th ed. Norwalk, Conn, Appleton & Lange, 1987.)

A replicação do adenovírus foi extensivamente estudada em culturas de células HeLa. Um ciclo viral demora aproximadamente 32 a 36 horas e produz 10.000 vírions. A ligação do adenovírus à superfície celular ocorre em duas etapas. As proteínas da fibra viral interagem com uma glicoproteína pertencente à superfamília das imunoglobulinas (aproximadamente 100.000 receptores de fibra estão presentes em cada célula). O mesmo receptor é usado por muitos vírus Coxsackie B, que levou à denominação de **receptor de adenovírus Coxsackie**. Alguns adenovírus utilizam a molécula do complexo de histocompatibilidade maior de classe I (MHC I – *class I major histocompatibility complex*) como receptor. Em seguida a base pentamérica interage com uma integrina α_v para promover a internalização por endocitose mediada pelo receptor em uma vesícula revestida por clatrina. O vírus lisa a vesícula endossomal e o capsídeo fornece o genoma do DNA para o núcleo. O pentâmero e as proteínas da fibra do capsídeo são tóxicos para as células e podem inibir a síntese celular de macromoléculas.

Os eventos transcricionais precoces levam à formação de produtos gênicos que podem estimular o crescimento celular e promover a replicação do DNA viral. Como ocorre com os papovavírus, vários mRNAs de adenovírus são transcritos a partir do mesmo promotor e compartilham as sequências iniciais, mas são produzidos pela retirada, durante o processamento (*splicing*), de diferentes íntrons. A transcrição do gene precoce *E1*, o processamento transcrito primário (retirada de íntrons para produzir três mRNAs) e a tradução da proteína precoce imediata **transativador E1A** são necessários para a transcrição das proteínas precoces. As proteínas precoces incluem mais proteínas de ligação a DNA, DNA polimerase e proteínas para ajudar o vírus a escapar da resposta imunológica. A proteína **E1A** também é um oncogene e, juntamente com a proteína **E1B**, pode estimular a multiplicação celular pela ligação às proteínas supressoras de crescimento celular **p105RB** (produto do gene retinoblastoma p105RB) (E1A) e **p53** (E1B). Em células permissivas, a estimulação da divisão celular facilita a transcrição e a replicação do genoma, com morte celular resultante da replicação viral. Em células não permissivas, o vírus estabelece latência e o genoma permanece no núcleo. Em células de roedores, as proteínas E1A e E1B podem promover o crescimento celular sem morte celular e, portanto, transformar oncogenicamente as células.

A replicação do DNA viral ocorre no núcleo e é mediada pela DNA polimerase codificada pelo vírus. A polimerase utiliza a proteína viral de 55kDa (proteína terminal) ligada a um monofosfato de citosina como *primer* para replicação das duas fitas do DNA. A proteína terminal permanece ligada ao DNA.

A transcrição genética tardia começa após a replicação do DNA. A maioria dos mRNAs tardios individuais é gerada a partir de um grande transcrito primário (83% do genoma) codificado pela fita direita do genoma, que é então processado em mRNAs individuais.

As proteínas do capsídeo são produzidas no citoplasma e então transportadas até o núcleo para a montagem viral. Pró-capsídeos vazios são montados primeiro, e, então, o DNA viral e as proteínas centrais entram no capsídeo por uma abertura em um dos vértices. A replicação e o processo de montagem são ineficientes e propensos a erros, produzindo apenas uma unidade infecciosa a cada 11 a 2.300 partículas. DNA, proteína e numerosas partículas defeituosas se acumulam em corpúsculos de inclusão nuclear. O vírus permanece na célula e é liberado quando esta se degenera e é lisada.

Patogênese e Imunidade

Os adenovírus são capazes de causar infecções **líticas** (p. ex., células mucoepiteliais), **latentes** (p. ex., células linfoides e adenoides) e **transformadoras** (em hamsters, não em humanos). Estes vírus infectam o revestimento das células epiteliais da orofaringe, assim como órgãos respiratórios e entéricos (Quadro 52-2). As proteínas da fibra viral determinam a especificidade para as células-alvo. A atividade tóxica da proteína da base pentamérica pode resultar em inibição do transporte celular de mRNA e síntese de proteínas, arredondamento da célula e lesão tecidual.

Quadro 52-2 Mecanismos Patológicos dos Adenovírus

O vírus é disseminado por **aerossol, contato próximo** ou via **fecal-oral** estabelecendo infecção faríngea. Disseminação do vírus para os olhos pode ser através dos dedos.

O vírus infecta as **células mucoepiteliais** do trato respiratório, trato gastrointestinal e conjuntiva ou córnea, causando lesão celular direta.

A doença é determinada pelo tropismo tecidual do grupo ou sorotipo específico da cepa viral.

O vírus **persiste** no tecido linfoide (p. ex., amígdalas, adenoides, placas de Peyer).

Os **anticorpos** são importantes para profilaxia e resolução.

A marca histológica da infecção por adenovírus é uma inclusão intranuclear densa e central (que consiste em DNA viral e proteína) dentro de uma célula epitelial infectada (Fig. 52-3). Estas inclusões podem lembrar aquelas observadas em células infectadas por citomegalovírus, porém os adenovírus não causam aumento celular (citomegalia). Infiltrados de células mononucleares e necrose de células epiteliais são observados no local de infecção.

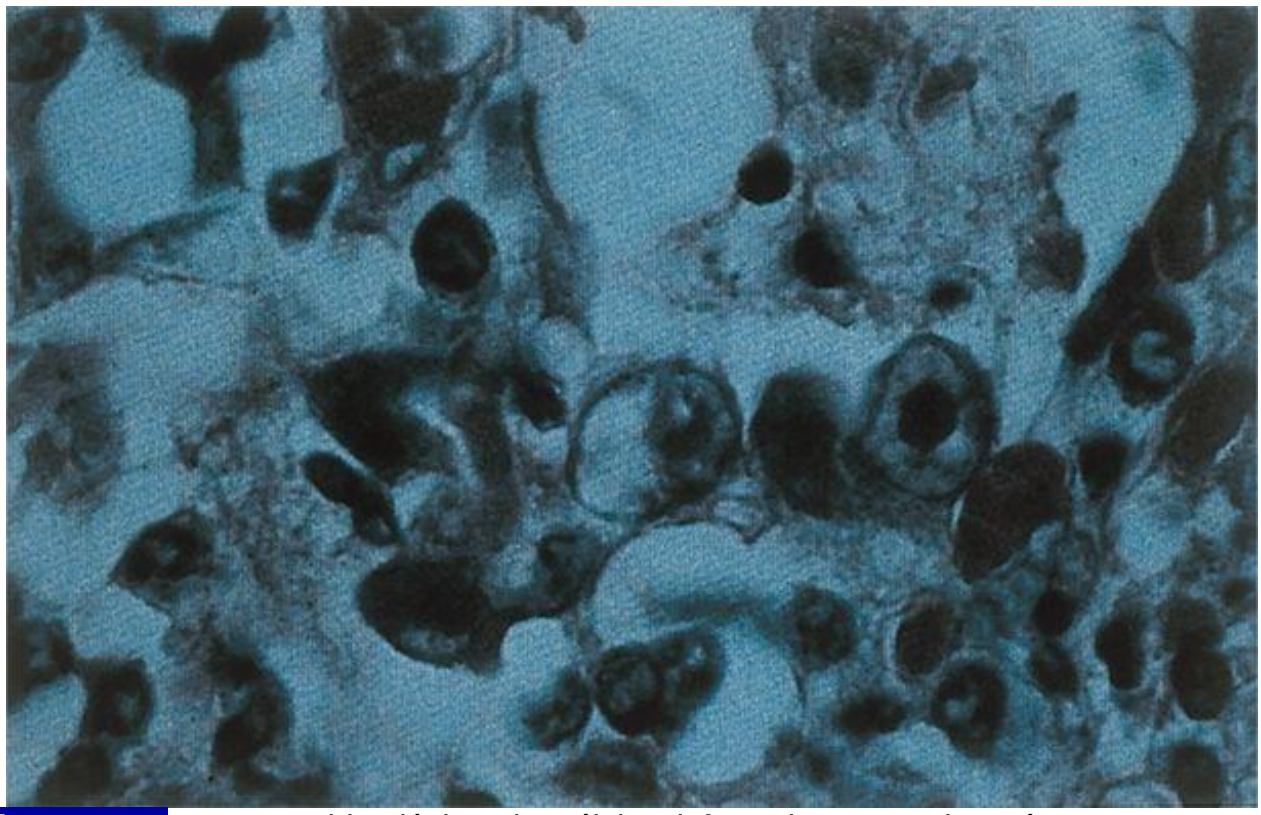


Figura 52-3 Aspecto histológico de células infectadas por adenovírus. A montagem

ineficaz dos vírions produz corpos de inclusão nuclear basófilos escuros, contendo DNA, proteínas e capsídeos.

Viremia pode ocorrer após a replicação local do vírus, com subsequente disseminação para os órgãos viscerais (Fig. 52-4). Esta disseminação tem maior probabilidade de ocorrer em pacientes imunocomprometidos que em pessoas imunocompetentes. O vírus é propenso a se tornar **latente e persistir** em tecidos linfoides e de outros tipos, como adenoides, amígdalas e placas de Peyer, e pode ser reativado em pacientes imunossuprimidos ou pacientes que foram infectados por outros agentes. Embora alguns adenovírus (grupos A e B) sejam **oncogênicos em alguns roedores**, a transformação de células humanas por adenovírus não foi observada.

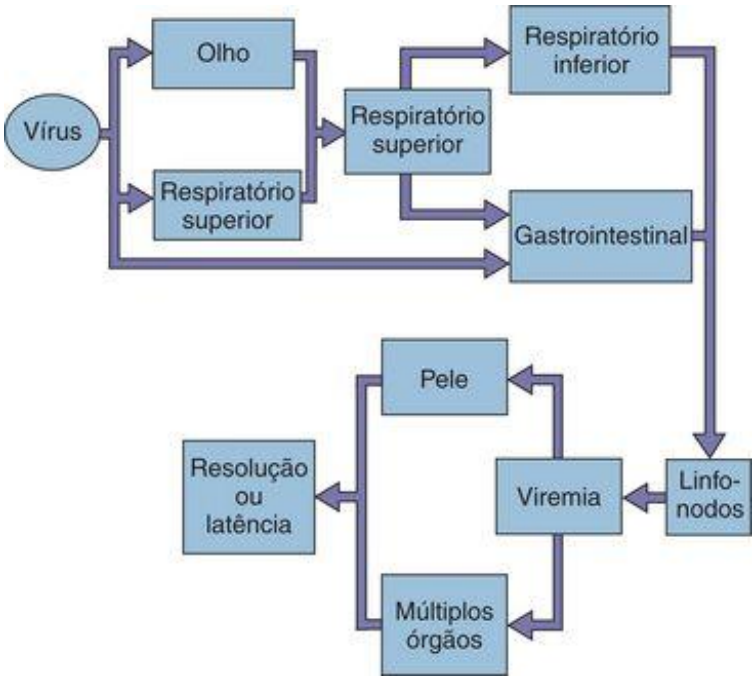


Figura 52-4 Mecanismo da disseminação do adenovírus no organismo.

Os anticorpos são importantes para resolução de infecções líticas por adenovírus e protegem a pessoa da reinfecção pelo mesmo sorotipo, mas não por outro sorotipo. A imunidade celular é importante para limitar o crescimento do vírus, o que é demonstrado pelo fato de que pessoas imunossuprimidas sofrem de doenças mais sérias e recorrentes. Os adenovírus possuem vários mecanismos para escapar das defesas do hospedeiro e ajudá-los a persistir no hospedeiro. Eles codificam pequenos RNAs associados ao vírus (VA RNA) que impedem a ativação da inibição da síntese de proteína viral mediada pela proteína quinase R induzida por interferon. As proteínas E3 e E1A virais bloqueiam a apoptose induzida por respostas celulares ao vírus, por ações de células T ou citocina (p. ex., TNF-α). Algumas cepas de adenovírus podem inibir a ação de células T CD8+ citotóxicas, prevenindo a expressão adequada das moléculas MHC I e consequentemente a apresentação do antígeno.

Epidemiologia

Os vírions do adenovírus resistem a ressecamento, detergentes, secreções do trato gastrointestinal (ácido, protease e bile) e mesmo ao tratamento brando com cloro (Quadro 52-3). Portanto, estes vírions podem ser disseminados pela via fecal-oral, em aerossóis, pelos dedos, por fômites (incluindo toalhas e instrumentos médicos) e em piscinas inadequadamente cloradas.

Quadro 52-3 Epidemiologia dos Adenovírus

Doença/Fatores Virais

O capsídeo do vírus é resistente à inativação pelo trato gastrointestinal e ressecamento

Os sintomas da doença podem parecer com os de outras infecções respiratórias virais

O vírus pode ser excretado de forma assintomática

Transmissão

Contato direto com gotículas respiratórias e fezes, nas mãos, em fômites (p ex., toalhas, instrumentos médicos contaminados), contato íntimo e piscinas inadequadamente cloradas

Quem está sob risco?

Crianças abaixo de 14 anos de idade

Pessoas em locais de agregação (p. ex., creches, acampamentos para treinamento militar, clubes de natação)

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado no mundo todo

Não existe incidência sazonal

Modo de Controle

Uma vacina viva para os sorotipos 4 e 7 está disponível para uso militar

Os adenovírus humanos são disseminados principalmente pelo contato respiratório ou fecal-oral de humano para humano, sem reservatórios animais aparentes para o vírus. A interação próxima entre as pessoas, como ocorre em salas de aula e quartéis militares, promove a disseminação dos vírus. Os adenovírus podem ser liberados intermitentemente da faringe e especialmente nas fezes durante longos períodos. A maioria das infecções é assintomática, uma característica que facilita imensamente sua disseminação na comunidade.

Os adenovírus de 1 a 7 constituem os sorotipos mais prevalentes. De 5% a 10% dos casos de doença pediátrica do trato respiratório são causados pelos adenovírus de tipos 1, 2, 5 e 6, e as crianças infectadas liberam o vírus durante meses após a infecção. O adenovírus causa 15% dos casos de gastroenterite exigindo hospitalização. Os sorotipos 4 e 7 parecem especialmente capazes de disseminação entre recrutas militares devido a sua proximidade e estilo de vida rigoroso.

Síndromes Clínicas (Quadro 52-4)

Os adenovírus infectam primariamente crianças e menos comumente adultos. A doença decorrente do vírus reativado ocorre em crianças e adultos imunocomprometidos. Várias síndromes clínicas diferentes estão associadas à infecção por adenovírus (Tab. 52-1). A evolução temporal da infecção respiratória por adenovírus é mostrada na Figura 52-5.

Quadro 52-4 Resumos Clínicos

Febre faringoconjuntival: Um estudante de 7 anos de idade desenvolve início súbito de olhos vermelhos, dor de garganta e febre de 38,9°C (102°F). Várias crianças da escola primária local apresentam sintomas semelhantes.

Gastroenterite: Um lactente apresenta diarreia e está vomitando. Adenovírus sorotipo 41 é identificado na análise das fezes por reação em cadeia da polimerase para fins epidemiológicos.

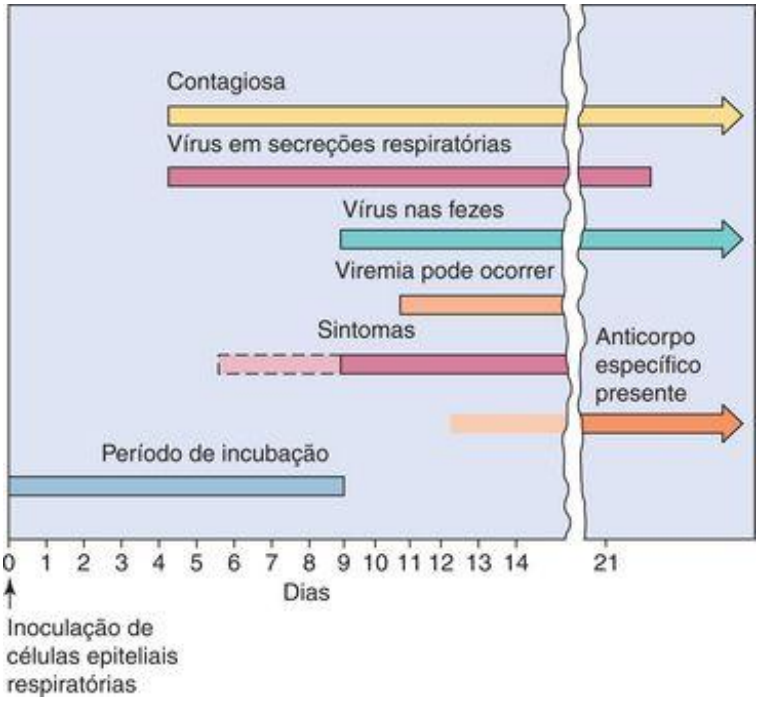


Figura 52-5 Evolução temporal da infecção respiratória por adenovírus.

Faringite Febril Aguda e Febre Faringoconjuntival

Os adenovírus causam **faringite**, que frequentemente é acompanhada por **conjuntivite (olho vermelho)** e **febre faringoconjuntival**. A faringite isolada ocorre em crianças novas, particularmente abaixo de 3 anos de idade, e pode mimetizar uma infecção estreptocócica. Os pacientes afetados apresentam sintomas semelhantes à gripe (incluindo congestão nasal, tosse, coriza, mal-estar, febre, calafrios, mialgia e cefaleia), que podem durar de 3 a 5 dias. A febre faringoconjuntival ocorre mais frequentemente em surtos envolvendo crianças mais velhas.

Doença Respiratória Aguda

Doença respiratória aguda é uma síndrome consistindo em febre, tosse, faringite e adenite cervical (Caso Clínico 52-1). Geralmente é causada por adenovírus dos sorotipos 4 e 7. A alta incidência de infecção em recrutas militares estimulou o desenvolvimento e o uso de uma vacina para estes sorotipos.

Caso Clínico 52-1 Adenovírus Patogênico 14

O CDC (Morb Mortal Wkly Rep 56(45):1181-1184, 2007) relatou que a análise de isolados de recrutas durante um surto de infecção respiratória febril na Base da Força Aérea de Lackland mostrou que 63% dos casos foram decorrentes de adenovírus e, destes, 90% decorrentes do adenovírus 14. Dos 423 casos, 27 foram hospitalizados com pneumonia, 5 necessitaram de internação na UTI e um paciente morreu. Em um caso análogo relatado pela CNN (http://www.cnn.com/2007/HEALTH/conditions/12/19/killer.cold/index.html), um atleta da escola secundária de 18 anos de idade queixou-se de sintomas semelhantes à gripe com vômitos, calafrios e febre de 40°C, que progrediu para pneumonia com risco à vida em alguns dias. O adenovírus causador destas infecções é um mutante do adenovírus 14 que foi identificado pela primeira vez em 1955. O mutante do adenovírus 14 se espalhou pelos Estados Unidos colocando adultos sob risco de doença severa. A infecção por adenovírus 14 geralmente causa uma infecção respiratória benigna em adultos, com recém-nascidos e idosos apresentando maior risco de evoluções severas. Embora a maioria das mutações virais produza vírus mais fracos, ocasionalmente um mutante mais virulento, capaz de escapar de anticorpos ou resistente a medicações antivirais, pode ocorrer.

Outras Doenças do Trato Respiratório

Os adenovírus causam sintomas semelhantes a um resfriado, laringite, crupe e bronqueolite. Também podem causar doença semelhante à coqueluche em crianças e adultos, que consiste em um curso clínico prolongado e uma pneumonia viral verdadeira.

Conjuntivite e Ceratoconjuntivite Epidêmica

Os adenovírus causam uma conjuntivite folicular na qual a mucosa da conjuntiva palpebral torna-se granulosa ou nodular e as duas conjuntivas (palpebral e bulbar) ficam inflamadas (Fig. 52-6). Esta conjuntivite pode ocorrer esporadicamente ou em surtos que podem ser rastreados até uma fonte comum. A conjuntivite transmitida em piscinas é um exemplo familiar de infecção por adenovírus de fonte comum. A ceratoconjuntivite epidêmica pode constituir um risco ocupacional para trabalhadores industriais. A mais notável destas epidemias ocorreu em trabalhadores de estaleiros navais em Pearl Harbor no Havaí, onde causou mais de 10.000 casos durante 1941 e 1942. A irritação do olho por um corpo estranho, poeira, resíduos etc. constitui um fator de risco para a aquisição desta infecção.

Figura 52-6 Conjuntivite causada por adenovírus.

Gastroenterite e Diarreia

Os adenovírus são uma causa importante de gastroenterite viral aguda. Os adenovírus de sorotipos 40 a 42 foram agrupados como adenovírus entéricos (grupo F) e parecem ser responsáveis por episódios de diarreia em crianças. Estes adenovírus entéricos não se replicam nas mesmas células de cultura de tecidos que outros adenovírus e raramente causam febre ou sintomas do trato respiratório.

Outras Manifestações

Os adenovírus também foram associados à intussuscepção em crianças pequenas, cistite hemorrágica aguda com disúria e hematúria em meninos pequenos, distúrbios musculoesqueléticos e infecções genitais e cutâneas.

Infecção Sistêmica em Pacientes Imunocomprometidos

Pacientes imunocomprometidos estão sob risco de infecções graves por adenovírus, embora seja menor do que infecções causadas por herpes vírus. A doença por adenovírus em pacientes imunocomprometidos inclui pneumonia e hepatite. A infecção pode ser originada de fontes exógenas ou endógenas (reativação).

Diagnóstico Laboratorial

Para que os resultados do isolamento viral sejam significativos, o isolado deve ser obtido de um local ou de uma secreção relevante para os sintomas da doença. A presença de adenovírus na garganta de um paciente com faringite geralmente é diagnosticada se os achados laboratoriais eliminarem outras causas comuns de faringite, como o *Streptococcus pyogenes*.

A análise direta da amostra clínica sem o isolamento viral pode ser usada para detecção rápida e identificação dos adenovírus. Imunoensaios, incluindo anticorpos fluorescentes, ensaios imunoabsorventes enzimáticos e ensaios genômicos, incluindo diferentes variações da reação em cadeia da polimerase e análise de sonda de DNA, podem ser usados para detectar, determinar o tipo e agrupar os vírus em amostras clínicas e culturas de tecidos. Estas abordagens devem ser usadas para adenovírus entéricos de sorotipos 40 a 42, que não crescem facilmente nas culturas de células disponíveis. Os testes sorológicos são raramente usados, exceto para fins epidemiológicos ou para confirmar a importância de um isolado fecal ou do trato respiratório superior pela identificação de seu sorotipo.

O isolamento da maioria dos tipos de adenovírus é mais bem realizado em culturas celulares derivadas de células epiteliais (p. ex., células de rim embrionário humano primárias, linhagens contínuas [transformadas] como HeLa e células de carcinoma epidérmico humano). Dentro de 2 a 20 dias, o vírus causa uma infecção lítica com corpos de inclusão característicos. Para o isolamento do vírus em cultura celular são necessários, em média, 6 dias. As inclusões intranucleares características podem ser observadas no tecido infectado durante o exame histológico. Contudo, estas inclusões são raras e devem ser distinguidas daquelas produzidas pelo citomegalovírus.

Tratamento, Prevenção e Controle

A lavagem cuidadosa das mãos e a cloração de piscinas podem reduzir a transmissão do adenovírus. Não existe um tratamento aprovado para a infecção por adenovírus. Vacinas orais vivas são usadas para prevenir infecções por adenovírus dos tipos 4 e 7 em recrutas, mas não são usadas na população civil.

Terapia Gênica

Os adenovírus têm sido usados na transferência de material genético para correção de várias doenças humanas, incluindo imunodeficiências (p. ex., deficiência de adenosina desaminase), fibrose cística, doenças de armazenamento lisossomal e até mesmo câncer. O vírus é inativado pela deleção ou mutação de *E1* e outros genes virais (p. ex., *E2, E4)*. O gene apropriado é inserido no genoma, substituindo estes genes virais, e é controlado por um promotor apropriado. O vetor viral resultante deve ser cultivado em uma célula que expresse as funções virais ausentes (E1, E4) e possa complementar a deficiência para permitir a produção do vírus. Os adenovírus de tipos 4 e 7 são usados mais extensivamente desde que cepas atenuadas (vacina) foram desenvolvidas. Apesar da atenuação pela engenharia genética, estes vírus ainda podem causar doenças graves em humanos.

Estudo de Caso e Questões

Um menino de 7 anos de idade participando de um acampamento de verão queixa-se de dor de garganta, cefaleia, tosse, olhos vermelhos e cansaço e é enviado para a enfermaria. Sua temperatura é de 40°C. Em algumas horas, outros participantes do acampamento e conselheiros se apresentam à enfermaria com sintomas semelhantes. Os sintomas duram de 5 a 7 dias. Todos os pacientes nadaram no lago do acampamento. Mais de 50% das pessoas no acampamento queixam-se de sintomas semelhantes ao do caso inicial. O Departamento de Saúde Pública identifica o agente como adenovírus de sorotipo 3.

1. Para qual síndrome de adenovírus os sintomas apontam?

1. O paciente apresenta sinais e sintomas que levam à suspeita de febre faringoconjuntival.

2. Um surto grande como este indica uma fonte comum de infecção. Qual ou quais foram as fontes mais prováveis? Quais foram as vias mais prováveis pelas quais o vírus foi disseminado?

2. A fonte mais provável desse surto é a água não clorada do lago do acampamento. O vírus é muito resistente e pode suportar condições ambientais relativamente severas.

3. Que propriedades físicas do vírus facilitam sua transmissão?

3. O capsídeo do adenovírus protege-o de condições severas de secagem e até mesmo da ação de bile e ácidos presentes no trato gastrointestinal. Isso permite que o adenovírus seja transmitido por via fecal oral, respiratória, contato e em fômites.

4. Que precauções os proprietários do acampamento devem tomar para prevenir outros surtos?

4. Contaminação da lagoa seria de difícil eliminação. Não existe vacina para proteger as pessoas que acampam no local. No entanto, um maior cuidado com esgoto pode evitar maior contaminação da lagoa. Além disso, as pessoas no acampamento não devem compartilhar toalhas ou outros itens que podem entrar em contato com o vírus.

5. Que amostras teriam sido usadas pelo Departamento de Saúde Pública para identificar o agente infeccioso e que testes seriam necessários para identificar a infecção?

5. Um *swab* com secreção ocular, uma amostra de fezes ou secreção nasal coletadas da criança infectada poderiam ser testadas para o vírus. Água da lagoa pode ser concentrada para permitir a detecção de vírus como uma fonte comum de infecção. A presença de adenovírus e seu tipo devem ser detectados por PCR.

Bibliografia

Balows A, Hausler WJ Jr, Lennette EH: Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice, vol 2. New York, Springer-Verlag, 1988.

Benihoud K, Yeh P, Perricaudet M. Adenovirus vectors for gene delivery. *Curr Opin Biotechnol*. 1999;10:440-447.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester. England: Wiley, 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Doerfler W, Böhm P. Adenoviruses: Model and Vectors in Virus-Host Interactions. (Curr Top Microbiol Immunol, vols 272–273). New York: Springer, 2003.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Ginsberg HS. The Adenoviruses. New York: Plenum, 1984.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.

Robbins PD, Ghivizzani SC. Viral vectors for gene therapy. *Pharmacol Ther*. 1998;80:35-47.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.

Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

53 Herpesvírus Humanos

Os herpesvírus são um importante grupo de grandes vírus envelopados de ácido desoxirribonucleico (DNA) com as seguintes características em comum: morfologia de vírion, modo básico de replicação e capacidade de estabelecer infecções latentes e recorrentes. A imunidade celular é importante no controle e desenvolvimento dos sintomas de infecções por estes vírus. Os herpesvírus codificam proteínas e enzimas que facilitam a replicação e interação do vírus com o hospedeiro. Os herpesvírus podem causar infecções líticas, persistentes e latentes/recorrentes e os vírus Epstein-Barr (EBV) e HHV8 estão associados a cânceres humanos (Quadro 53-1).

Quadro 53-1 Propriedades Características dos Herpesvírus

Os herpesvírus apresentam grandes capsídeos icosadeltaédricos contendo genomas de DNA de fita dupla.

Os herpesvírus codificam muitas proteínas que manipulam a célula e a resposta imune do hospedeiro.

Os herpesvírus codificam enzimas (**DNA polimerase**) que promovem a replicação do DNA viral e que são bons alvos para **fármacos antivirais**.

A replicação do DNA e a montagem do capsídeo ocorrem no núcleo.

O vírus é liberado por exocitose, lise celular e por pontes célula-célula.

Os herpesvírus podem causar **infecções líticas, persistentes, latentes** e (por vírus Epstein-Barr) **imortalizantes**.

Os herpesvírus são ubíquos.

A imunidade celular é requerida para o controle.

Os herpesvírus humanos estão agrupados em três subfamílias, com base em diferenças nas características virais (estrutura do genoma, tropismo tecidual, efeito citopatológico e sítio de infecção latente), assim como na patogênese e manifestações da doença (Tab. 53-1). Os herpesvírus humanos incluem os vírus herpes simples tipos 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2), vírus varicela-zóster (VZV), vírus Epstein-Barr, citomegalovírus (CMV), herpesvírus humanos 6 e 7 (HHV6 e HHV7) e herpesvírus humano 8 (HHV8), associado ao sarcoma de Kaposi.

Tabela 53-1 Propriedades que Distinguem os Herpesvírus

Tabela 53-1. Propriedades que Distinguem os Herpesvírus

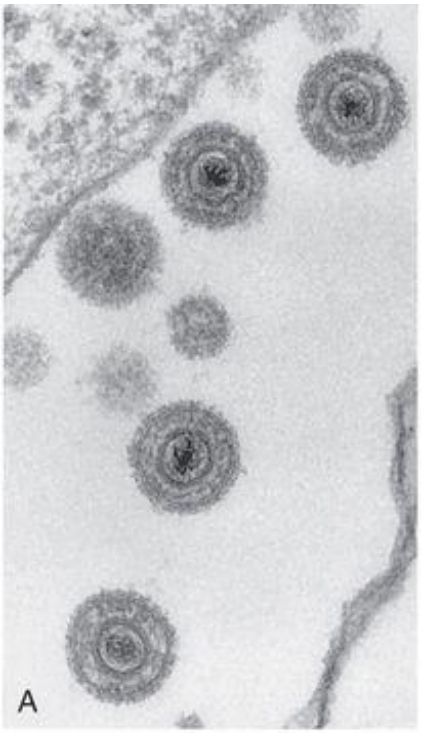
Subfamília	Vírus	Célula-alvo Primária	Sítio de Latência	Modos de Disseminação
Alphaherpesvirinae				
Herpesvírus humano 1	Herpes simples tipo 1	Células mucoepiteliais	Neurônio	Contato próximo
Herpesvírus humano 2	Herpes simples tipo 2	Células mucoepiteliais	Neurônio	Contato próximo (doença sexualmente transmissível)
Herpesvírus humano 3	Vírus varicela-zóster	Células mucoepiteliais e células T	Neurônio	Contato respiratório e próximo
Gammaherpesvirinae				
Herpesvírus humano 4	Vírus Epstein-Barr	Células B e células epiteliais	Célula B	Saliva (doença do beijo)
Herpesvírus humano 8	Vírus relacionado ao sarcoma de Kaposi	Linfócitos e outras células	Célula B	Contato próximo (sexual), saliva?
Betaherpesvirinae				
Herpesvírus humano 5	Citomegalovírus	Monócitos, linfócitos e células epiteliais	Monócito, linfócito e ?	Contato próximo, transfusões, transplante de tecido e congênita
Herpesvírus humano 6	Vírus linfotrópico herpético	Como o CMV, glândulas salivares, neurônios	Célula T e ?	Saliva
Herpesvírus humano 7	Herpesvírus humano 7	Como o CMV	Célula T e ?	Saliva

? Indica que outras células podem também ser o alvo primário ou o sítio de latência.

As infecções por herpesvírus são comuns, e os vírus são **ubíquos**. Embora estes vírus geralmente causem doenças benignas, especialmente em crianças, também podem causar morbidade e mortalidade significativas, especialmente em indivíduos imunossuprimidos. Felizmente, alguns herpesvírus codificam alvos para agentes antivirais e existe uma vacina de vírus vivo contra VZV.

Estrutura dos Herpesvírus

Os herpesvírus são vírus **grandes** e **envelopados** que contêm **DNA de fita dupla**. O vírion possui aproximadamente 150nm de diâmetro, com a morfologia característica apresentada na Figura 53-1. O DNA é envolvido por um **capsídeo icosadeltaédrico** contendo 162 capsômeros. Este capsídeo é envolvido por um envelope contendo glicoproteínas. Os herpesvírus codificam diversas glicoproteínas para adesão e fusão viral e para escapar do controle imune. Aderidas ao capsídeo e no espaço entre o envelope e o capsídeo (o **tegumento**) estão proteínas e enzimas virais que auxiliam no início da replicação. Como vírus envelopados, os herpesvírus são sensíveis a ácidos, solventes, detergentes e ressecamento.



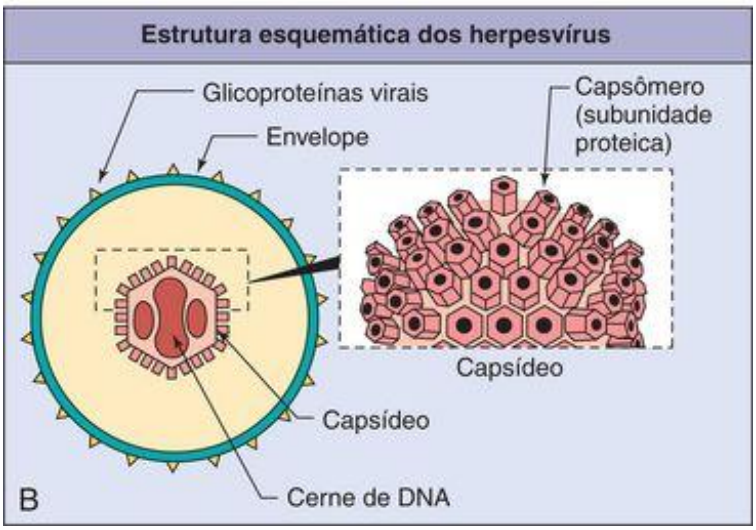


Figura 53-1 Imagem por microscopia eletrônica (**A**) e estrutura geral (**B**) dos herpesvírus. O genoma de DNA dos herpesvírus, no cerne, é cercado por um capsídeo icosadeltaédrico e um envelope. Glicoproteínas estão inseridas no envelope.

*(**A** Extraído de Armstrong D, Cohen J: Infectiuos Diseases. St Louis, Mosby, 1999.)*

Os genomas dos herpesvírus são constituídos de DNA linear de fita dupla, mas diferem em tamanho e orientação dos genes (Fig. 53-2). Sequências diretas ou invertidas demarcam regiões únicas do genoma (única longa [U_L], única curta [U_S]), permitindo a circulação e recombinação dentro do genoma. A recombinação entre repetições invertidas de HSV, CMV e VZV permite que grandes porções do genoma mudem a orientação de seus segmentos genéticos U_L e U_S, um em relação ao outro, para formar genomas isométricos.

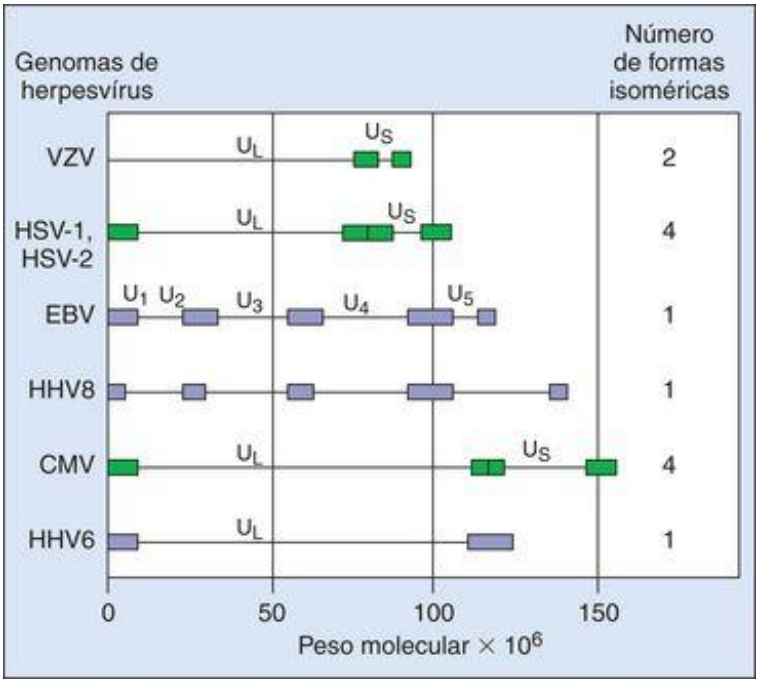


Figura 53-2 Genomas de herpesvírus. Os genomas dos herpesvírus são de DNA de fita dupla. O comprimento e a complexidade do genoma são diferentes em cada vírus. Repetições invertidas nos vírus herpes simples (HSV), vírus varicela-zóster (VZV) e citomegalovírus (CMV) permitem que o genoma se recombine, formando isômeros, Grandes sequências de repetição genética estão representadas. Os genomas de HSV e CMV têm duas seções, a única longa (U_L) e a única curta (U_S), cada uma delimitada por duas séries de repetições invertidas de DNA. As repetições invertidas facilitam a replicação do genoma, mas também permitem que as regiões U_L e U_S se invertam independentemente uma da outra, formando quatro configurações genômicas, ou isômeros, diferentes. VZV apresenta apenas uma série de repetições invertidas e pode formar dois isômeros. Vírus Epstein-Barr (EBV) existe em apenas uma configuração, com várias regiões únicas delimitadas por repetições diretas. As barras violetas indicam as repetições diretas nas sequências de DNA. As barras verdes indicam repetições invertidas nas sequências de DNA. HHV-6, herpesvírus humano 6; HHV-8 herpesvírus humano 8.

Replicação dos Herpesvírus

A replicação dos herpesvírus inicia-se pela interação de glicoproteínas virais com os receptores da superfície celular (Cap. 4, Fig. 4-12). O tropismo de alguns herpesvírus (p. ex., EBV) é restrito como resultado da expressão tecido-específica de seus receptores. O nucleocapsídeo é então liberado no citoplasma através da fusão do envelope com a membrana plasmática. Enzimas e fatores de transcrição são carreados para dentro da célula no tegumento do vírion. O nucleocapsídeo liga-se à membrana nuclear e o genoma é liberado no núcleo, onde será transcrito e replicado.

A transcrição do genoma e a síntese proteica viral procedem-se de maneira coordenada e regulada, seguindo três fases:

1. **Proteínas precoces imediatas** (α), que consistem em proteínas importantes na regulação da transcrição gênica e controle da célula.

2. **Proteínas precoces** (β), que consistem em mais fatores de transcrição e enzimas, incluindo a DNA polimerase.

3. **Proteínas tardias** (γ), que consistem principalmente em proteínas estruturais geradas após o início da replicação do genoma viral.

O genoma viral é transcrito pela polimerase de ácido ribonucleico (RNA) DNA-dependente e é regulado pelos fatores nucleares celulares e codificados pelo vírus. A interação destes fatores determina se serão produzidas as proteínas necessárias para uma infecção lítica, persistente ou latente. As células que promovem uma infecção latente transcrevem um conjunto especial de genes virais sem replicação gênica. A progressão para a expressão de genes precoces e tardios resulta na morte celular e infecção lítica.

A DNA polimerase codificada pelo vírus, que é um alvo de fármacos antivirais, replica o genoma viral. As enzimas codificadas pelo vírus fornecem desoxirribonucleotídeos como substratos para a polimerase. Estas e outras enzimas virais facilitam a replicação do vírus em células que não se dividem e carecem de desoxirribonucleotídeos e enzimas suficientes para a síntese de DNA viral (p. ex., neurônios).

Procapsídeos vazios formam-se no núcleo, são preenchidos com DNA, adquirem um envelope na membrana nuclear ou na membrana do Golgi e saem da célula por exocitose ou lise celular. A transcrição, a síntese de proteínas, o processamento de glicoproteínas e a liberação exocitótica da célula são realizadas pela maquinaria celular. A replicação do HSV é discutida com mais detalhes por este ser o protótipo dos herpesvírus.

Vírus do Herpes Simples

O HSV foi o primeiro herpesvírus humano a ser reconhecido. O nome *herpes* deriva de uma palavra grega que significa “rastejar”. As lesões do herpes labial foram descritas na antiguidade, e sua etiologia viral foi estabelecida em 1919.

Os dois tipos de vírus do herpes simples, HSV-1 e HSV-2, compartilham muitas características, incluindo a homologia de DNA, determinantes antigênicos, tropismo tecidual e sintomas da doença, Entretanto, eles ainda podem ser distinguidos por diferenças sutis, mas significativas, nestas propriedades.

Estrutura

O genoma do HSV é suficientemente grande para codificar 80 proteínas. Apenas a metade é requerida para a replicação viral; as outras proteínas facilitam a interação do HSV com diferentes células do hospedeiro e com a resposta imune. O genoma do HSV codifica enzimas, incluindo uma DNA polimerase DNA-dependente e enzimas captadoras, como desoxirribonuclease, timidina quinase, ribonucleotídeo redutase e protease. A ribonucleotídeo redutase converte ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos, e a timidina quinase fosforila os desoxirribonucleotídeos para fornecer substratos para a replicação do genoma viral. As especificidades dos substratos destas enzimas e da DNA polimerase diferem significativamente daquelas dos seus análogos celulares, portanto representam bons alvos potenciais para a quimioterapia antiviral.

O HSV codifica pelo menos 10 glicoproteínas que atuam como proteínas de adesão viral (gB, gC, gD, gH, gE/gI), proteínas de fusão (gB), proteínas estruturais, proteínas de evasão imune (gC, gE, gI) e outras funções. Por exemplo, o componente C3 do sistema complemento se liga à gC e é depletado do soro. A porção Fc da imunoglobulina G (IgG) se liga ao complexo gE/gI, deste modo camuflando o vírus e as células por ele infectadas. Estas ações reduzem a efetividade antiviral dos anticorpos.

Replicação

O HSV pode infectar a maioria dos tipos de células humanas, e mesmo células de outras espécies. O vírus geralmente causa infecções líticas de fibroblastos e células epiteliais e infecções latentes de neurônios (Cap. 4, Fig. 4-12).

O HSV-1 liga-se rápida e eficientemente às células através de uma interação inicial com heparan sulfato, um proteoglicano encontrado no exterior de muitos tipos de celulares e esta ligação propicia uma interação mais estreita com proteínas receptoras na superfície celular. A penetração na célula requer interações com nectina-1 (HveC [mediador C de entrada de herpesvírus]), uma molécula de adesão intercelular que é um membro da família das imunoglobulinas e similar ao receptor de poliovírus. A nectina-1 é encontrada na maioria das células e neurônios. Outro receptor é o HveA, um membro da família dos receptores do fator de necrose tumoral, que é expressado em células T ativadas, neurônios e outras células. O HSV penetra na célula hospedeira pela fusão de seu envelope com a membrana da superfície celular. Com a fusão, o vírion libera seu capsídeo no citoplasma, juntamente com uma proteína que promove o início da transcrição do gene viral, uma proteína quinase codificada pelo vírus e proteínas citotóxicas. O capsídeo liga-se a um poro nuclear e libera o genoma no núcleo.

Os **produtos dos genes precoces imediatos** incluem proteínas ligantes de DNA, que estimulam a síntese de DNA e promovem a transcrição dos genes virais precoces. Durante uma infecção latente dos neurônios, a única região do genoma a ser transcrita gera os **transcritos associados à latência** (**LATs**), mas estes RNAs não são traduzidos em proteínas.

As **proteínas precoces** incluem a DNA polimerase DNA-dependente e uma timidina quinase. Por serem proteínas catalíticas, são requeridas relativamente poucas cópias destas enzimas para promover a replicação. Outras proteínas precoces inibem a produção e iniciam a degradação de RNA mensageiro (mRNA) e DNA celulares. A expressão dos genes precoces e tardios geralmente leva à morte celular.

O genoma é replicado logo após a síntese da polimerase. Inicialmente são geradas formas circulares, concatâmeros término-terminais do genoma. Mais tarde na infecção, o DNA é replicado por um mecanismo de círculo rolante, produzindo uma cadeia linear de genomas que, conceitualmente, se assemelha a um rolo de papel higiênico. Os concatâmeros são clivados em genomas individuais à medida que o DNA é sugado para dentro de um procapsídeo.

A replicação do genoma desencadeia a transcrição de genes tardios, a partir dos quais proteínas estruturais e outras são codificadas. São necessárias muitas cópias das proteínas estruturais. As proteínas do capsídeo são então transportadas para o núcleo, onde são montadas em procapsídeos vazios e preenchidos com DNA. Os capsídeos contendo DNA associam-se às membranas nucleares rompidas por proteínas virais, penetrando e então brotando para fora do retículo endoplasmático, sendo liberados no citoplasma. As glicoproteínas virais são sintetizadas e processadas como glicoproteínas celulares. Proteínas tegumentares associam-se ao capsídeo viral no citoplasma, e, então, o capsídeo penetra em uma porção da rede trans de Golgi, adquirindo seu envelope que contém glicoproteínas. O vírus é liberado por exocitose ou lise celular. O vírus pode também se disseminar entre células através de pontes intercelulares, que permite escapar à detecção de anticorpos. A formação de sincícios induzida pelo vírus também dissemina a infecção.

A infecção de neurônios por HSV pode resultar em replicação viral ou no estabelecimento de latência, dependendo dos genes virais que o neurônio seja capaz de transcrever. A transcrição dos LATs e de nenhum outro gene viral resultará em latência. Se a célula transcrever os genes precoces imediatos do vírus, este se replicará. Como outros alfa-herpesvírus, o HSV codifica uma timidina quinase (enzima captadora) para facilitar a replicação em células que não se dividem como os neurônios. O HSV também codifica uma proteína, a ICP34.5, que facilita o crescimento do vírus nos neurônios por remover um bloqueio celular contra a síntese de proteínas ativado em resposta à infecção viral ou como parte da resposta ao interferon alfa.

Patogênese e Imunidade

Os mecanismos envolvidos na patogênese de HSV-l e HSV-2 são muito semelhantes (Quadro 53-2). Ambos os vírus inicialmente infectam e se replicam em células mucoepiteliais, causam doença no sítio de infecção e então estabelecem uma infecção latente do neurônio que inerva a área. O HSV-l está geralmente associado a infecções acima da cintura e HSV-2 a infecções abaixo da cintura (Fig. 53-3), consistente com os meios de disseminação destes vírus. HSV-l e HSV-2 também diferem nas características de crescimento e antigenicidade, e HSV-2 tem um potencial maior para causar viremia, com sintomas gripais sistêmicos associados.

Quadro 53-2 Mecanismos Patológicos do Vírus Herpes Simples

A doença começa por contato direto e depende do tecido infectado (p. ex., oral, genital, cerebral).

O vírus causa efeitos citopatológicos diretos.

O vírus evita os anticorpos pela disseminação célula a célula e formação de sincícios.

O vírus estabelece latência em neurônios (escapa à resposta imune).

O vírus é reativado a partir da latência pelo estresse ou imunossupressão.

A imunidade celular é requerida para a resolução, com um papel limitado dos anticorpos.

Os efeitos imunopatológicos mediados por células contribuem para os sintomas.

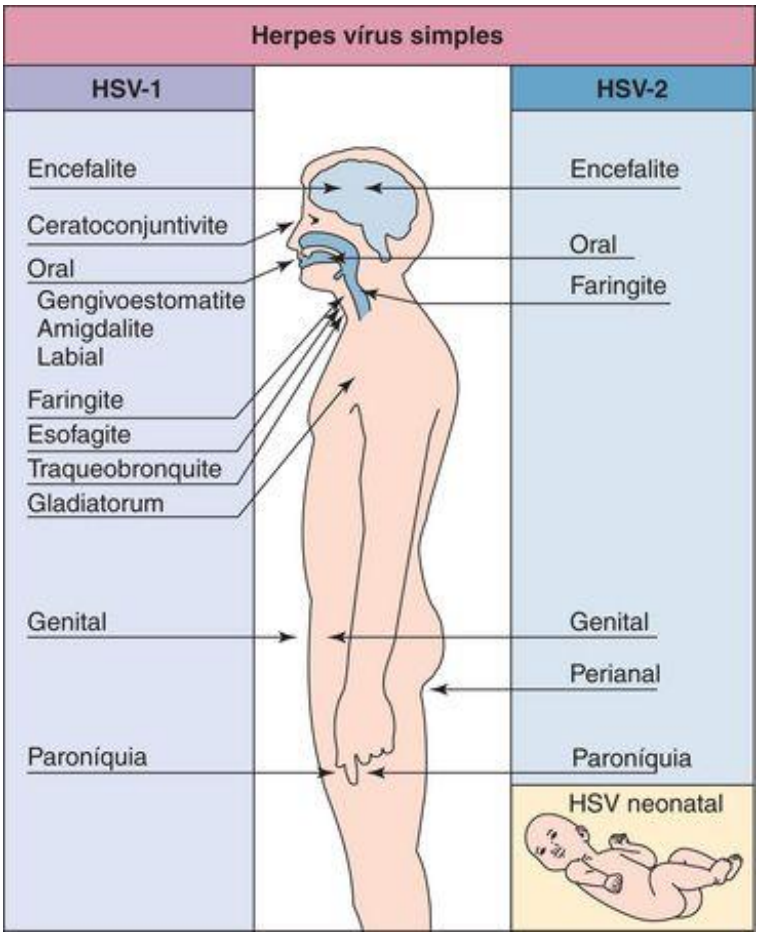


Figura 53-3 Síndromes das doenças por herpes vírus simples (HSV). HSV-1 e HSV-2

podem infectar os mesmos tecidos e causar doenças semelhantes, mas têm uma predileção pelos sítios e doenças indicados.

O HSV pode causar infecções **líticas** na maioria das células, infecções **persistentes** em linfócitos e macrófagos e infecções **latentes** em neurônios. A citólise geralmente resulta da inibição, induzida pelo vírus, da síntese celular de macromoléculas, da degradação do DNA da célula hospedeira, da permeação da membrana, da ruptura do citoesqueleto e da senescência da célula. Além disso, ocorrem alterações na estrutura nuclear e marginação da cromatina e são produzidos **corpos de inclusão intranucleares acidofílicos do tipo Cowdry A**. Muitas cepas de HSV também iniciam a formação de **sincícios**. Em cultura de tecidos, o HSV destrói células rapidamente.

O HSV inicia a infecção através de membranas mucosas ou rupturas na pele. O vírus replica-se nas células na base da lesão e infecta o neurônio que inerva a região, trafegando através do transporte retrógrado para o gânglio (os gânglios trigeminais para o HSV oral e os sacrais para o HSV genital) (Fig. 53-5). As células T CD8 e o interferon gama são importantes para manter o HSV em latência. Com a reativação, vírus então retoma ao sítio inicial de infecção, podendo produzir infecção inaparente ou **lesões vesiculares**. O líquido das vesículas contém vírions infecciosos. A lesão tecidual é causada por uma combinação de patologia viral e imunopatologia. A lesão geralmente se regenera sem formar cicatriz.

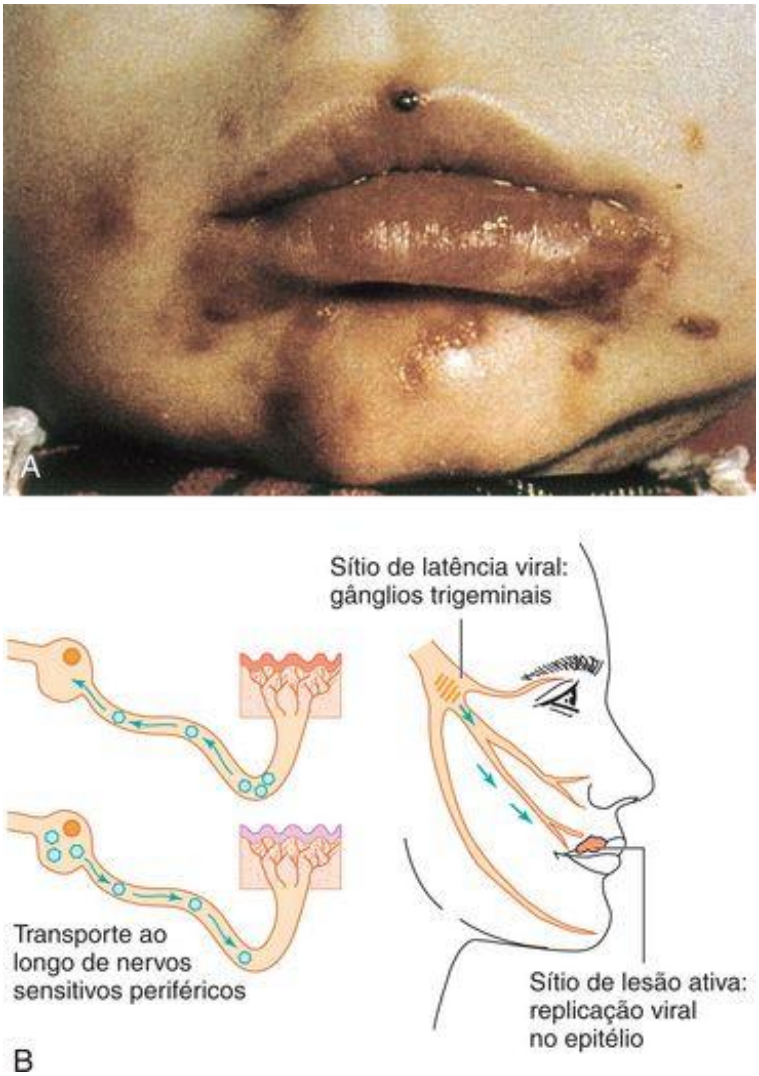


Figura 53-5 **A**, Gengivoestomatite herpética primária. **B**, O vírus herpes simples estabelece infecção latente e pode recorrer a partir dos gânglios trigeminais.

*(**A** De from Hart CA, Broadhead RL: A Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases, London, Wolfe, 1992; **B** Modificado de Straus SE: Herpes simplex virus and its relatives. In Schaechter M, Eisenstein BI, Medoff G (eds): Mechanisms of Microbial Disease, 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1993.)*

Proteções inatas, incluindo interferon e células *natural Kilier*, podem ser suficientes para limitar a progressão inicial da infecção. *Respostas de células T CD8 citotóxicas associadas a células T auxiliares* 1 *(TH1) são requeridas para destruir as células infectadas e promover a regressão da doença instalada*. Os efeitos imunopatológicos das respostas celular e inflamatória são uma das causas principais dos sintomas. Anticorpos dirigidos contra as glicoproteínas do vírus neutralizam o vírus extracelular, limitando sua disseminação, mas não são suficientes para a regressão da infecção. Na ausência de imunidade celular funcional, a infecção por HSV é provável recorrer, ser mais grave, podendo se disseminar para os órgãos vitais e o cérebro.

O HSV possui diversos mecanismos para escapar às respostas protetoras do hospedeiro. O vírus bloqueia a inibição da síntese proteica viral induzida por interferon e codifica uma proteína para bloquear o canal transportador associado a processamento (TAP), impedindo a introdução de peptídeos no retículo endoplasmático (RE), o que bloqueia sua associação a moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe I (MHC I) e impede o reconhecimento das células infectadas por células T CD8. O vírus pode escapar à neutralização e eliminação por anticorpos através da disseminação direta célula a célula e por permanecer escondido durante a infecção latente do neurônio. Além disso, o vírion e as células infectadas pelo vírus expressam receptores de anticorpos (Fc) e complemento, que enfraquecem estas defesas humorais.

A infecção latente ocorre nos neurônios e não resulta em lesões detectáveis. A **recorrência** pode ser ativada por diversos estímulos (p. ex., estresse, trauma, febre, luz solar [ultravioleta B]) (Quadro 53-3). Estes eventos desencadeiam a replicação viral em uma célula nervosa individual dentro do feixe e permitem que o vírus descenda pelo nervo, formando lesões sempre no mesmo dermátomo e localização. O estresse desencadeia a reativação por promover a replicação do vírus no nervo, pela depressão transitória da imunidade celular ou por ambos os processos. O vírus pode ser reativado apesar da presença de anticorpos. Entretanto, infecções recorrentes são geralmente menos graves, mais localizadas e de duração mais curta que os episódios primários devido à natureza da disseminação e à existência de respostas imunes de memória.

Quadro 53-3 Desencadeadores de Recorrências por HSV

Radiação UV-B (bronzeamento)

Febre

Estresse emocional (p. ex., provas finais, encontro especial)

Estresse físico (irritação)

Menstruação

Alimentos: picantes, ácidos, alergias

Imunossupressão:

Transitória (relacionada ao estresse)

Quimioterapia, radioterapia

Vírus da imunodeficiência humana

Epidemiologia

Como o HSV pode estabelecer latência, com o potencial de recorrência assintomática, a pessoa infectada é uma fonte vitalícia de contágio (Quadro 53-4). Por ser um vírus envelopado, o HSV é transmitido através de secreções e por contato íntimo. O vírus é muito lábil, sendo rapidamente inativado pelo ressecamento, por detergentes e pelas condições do trato gastrointestinal. Embora o HSV possa infectar células animais, esta infecção é uma doença exclusivamente humana.

Quadro 53-4 Epidemiologia do Vírus Herpes Simples (HSV)

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda vida

A doença recorrente é uma fonte de contágio

O vírus pode ser liberado assintomaticamente

Transmissão

O vírus é transmitido na saliva, em secreções vaginais e pelo contato com o fluido de lesão (contato entre mucosas)

O vírus transmitido oral e sexualmente e pelo contato com olhos e rupturas na pele HSV-1 é geralmente transmitido por via oral; HSV-2 é geralmente transmitido por via sexual

Quem Está sob Risco?

Crianças e pessoas sexualmente ativas estão sob risco de apresentações clássicas de HSV-1 e HSV-2, respectivamente

Médicos, enfermeiros, dentistas e outros em contato com secreções orais e genitais estão sob risco de infecções nos dedos (paroníquia herpética)

Pessoas imunocomprometidas e neonatos estão sob risco de doença disseminada, com risco de vida

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo Não há incidência sazonal

Meios de Controle

Fármacos antivirais disponíveis

Não há vacina disponível

Profissionais da saúde devem usar luvas para prevenir a paroníquia herpética

Pessoas com lesões genitais ativas devem evitar o contato sexual até que as lesões estejam completamente reepitelizadas

O HSV é transmitido através do líquido das vesículas, da saliva e de secreções vaginais (o **"contato entre membranas mucosas"**). O sítio de infecção e, portanto, a doença é determinado principalmente pelas membranas mucosas que entraram em contato. Ambos os tipos de HSV podem causar lesões orais e genitais.

HSV-l é geralmente disseminado por contato oral (beijos) ou através do compartilhamento de copos, escovas de dente ou outros objetos contaminados com saliva. A infecção por HSV-l dos dedos ou corpo pode resultar do contato da lesão com a pele, permitindo que o vírus penetre através de uma ruptura na pele. A autoinoculação pode também causar a infecção dos olhos.

A infecção por HSV-l é comum. Mais de 90% das pessoas que vivem em áreas subdesenvolvidas apresentam o anticorpo contra HSV-l aos 2 anos de idade. Este dado pode resultar de condições domésticas superpovoadas ou higiene pobre.

O HSV-2 é disseminado principalmente por contato sexual, autoinoculação ou da mãe infectada para o bebê durante o parto. Dependendo das práticas sexuais e higiene de uma pessoa, o HSV-2 pode infectar a genitália, tecidos anorretais ou orofaringe. A incidência de infecção genital por HSV-l está se aproximando à do HSV-2. O HSV pode causar infecção genital primária sintomática ou assintomática, ou recorrências. A infecção neonatal geralmente resulta da excreção de HSV-2 pela cérvice durante o parto vaginal (Caso Clínico 53-1), mas pode ocorrer a partir de uma infecção intrauterina ascendente durante a infecção primária da mãe. A infecção neonatal resulta em doença disseminada e neurológica, com consequências graves.

Caso Clínico 53-1 Vírus do Herpes Simples em Neonato

Parvey e Ch'ien (Pediatrics 65:1150 -1153, 1980) relataram um caso de HSV em neonatal contraído durante o nascimento. Durante o parto, um monitor fetal foi colocado nas nádegas do bebê. Porém, devido ao trabalho de parto extremamente prolongado, o bebê foi liberado por parto cesariano. O menino, com 2,5kg, teve dificuldades brandas que foram tratadas com sucesso, mas no sexto dia, as vesículas com uma base eritematosa apareceram no local onde o monitor fetal tinha sido colocado. HSV foi isolado do líquido da vesícula e também do líquido espinhal, córnea, saliva e sangue. O bebê tornou-se moribundo, com frequentes episódios de apneia e convulsões. Tratamento intravenoso com adenosina arabinosídeo (ara-A; vidarabina) foi iniciado. O bebê desenvolveu também bradicardia e vômitos ocasionais. As vesículas propagaram-se nas extremidades inferiores e também no dorso, palma, narinas e pálpebra direita. Após 72 horas de tratamento com ara-A, a condição do bebê começou melhorar. O tratamento foi continuado por 11 dias, mas foi interrompido devido à contagem baixa de plaquetas. O bebê foi liberado no 45° dia após seu nascimento, e o desenvolvimento normal foi relatado em 1 e 2 anos de idade. Em 6 semanas após o nascimento, uma lesão de herpes foi encontrada na vulva da mãe. Este era um caso afortunado da infecção neonatal por HSV, em que o bebê foi tratado com sucesso com o ara-A e pôde superar os danos causados pela infecção. O vírus, mais provável HSV-2, foi adquirido certamente através de uma abrasão causada pelo monitor fetal quando o neonato estava no canal de parto. Ara-A tem sido substituído, desde então, por fármacos antivirais melhores, menos tóxicos e de fácil

administração, como o aciclovir, valaciclovir e famciclovir.

A infecção inicial por HSV-2 ocorre mais tarde na vida do que a infecção por HSV-l e se correlaciona ao grau de atividade sexual. As estatísticas atuais indicam que 22% dos adultos nos Estados Unidos estão infectados pelo HSV-2, o que representa aproximadamente 45 milhões de pessoas, com mais de 1 milhão de novos casos por ano.

Síndromes Clínicas

HSV-I e HSV-2 são patógenos humanos comuns que causam manifestações dolorosas, porém benignas, e doença recorrente. Na manifestação clássica, a lesão é uma vesícula clara sobre uma base eritematosa (“orvalho em uma pétala de rosa”), progredindo então para lesões pustulares, úlceras e lesões crostosas (Fig. 53-4). Entretanto, *ambos os vírus podem causar morbidade e mortalidade significativas em infecções oculares ou cerebrais e na infecção disseminada de indivíduos imunossuprimidos ou neonatos*.

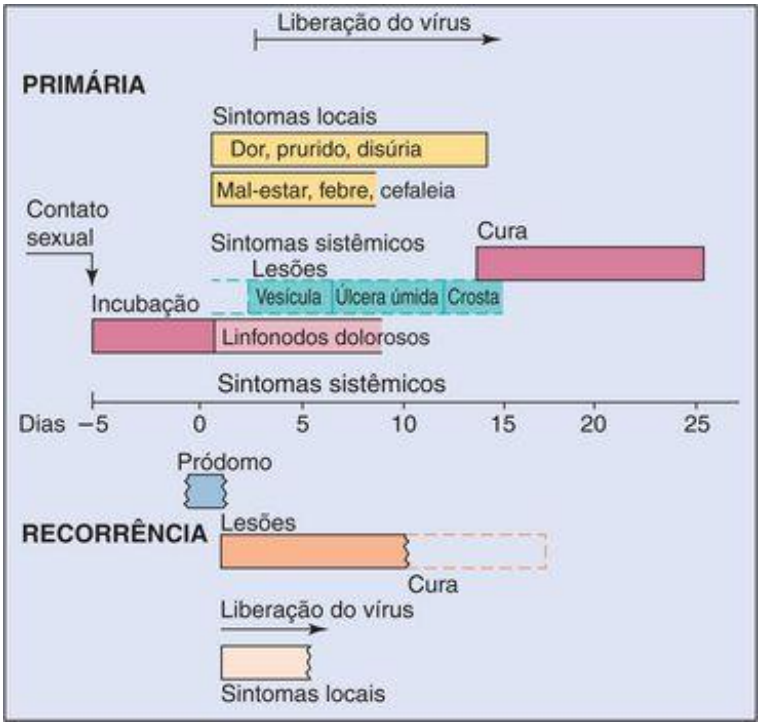


Figura 53-4 Evolução clínica da infecção por herpes genital. O curso temporal e sintomas da infecção genital primária e recorrente por vírus herpes simples do tipo 2 (HSV-2) são comparados. *Em cima*, infecção primária; *embaixo*, doença recorrente.

(Dados de Corey L, et al: Ann Intern Med 98:958-973, 1983.)

Herpes oral pode ser causado por HSV-I ou HSV-2. Herpes labial primário ou gengivoestomatite em bebês e crianças é quase sempre causada por HSV-I, enquanto adultos jovens podem ser infectados por HSV-I ou HSV-2. As lesões iniciam-se como vesículas claras que formam úlceras rapidamente. Essas áreas esbranquiçadas podem se distribuir amplamente em torno ou por toda parte da boca, envolvendo o palato, faringe, gengivas, mucosa bucal e língua (Fig. 53-5). Muitas outras condições (p. ex., Coxsackievírus, aftas, acne) podem se assemelhar às lesões por HSV.

Pessoas podem apresentar a infecção mucocutânea recorrente por HSV (**herpes labial**) (Fig. 53-6), mesmo sem a ocorrência de uma infecção primária clinicamente aparente. As lesões geralmente ocorrem nos cantos da boca ou próximo aos lábios. Infecções recorrentes por herpes facial são geralmente ativadas a partir dos gânglios trigeminais. Conforme citado anteriormente, os sintomas de um episódio recorrente são menos graves, mais localizados e de menor duração que aqueles de um episódio primário. **Faringite herpética** está se tornando um diagnóstico prevalente em adultos jovens com dor de garganta. Estomatite grave por HSV, assemelhando-se a uma gengivoestomatite primária, pode ocorrer em pacientes imunossuprimidos.

Figura 53-6 Herpes labial recorrente. A recorrência é menos grave que a doença primária.

(De Hart CA, Broadherad RL: A Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases. Londom, Wolfe, 1992.)

A **ceratite herpética** quase sempre se limita a um olho. Pode causar doença recorrente, levando à cicatrização permanente, lesão de córnea e cegueira.

Paroníquia herpética é uma infecção do dedo, e **herpes gladiatorum** uma infecção do corpo. O vírus estabelece a infecção através de cortes ou abrasões na pele. A paroníquia herpética frequentemente ocorre em enfermeiras ou médicos que atendem pacientes com infecções por HSV, em crianças que chupam o dedo (Fig. 53-7) e em pessoas com infecções genitais por HSV. Herpes gladiatorum é frequentemente adquirido durante a prática de lutas ou rúgbi.

Figura 53-7 Paroníquia herpética.

(De Emond RTD, Rowland HAK: A Color Atlas of Infectious Diseaes, 3rd ed. London, Mosby, 1995.)

Eczema herpético é adquirido por crianças com eczema ativo. A doença subjacente promove a disseminação da infecção ao longo da pele e, potencialmente, para as glândulas adrenais, fígado e outros órgãos.

Herpes genital é geralmente causado por HSV-2, mas pode também ser causado por HSV-1 (responsável por pelo menos 10% das infecções genitais). Em pacientes masculinos, as lesões se desenvolvem tipicamente na glande ou no freio do pênis, e, ocasionalmente, na uretra. Em pacientes femininos, as lesões podem ser vistas na vulva, na vagina, no colo uterino, na área perianal ou na parte interna das coxas, sendo frequentemente acompanhadas por prurido e corrimento vaginal mucoide. As lesões são geralmente dolorosas. Em pacientes de ambos os sexos, a infecção primária pode ser acompanhada por febre, mal-estar e mialgia, que são sintomas relacionados a uma viremia transitória. A proctite por HSV é uma doença dolorosa na qual as lesões são encontradas no reto inferior e ânus. Os sintomas e a evolução temporal do herpes genital primário e recorrente são comparados na Figura 53-4.

A doença genital recorrente por HSV é mais curta e menos grave que o episódio primário. Em aproximadamente 50% dos pacientes, as recorrências são precedidas por um pródromo característico de queimação ou formigamento na área onde as lesões finalmente surgirão. Episódios de recorrência podem ocorrer frequentemente a cada 2 ou 3 semanas, ou podem ser ocasionais. Infelizmente, pessoas infectadas podem liberar o vírus assintomaticamente. Tais indivíduos podem ser importantes vetores para a disseminação deste vírus.

A **encefalite herpética** é frequentemente causada por HSV-1. As lesões são geralmente limitadas a um dos lobos temporais. A patologia e imunopatologia virais causam a destruição do lobo temporal, resultando em eritrócitos no líquido cefalorraquidiano, convulsões, anormalidades neurológicas focais e outras características da encefalite viral. O HSV é a causa mais comum de encefalite esporádica e resulta em morbidade e mortalidade significativas, mesmo em pacientes que recebem o tratamento apropriado. A doença ocorre em todas as idades e épocas do ano. **A meningite por HSV** ocorre com mais frequência como uma complicação da infecção genital por HSV-2; os sintomas são autolimitados.

A **infecção por HSV no neonato** é uma doença devastadora e frequentemente fatal, causada na maioria das vezes por HSV-2. Pode ser adquirida na vida intrauterina, mas é contraída com mais frequência durante a passagem do bebê pelo canal vaginal (possivelmente no sítio de monitoração no couro cabeludo do bebê), devido à liberação do herpesvírus pela mãe no momento do parto, ou no pós-natal, a partir de membros da família ou profissionais do hospital. O bebê inicialmente parece séptico, podendo haver lesões vesiculares. Como a resposta imune celular ainda não está desenvolvida no neonato, o HSV se dissemina para o fígado, pulmões e outros órgãos, assim como para o sistema nervoso central (SNC). A progressão da infecção para o SNC resulta em morte, retardo mental ou déficits neurológicos, mesmo com o tratamento.

Diagnóstico Laboratorial

Análise Direta de Amostra Clínica

Os efeitos citopatológicos característicos (CPE) podem ser identificados em um **esfregaço de Tzanck** (uma raspagem da base da lesão), um exame de Papanicolaou (Pap) ou uma amostra de biópsia (Tab. 53-2). Os CPEs incluem sincícios, citoplasma vacuolado e inclusões intranucleares do tipo Cowdry A (Cap. 50, Fig. 50-2). Um diagnóstico definitivo pode ser feito pela demonstração de antígenos (utilizando imunofluorescência ou o método da imunoperoxidase) ou DNA virais (através da hibridização *in situ* ou reação em cadeia da polimerase [PCR]) na amostra de tecido ou líquido da vesícula. A **análise por PCR** de líquido cefalorraquidiano substituiu a análise por imunofluorescência de biópsia cerebral no diagnóstico de encefalite herpética.

Tabela 53-2 Diagnóstico Laboratorial de Infecções por Vírus Herpes Simples (HSV)

Abordagem	Teste/Comentário
Exame microscópico direto de células na base da lesão	**Esfregaço de Tzanck** mostra **células gigantes multinucleadas** e **corpos de inclusão tipo Cowdry A**
Cultura de células	O HSV replica-se e causa efeitos citopatológicos identificáveis na maioria das culturas de células
Ensaio de biópsia de tecido, esfregaço, líquido cefalorraquidiano ou líquido vesicular para antígeno ou genoma de HSV	Ensaio imunoenzimático, coloração imunofluorescente, análise por sonda de DNA *in situ* e reação em cadeia da polimerase (PCR)
Distinção do tipo de HSV (HSV-1 vs. HSV-2)	Anticorpo tipo-específico, mapas de DNA de fragmentos de enzimas de restrição, padrões de proteínas em gel com dodecil sulfato de sódio, análise por sonda de DNA e PCR
Sorologia	A sorologia não é útil, exceto na epidemiologia

Isolamento do Vírus

O isolamento do vírus é o ensaio mais definitivo para o diagnóstico de infecção por HSV. O vírus pode ser obtido a partir de vesículas, mas não de lesões crostosas. As amostras são coletadas por aspiração do líquido da lesão ou pela aplicação de um cotonete nas vesículas e inoculação direta em culturas de células.

O HSV produz CPEs após 1 a 3 dias em células HeLa, fibroblastos embrionários humanos e células de rim de coelho. As células infectadas tornam-se aumentadas e de aparência globosa (Cap. 51, Fig. 51-4). Alguns isolados induzem a fusão entre células vizinhas, gerando células gigantes multinucleadas (sincícios). Uma nova e sensível abordagem para o isolamento e identificação utiliza uma linhagem celular que expressa β-galactosidase em células infectadas por HSV (sistema induzível por vírus ligado à enzima [ELVIS – *enzyme-linked viral inducible system*]). A adição do substrato apropriado produz cores e permite a detecção da enzima nas células infectadas.

Sondas de DNA específicas para cada tipo de HSV, *primers* específicos de DNA para PCR e anticorpos são utilizados para diferenciar HSV-1 e HSV-2. A distinção entre HSV-1 ou HSV-2 e linhagens diferentes de cada vírus pode ser feita por padrões de clivagem por endonucleases de restrição do DNA viral.

Sorologia

Procedimentos sorológicos são úteis apenas para o diagnóstico de uma infecção primária por HSV e para estudos epidemiológicos. Não são úteis para o diagnóstico de doença recorrente, porque um aumento significativo nos títulos de anticorpos geralmente não acompanha esta doença.

Tratamento, Prevenção e Controle

O HSV codifica diversas enzimas-alvo para fármacos antivirais (Quadro 53-5) (Cap. 49). A maioria dos fármacos anti-herpéticas consiste em análogos de nucleosídeos e outros inibidores da DNA polimerase viral, uma enzima essencial para a replicação do vírus e o melhor alvo para os fármacos antivirais. O tratamento previne ou diminui o curso da doença primária ou recorrente. Nenhum dos tratamentos medicamentosos pode eliminar a infecção latente.

Quadro 53-5 Tratamentos Antivirais Aprovados pela FDA para Infecções por Herpesvírus

FDA, U.S. Food and Drog Administration

Herpes Simples 1 e 2

Aciclovir

Penciclovir

Valaciclovir

Famciclovir

Adenisina arabinosídeo (ara-A)

Trifluridina

Vírus Varicela-Zóster

Aciclovir

Famciclovir

Valaciclovir

Imunoglobulina contra varicela-zóster (VZIG)

Plasma imune contra Zóster

Vacina viva

Vírus Epstein-Barr

Nenhum

Citomegalovírus

Ganciclovir*

Valganciclovir*

Iododeoxiuridina

Foscarnet*

Trifluridina

Cidofovir*

* Também inibe os vírus herpes simples e varicela-zóster.

O protótipo dos fármacos anti-HSV aprovados pela *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) é o **aciclovir** (**ACV**). **Valaciclovir** (o valil-éster de ACV), **penciclovir e famciclovir** (um derivado de penciclovir) estão relacionados ao ACV em seus mecanismos de ação, mas apresentam propriedades farmacológicas diferentes. Vidarabina (adenosina arabinose [ara A]), idoxuridina (iododesoxiuridina) e trifiuridina, também aprovadas pela FDA para o tratamento de HSV, são menos efetivas. Embora **cidofovir** e **adefovir** sejam ativos contra HSV, cidofovir é aprovado somente para o tratamento de CMV.

ACV é o fármaco anti-HSV mais prescrito. A fosforilação do ACV e penciclovir pela **timidina quinase** viral e enzimas celulares ativa o fármaco como um substrato para a **DNA polimerase** viral. Esses fármacos são então incorporados e **impedem a elongação do DNA viral** (Cap. 49, Fig. 49-2). ACV, valaciclovir, penciclovir e famciclovir (1) são relativamente atóxicos; (2) são efetivos no tratamento de apresentações graves de doença por HSV e episódios iniciais de herpes genital; e (3) são também utilizados para o tratamento profilático.

A forma mais prevalente de resistência contra estes fármacos resulta de mutações que inativam a timidina quinase, desta forma impedindo a conversão do fármaco para sua forma ativa. Mutação na DNA polimerase viral também produz resistência. Felizmente, as linhagens resistentes parecem ser menos virulentas.

Ara-A é menos solúvel, menos potente e mais tóxica que ACV. Trifluridina, penciclovir e ACV substituíram a iododesoxiuridina como agentes tópicos para o tratamento da ceratite herpética. Tromantadina, um derivado da amantadina, está aprovada para o uso tópico fora dos Estados Unidos. Este fármaco atua inibindo a penetração e a formação de sincício. Diversos tratamentos não medicamentosos podem ser efetivos para indivíduos específicos.

O HSV-1 é transmitido mais frequentemente a partir de uma lesão mucocutânea ativa; portanto, evitar o contato direto com estas lesões reduz o risco de infecção. Infelizmente, os sintomas podem ser inaparentes, e, assim, o vírus pode ser transmitido sem o seu portador ter conhecimento da infecção. Médicos, enfermeiras, dentistas e técnicos devem ser especialmente cuidadosos quando manusearem tecidos ou fluidos potencialmente infectados. O uso de luvas pode prevenir a aquisição de infecções nos dedos (paroníquia herpética). Pessoas com paroníquia herpética recorrente são muito contagiosas, podendo disseminar a infecção para pacientes. A lavagem com sabão inativa rapidamente o vírus.

Pacientes que apresentam uma história de infecção genital por HSV devem ser instruídos a evitar relações sexuais enquanto apresentarem sintomas prodrômicos ou lesões, só retomando as atividades sexuais depois que as lesões estiverem completamente reepitelizadas, porque o vírus pode ser transmitido a partir de lesões crostosas. Embora o uso

de preservativos não proteja completamente, seu uso é certamente mais vantajoso que a ausência de proteção.

Uma mulher grávida com infecção genital ativa por HSV ou que esteja liberando o vírus assintomaticamente na vagina no momento do parto pode transmitir o HSV para o neonato se o parto for vaginal. Previne-se esta transmissão pelo parto cesáreo.

Não há vacinas disponíveis atualmente contra o HSV. Entretanto, estão sendo desenvolvidas vacinas de vírus atenuados, de subunidades virais, híbridas e de DNA para prevenir a aquisição do vírus ou para tratar pessoas infectadas. A glicoproteína D está sendo utilizada em diversas vacinas de subunidades.

Vírus Varicela-Zóster

O VZV causa **catapora (varicela)** e, na recorrência, causa **herpes-zoster ou cobreiro**. Por ser um alfaherpesvírus, o VZV compartilha muitas características com o HSV, incluindo: (1) a capacidade de estabelecer uma infecção latente de neurônios e doença recorrente; (2) a importância da imunidade celular no controle e prevenção da doença grave; e (3) as lesões bolhosas características. Como o HSV, o VZV codifica uma **timidina quinase** e é suscetível a **fármacos antivirais**. Diferente do HSV, o VZV se dissemina predominantemente pela **via respiratória**. A viremia ocorre após a replicação local do vírus no trato respiratório, levando à formação de lesões cutâneas em todo o corpo.

Estrutura e Replicação

O VZV possui o menor genoma dos herpesvírus humanos. Este vírus se replica de maneira semelhante, porém mais lentamente e em menos tipos celulares que o HSV. Fibroblastos diploides humanos *in vitro* e células T ativadas, células epiteliais e epidérmicas *in vivo* permitem a replicação produtiva do VZV. Como o HSV, o VZV estabelece uma infecção latente de neurônios, mas diferente do HSV, diversos RNAs e proteínas virais específicas podem ser detectados nas células.

Patogênese e Imunidade

O VZV é geralmente adquirido por inalação, e a infecção primária se inicia nas amígdalas e mucosa do trato respiratório. O vírus então progride, através da corrente sanguínea e sistema linfático, para as células do sistema reticuloendotelial (Quadro 53-6; Figs. 53-8 e 53-9). Uma viremia secundária ocorre após 11 a 13 dias, disseminando o vírus por todo o corpo e para a pele. O vírus infecta células T, e estas células migram para a pele e transferem o vírus para as células epiteliais cutâneas. O VZV supera a ação do interferon alfa e vesículas são produzidas na pele. O vírus permanece associado a células e é transmitido na interação célula a célula, exceto em células epiteliais terminalmente diferenciadas nos pulmões e queratinócitos de lesões cutâneas, que podem liberar vírus infecciosos. A replicação do vírus no pulmão é a principal fonte de contágio. O vírus causa um exantema cutâneo vesiculopapular que se desenvolve em estágios sucessivos. Febre e sintomas sistêmicos ocorrem com o exantema.

Quadro 53-6 Mecanismos Patológicos do Vírus Varicela-Zóster (VZV)

A replicação inicial ocorre no trato respiratório.

O VZV infecta células epiteliais, fibroblastos, células T e neurônios.

O VZV pode formar sincícios e se disseminar diretamente de célula a célula.

O vírus dissemina-se por viremia para a pele e causa lesões em estágios sucessivos.

O VZV pode escapar à eliminação por anticorpos e a resposta imune mediada por células é essencial para controlar a infecção. Doença disseminada com risco de vida pode ocorrer em pessoas imunocomprometidas.

O vírus estabelece infecção latente em neurônios, geralmente da raiz dorsal e de gânglios de nervos cranianos.

Herpes zóster é uma doença recorrente; resulta da replicação viral ao longo de todo o dermátomo.

Herpes zóster pode resultar de depressão imunidade celular e outros mecanismos de ativação viral.

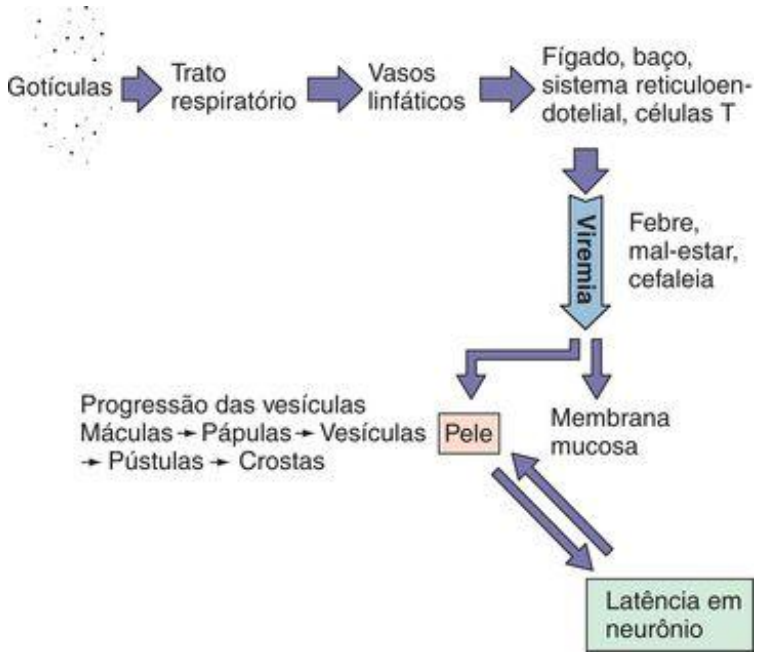


Figura 53-8 Mecanismo de disseminação do vírus varicela-zóster (VZV) no organismo. VZV infecta inicialmente o trato respiratório e se dissemina para o sistema reticuloendotelial, células T e, por viremia associada a células, para a pele.

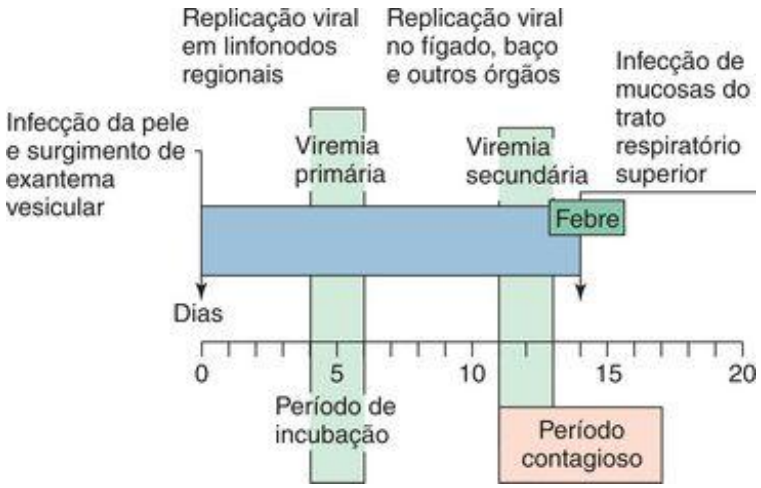


Figura 53-9 Curso temporal da varicela (catapora). O curso em crianças pequenas, como apresentado nesta figura, é geralmente mais curto e menos grave que em adultos.

O vírus torna-se latente na raiz dorsal ou gânglios de nervos cranianos após a infecção primária. Pode ser reativado em adultos mais velhos ou pacientes com imunidade celular prejudicada. Na reativação, o vírus se replica e é liberado ao longo de toda a via neural, infectando a pele e causando um exantema vesicular no trajeto de todo o dermátomo, o que é chamado de **herpes-zóster** ou **cobreiro**.

O interferon alfa e as proteções induzidas pelo interferon limitam a disseminação do vírus nos tecidos, mas a presença de **anticorpos** é importante para limitar a disseminação virêmica do VZV. A imunização passiva com imunoglobulina contra varicela-zóster (VZIG) a menos de 4 dias de infecção é protetora. A imunidade celular é essencial para provocar a regressão da doença. O vírus causa doença mais disseminada e mais grave na ausência de imunidade celular (p. ex., em crianças com leucemia), podendo haver recorrência em casos de imunossupressão. Embora sejam importantes na proteção, as respostas imunológicas mediadas por células (imunidade celular) contribuem para a sintomatologia. Uma resposta exacerbada em adultos com infecção primária é responsável por causar lesões celulares mais extensas e manifestações mais graves (especialmente no pulmão) que aquelas vistas em crianças. O enfraquecimento da resposta imune na idade mais avançada é o principal fator

que permite a recorrência do VZV e o surgimento de herpes-zóster.

Epidemiologia

O VZV é extremamente contagioso, com taxas de infecção superiores a 90% entre contatos suscetíveis no ambiente doméstico (Quadro 53-7). A doença é disseminada principalmente pela via respiratória, mas pode também ser transmitida pelo contato direto com vesículas cutâneas. Os pacientes permanecem contagiosos antes e durante o surgimento dos sintomas. Mais de 90% dos adultos em países desenvolvidos apresentam o anticorpo contra VZV. Herpes-zóster resulta da reativação do vírus latente de um paciente. A doença desenvolve-se em aproximadamente 10% a 20% da população infectada com VZV, e a incidência aumenta com a idade. As lesões do herpes-zóster contêm o vírus viável, podendo constituir uma fonte de infecção de varicela em pessoas não imunes (crianças).

Quadro 53-7 Epidemiologia do Vírus Varicela-Zóster

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida. A doença recorrente é uma fonte de contágio.

Transmissão

O vírus é transmitido principalmente por gotículas respiratórias, mas também por contato direto.

Quem está sob risco?

Crianças (idades 5 a 9 anos) apresentam a doença branda clássica

Adolescentes e adultos estão sob risco de doença mais grave, com possível pneumonia. Pessoas imunocomprometidas e neonatos estão sob risco de pneumonia, encefalite e varicela progressiva disseminada.

Idosos e imunocomprometidos estão sob risco de doença recorrente (herpes zóster [cobreiro]).

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo. Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Fármacos antivirais disponíveis.

A imunidade pode desvanecer na população idosa. Imunoglobulina contra varicela-zóster disponível para pessoas imunocomprometidas e profissionais expostos ao vírus, como para neonatos de mães que apresentaram sintomas a menos de 5 dias do parto.

Vacina viva (cepa Oka) está disponível para crianças.

Varicela (catapora) é um dos cinco **exantemas clássicos da infância** (juntamente com rubéola, exantema súbito, eritema infeccioso e sarampo). A doença resulta de uma infecção primária por VZV; é geralmente uma doença branda da infância, sendo normalmente sintomática, embora possam ocorrer infecções assintomáticas (Fig. 53-9). As características da varicela incluem febre e um exantema maculopapular que surge após um período de incubação de 14 dias (Fig. 53-10). Após horas, cada lesão maculopapular forma uma vesícula de parede fina com uma base eritematosa (“gota de orvalho em uma pétala de rosa”) que mede aproximadamente 2 a 4mm de diâmetro. Este tipo de vesícula é a marca característica da varicela. Após 12 horas, a vesícula se torna pustular e começa a formar uma crosta, aparecendo, então, a lesão crostosa. Novas lesões surgem durante 3 a 5 dias, e todos os estágios de lesões cutâneas podem ser observados a qualquer momento.

Figura 53-10 Exantema característico da varicela em todos os estágios de evolução.

(De Hart CA, Broadherad RL: A Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases. London, Wolf, 1982.)

O exantema dissemina-se por todo o corpo, mas é mais grave no tronco que nas extremidades. Sua presença no couro cabeludo o distingue de muitos outros exantemas. As lesões são pruriginosas, provocando coceiras, o que pode levar à superinfecção bacteriana e formação de cicatriz. As lesões em membranas mucosas ocorrem tipicamente na boca, conjuntiva e vagina.

A infecção primária é geralmente mais grave em adultos que em crianças. Uma **pneumonia intersticial** pode ocorrer em 20% a 30% dos pacientes adultos, podendo ser fatal. A pneumonia resulta de reações inflamatórias no sítio primário de infecção.

Como citado anteriormente, **herpes-zóster** *(zóster* significa “cinto” ou “cintura”) é a recorrência de uma infecção latente por varicela adquirida em algum momento anterior na vida do paciente. Dor forte na área de inervação geralmente precede o aparecimento das lesões

semelhantes à catapora. O exantema geralmente se limita a um dermátomo e se assemelha à varicela (Fig. 53-11). Uma síndrome de dor crônica chamada de **neuralgia pós-herpética**, que pode persistir por meses ou anos, ocorre em até 30% dos pacientes com mais de 65 anos que desenvolvem herpes zóster.

Figura 53-11 Herpes zóster (“cobreiro”) em um dermátomo torácico.

A infecção por VZV em pacientes imunocomprometidos ou neonatos pode resultar em doença grave, progressiva e potencialmente fatal. Defeitos na imunidade celular nesses pacientes aumentam o risco de disseminação do vírus para os pulmões, cérebro e fígado, o que pode ser fatal. A doença pode ocorrer em resposta a uma exposição primária à varicela ou devido à doença recorrente.

Diagnóstico Laboratorial

Citologia

Os CPEs nas células infectadas por VZV são semelhantes àqueles vistos nas células infectadas por HSV, e incluem inclusões intranucleares do tipo Cowdry A e sincícios. Estas células podem ser vistas em lesões cutâneas, amostras respiratórias ou biópsias de órgãos. Sincícios também são vistos nos esfregaços de Tzanck de raspagem da base da vesícula. Um teste direto com anticorpos fluorescentes contra antígenos de membrana pode também ser usado para examinar raspagens de lesões cutâneas ou amostras de biópsias. A detecção de antígenos e PCR são meios sensíveis de diagnosticar a infecção por VZV.

Isolamento do Vírus

O isolamento do VZV não é feito rotineiramente porque o vírus é lábil durante o transporte para o laboratório e sua replicação *in vitro* é fraca. Culturas de material extraído de lesões cutâneas crostosas (5 ou mais dias após o início) geralmente são negativas para o vírus. Fibroblastos diploides humanos podem dar suporte à replicação do VZV, exibindo um CPE semelhante àquele visto em células infectadas por HSV, mas após um período de incubação mais longo.

Sorologia

Testes sorológicos que detectam anticorpos contra VZV são usados para a triagem de pessoas quanto à imunidade contra VZV. Entretanto, os níveis de anticorpos normalmente são baixos; exames sensíveis como imunofluorescência e ensaio imunoadsorvente ligados à enzima (ELISA) devem ser realizados para detectar o anticorpo. Um aumento significativo no nível de anticorpos pode ser detectado em pessoas que apresentam herpes-zóster.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento pode ser indicado em adultos e pacientes imunocomprometidos com infecções por VZV e em pessoas com herpes-zóster, mas geralmente não é necessário em crianças com varicela. **ACV, famciclovir e valaciclovir** foram aprovados para o tratamento de infecções por VZV. A DNA polimerase do VZV é muito menos sensível ao tratamento com ACV que a enzima do HSV, sendo necessárias altas doses de ACV ou a melhor farmacodinâmica de famciclovir e valaciclovir (Quadro 53-5). Não existe um bom tratamento para a neuralgia pós-herpética que se segue ao zóster, mas analgésicos, anestésicos tópicos ou creme de capsaicina podem garantir algum alívio.

Como ocorre com outros vírus respiratórios, é difícil limitar a transmissão de VZV. Como a infecção por VZV em crianças é geralmente branda e induz imunidade por toda a vida, a exposição precoce ao VZV é frequentemente encorajada. Entretanto, indivíduos de alto risco (p. ex., crianças imunossuprimidas) devem ser protegidos da exposição ao VZV.

Pacientes imunossuprimidos suscetíveis a doenças graves podem ser protegidos das formas graves pela administração de **imunoglobulina contra varicela-zóster (VZIG)**. A VZIG é preparada a partir do plasma coletado de pessoas soropositivas. A profilaxia por VZIG pode prevenir a disseminação virêmica que leva à doença, mas não é uma terapia efetiva para pacientes que já sofrem de varicela ativa ou herpes-zóster.

Uma **vacina viva atenuada** contra VZV (cepa Oka) teve seu uso autorizado nos Estados Unidos e em outros lugares, sendo administrada após os 2 anos de idade, nas mesmas datas que a vacina contra sarampo, caxumba e rubéola. A vacina induz à produção de anticorpos protetores e imunidade celular. É efetiva como um tratamento profilático mesmo após a exposição do indivíduo ao VZV. É importante notar que a vacina promove proteção em crianças imunodeficientes. Uma versão mais potente desta vacina está disponível para adultos mais velhos que induz respostas antivirais para limitar o início de zóster.

Vírus Epstein-Barr

O EBV tem se estabelecido como o principal parasita de linfócitos B, e as doenças que causa refletem esta associação. O EBV foi descoberto pela observação, por microscopia eletrônica, de vírions característicos de herpes em amostras de biópsia de uma neoplasia de células B, o linfoma de Burkitt ou “linfoma africano” (*African Burkitt lymphoma* - AfBL). Sua associação com a mononucleose infecciosa foi descoberta acidentalmente quando o soro coletado de um técnico de laboratório convalescente de mononucleose infecciosa continha o anticorpo que reconhecia as células do AfBL. Este achado foi posteriormente confirmado em um grande estudo sorológico realizado em estudantes de colégios.

O EBV causa *mononucleose infecciosa positiva para anticorpos heterófilos*, apresentando uma associação causal com **AfLB (linfoma de Burkitt endêmico), doença de Hodgkin e carcinoma nasofaríngeo**. O EBV foi também associado com linfomas de células B em pacientes com imunodeficiências congênitas ou adquiridas. *O EBV estimula o crescimento e imortaliza as células B* em culturas de tecidos.

Estrutura e Replicação

O EBV é um membro da subfamília *Gammaherpesvirinae*, com um grupo de hospedeiros muito limitado e um **tropismo tecidual** definido pela expressão celular limitada de seu receptor. O receptor primário para o EBV também é *o receptor para o componente C3d do sistema complemento (também chamado de CR2 ou CD21)*. É expresso em células B de humanos e em macacos do Novo Mundo e em algumas células epiteliais da orofaringe e nasofaringe.

A infecção por EBV apresenta três desfechos potenciais

1. O EBV pode se replicar em células B ou células epiteliais permissíveis para sua replicação.

2. O EBV pode causar a infecção latente de células B na presença de células T competentes.

3. O EBV pode estimular e imortalizar as células B.

O EBV codifica mais de 70 proteínas, das quais diferentes grupos são expressos nos diferentes tipos de infecções.

Nas células epiteliais e células B permissivas ocorre a transcrição e tradução da proteína ativadora de transcrição ZEBRA (peptídeo codificado pela região gênica Z), que ativa os genes precoces imediatos do vírus e o ciclo lítico. Após a síntese da DNA polimerase e a replicação do DNA, as proteínas estruturais e tardias são sintetizadas. Elas incluem gp350/220 (glicoproteínas relacionadas de 350.000 e 220.000Da), que são proteínas virais de adesão, e outras glicoproteínas. Estas glicoproteínas se ligam às moléculas CD21 e MHC II, receptores em células B e células epiteliais, e também promovem a fusão do envelope com as membranas celulares.

As proteínas virais produzidas durante uma infecção produtiva são definidas e agrupadas sorologicamente como **antígeno precoce (EA), antígeno do capsídeo viral (VCA)** e as glicoproteínas do **antígeno de membrana (MA)** (Tab. 53-3).

Tabela 53-3 Marcadores de Infecção por Vírus Epstein-Barr (EBV)

Tabela 53-3. Marcadores de Infecção por Vírus Epstein-Barr (EBV)

Nome	Abreviatura	Características	Associação Biológica	Associação Clínica
Antígenos nucleares de EBV	EBNAs	Nucleares	EBNAs são antígenos não estruturais e são os primeiros antígenos a aparecer. EBNAs são vistos em todas as células infectadas e transformadas, se ligam ao DNA celular	Anti-EBNA desenvolve-se tardiamente na infecção
Antígeno precoce	EA-R	Somente citoplasmático	EA-R aparece antes de EA-D; seu aparecimento é o primeiro sinal de que a célula infectada entrou no ciclo lítico	Anti-EA-R é visto no linfoma de Burkitt
	EA-D	Difuso no citoplasma e núcleo	—	Anti-EA-D é visto na mononucleose infecciosa
Antígeno do capsídeo viral	VCA	Citoplasmático	VCA é um antígeno tardio; encontrado em células produtoras de vírus	IgM anti-VCA é transitória; IgG anti-VCA é persistente
Antígeno de membrana	MA	Superfície celular	MAs são as glicoproteínas do envelope	Igual a VCA
Anticorpo heterófilo		Reconhecimento do antígeno de Paul-Bunnell em eritrócitos de carneiro, cavalo ou bovinos	A proliferação de células B induzida por EBV promove a produção do anticorpo heterófilo	Os sintomas precoces ocorrem em mais de 50% dos pacientes

EA, antígeno precoce; EBNA, antígeno nuclear de Epstein-Barr; MA, antígeno de membrana; VCA, antígeno do capsídeo viral.

Durante a infecção não permissiva das células B, as células contêm um pequeno número de genomas circulares de EBV semelhantes a plamídeos que replicam somente durante a divisão celular. Genes virais selecionados são expressos conforme o estado da célula B; eles incluem os **antígenos nucleares de Epstein-Barr (EBNAs)** 1, 2, 3A, 3B e 3C, proteínas latentes **(LPs), proteínas latentes de membrana (LMPs) 1 e 2** e duas pequenas moléculas de RNA codificadas por Epstein-Barr (EBER), EBER-1 e EBER-2. Os EBNAs e LPs são proteínas de ligação de DNA essenciais para o estabelecimento e manutenção da infecção (EBNA-1), imortalização (EBNA-2) e outros propósitos. As LMPs são proteínas de membrana com atividade semelhante a oncogenes. Estas proteínas estimulam o crescimento e imortalizam as células B. O EBV estabelece latência em células B de memória nas quais somente EBNA-l e LMP-2 são expressas, mantendo o genoma nas células, mas com um potencial mínimo de reconhecimento imune da célula infectada.

O EBV se adaptou à célula B humana, manipulando e utilizando as diferentes fases do desenvolvimento das células B para estabelecer uma infecção do indivíduo por toda a vida e ainda promover sua transmissão. As doenças por EBV resultam de uma resposta imune hiperativa (mononucleose infecciosa) ou da falta de um controle imune efetivo (linfoma e tricoleucoplasia).

A infecção produtiva de células B e células epiteliais da orofaringe, como das amígdalas (Quadro 53-8 e Fig. 53-12), promove a liberação do vírus na saliva para transmitir a outros hospedeiros, estabelecendo uma viremia para disseminar o vírus para outras células B em tecidos linfáticos e sangue.

Quadro 53-8 Mecanismos Patológicos do Vírus Epstein-Barr

O vírus na saliva inicia a infecção do epitélio oral e se dissemina para células B em tecidos linfáticos.

Ocorre infecção produtiva de células B e células epiteliais.

O vírus promove o crescimento de células B (imortalização).

Células T destroem e limitam o supercrescimento de células B. As células T são requeridas para o controle da infecção. O papel de anticorpos é limitado.

EBV estabelece latência em células B de memória e é reativado quando a célula B é ativada.

A resposta de células T (linfocitose) contribui para os sintomas de **mononucleose infecciosa**.

Existe uma associação causal com linfoma em pessoas imunossuprimidas e crianças africanas que vivem em regiões de malária (linfoma de Burkitt africano) e com carcinoma nasofaríngeo na China.

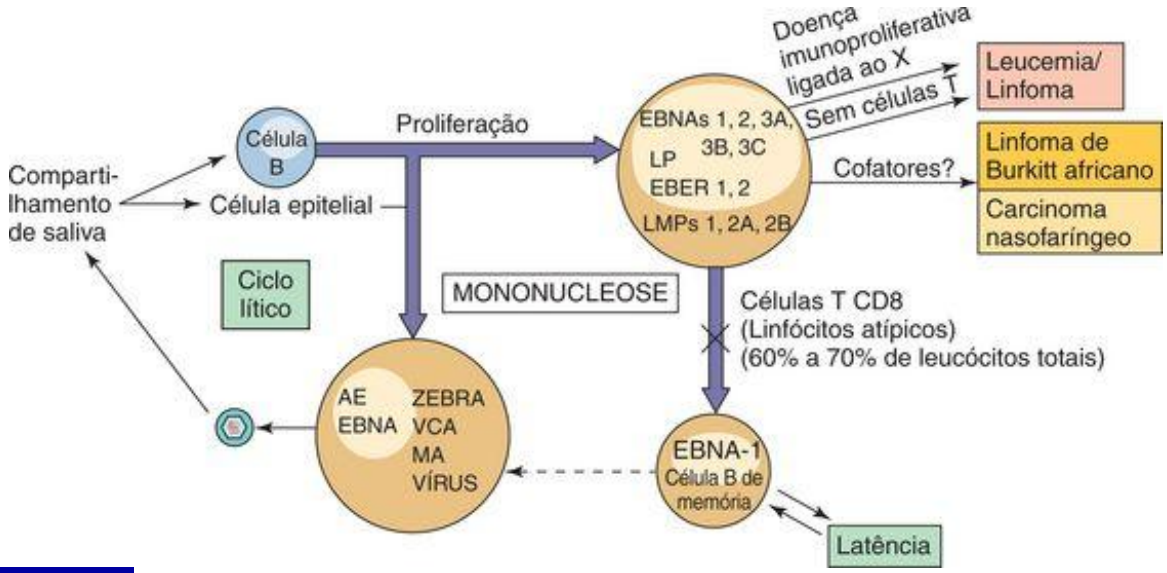


Figura 53-12 Progressão da infecção por vírus Epstein-Barr (EBV). A infecção pode ser lítica, latente ou imortalizante, o que pode ser distinguido com base na produção do vírus e expressão de diferentes proteínas e antígenos virais. As células T limitam o supercrescimento das células infectadas por EBV e mantêm a infecção latente. EA, antígeno precoce; EBER, RNA codificado por Epstein-Barr; EBNA, antígeno nuclear codificado por Epstein-Barr; LMP,

proteína latente de membrana; LP, proteína latente; MA, antígeno de membrana; VCA, antígeno do capsídeo viral; ZEBRA, peptídeo codificado pela região gênica Z.

As proteínas do EBV ativam o crescimento de células B e também previnem a apoptose (morte celular programada) destas células. As células T geralmente controlam a proliferação de células B. Na ausência de células T (p. ex., em cultura de tecido), o EBV pode imortalizar células B e promover o desenvolvimento de linhagens celulares linfoblastoides B. *In vivo*, a ativação e proliferação de células B ocorrem e são indicadas pela produção anômala de um anticorpo IgM contra o antígeno de Paul-Bunnell, chamado de **anticorpo heterófilo** (ver mais adiante discussão sobre a sorologia). A proliferação contínua de células B juntamente com os efeitos de outros cofatores pode resultar no desenvolvimento de linfoma.

Durante a infecção produtiva, os anticorpos desenvolvidos inicialmente são contra os componentes do vírion, VCA e MA, e posteriormente contra EA. Após a resolução da infecção (lise das células infectadas produtivamente), são produzidos anticorpos contra os antígenos nucleares (EBNAs). As células T são essenciais para limitar a proliferação das células B infectadas por EBV e para controlar a doença (Fig. 53-13). O EBV elimina parte da ação protetora das respostas mediadas pelas células T CD4 TH1 durante a infecção produtiva por promover a produção de um análogo da interleucina-10 (BCRF-l) que inibe estas respostas e também estimula o crescimento de células B.

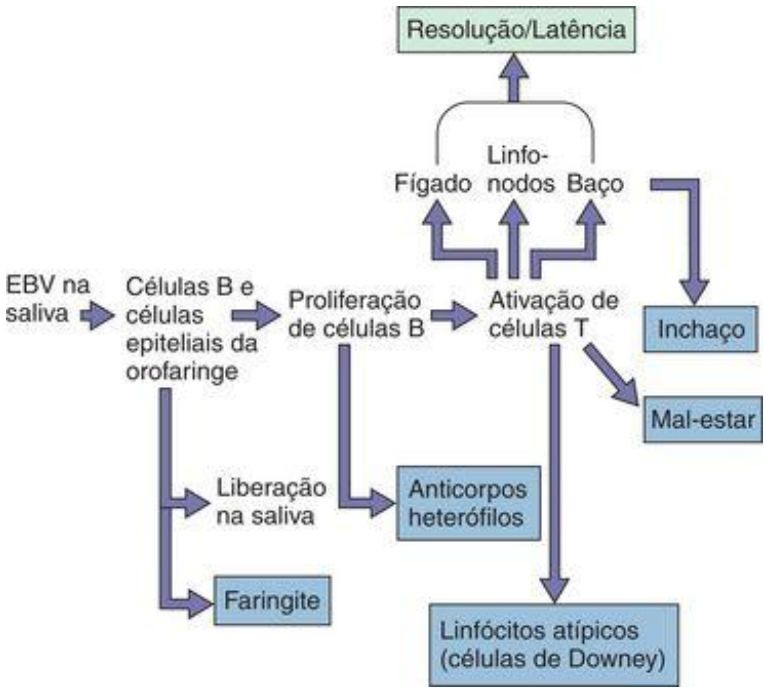


Figura 53-13 Patogênese do vírus Epstein-Barr (EBV). O EBV é adquirido por contato próximo entre pessoas através da saliva e infecta as células B. A resolução da infecção por EBV, e muitos dos sintomas de mononucleose infecciosa resultam da ativação de células T em resposta à infecção.

A mononucleose infecciosa *resulta de uma "guerra civil" entre as células B infectadas por EBV e as células T produtivas.* As células T são circundadas por células B infectadas e são ativadas por peptídeos antigênicos virais apresentados nas moléculas MHC I e II. A clássica **linfocitose** (aumento de células mononucleares), inchaço de órgãos linfoides (linfonodos, baço e fígado) e mal-estar são apresentações associadas à mononucleose infecciosa, que resultam principalmente da ativação e proliferação de células T. As células T são vistas como **linfócitos atípicos** (também chamados de **células de Downey**) (Fig. 53-14). Elas aumentam em número no sangue periférico durante a segunda semana de infecção, sendo responsáveis por 10% a 80% da contagem total de leucócitos neste momento (por isso o nome "mononucleose"). Crianças apresentam uma resposta imune menos ativa contra a infecção por EBV, portanto evoluem com doença muito branda.

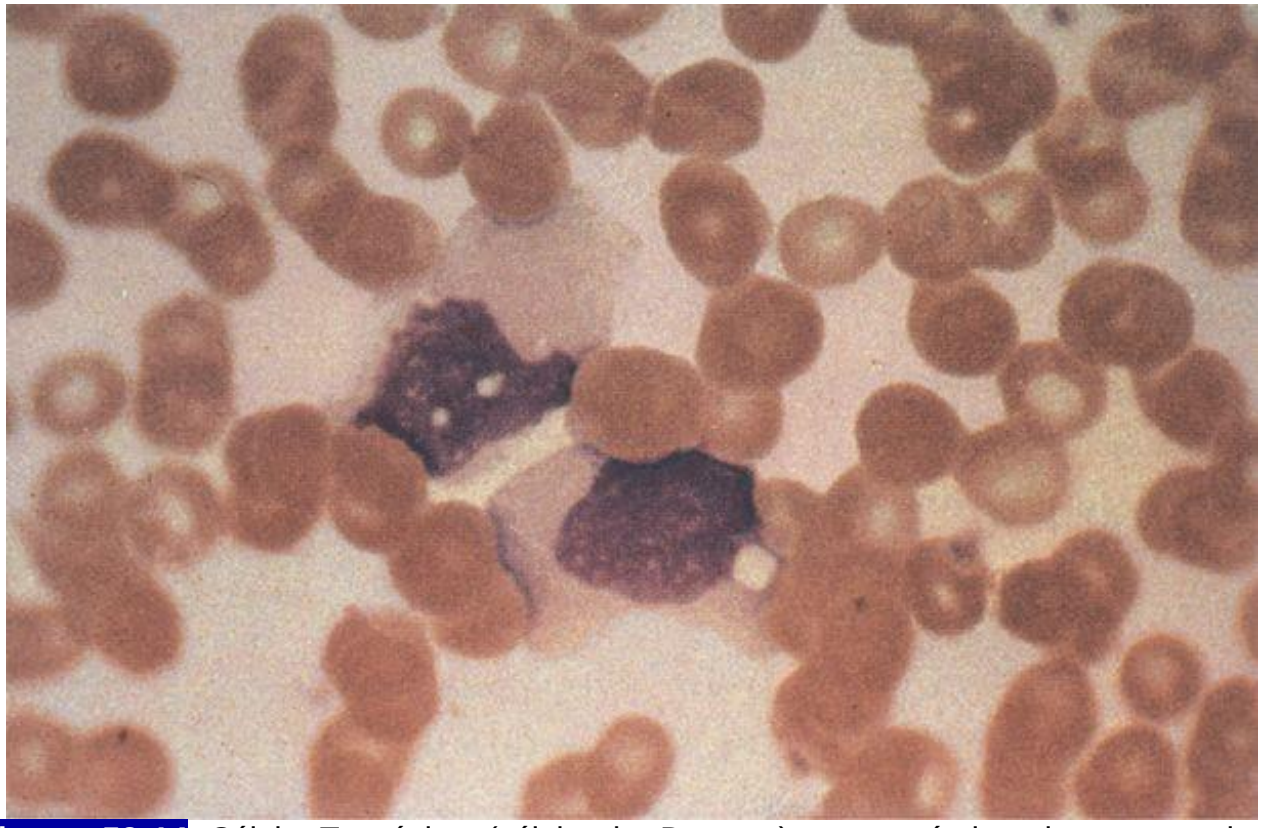


Figura 53-14 Célula T atípica (célula de Downey) característica da mononucleose infecciosa. As células apresentam um citoplasma mais basofílico e vacuolizado que os linfócitos normais, e o núcleo pode ser oval, em forma de rim ou lobulado. A margem celular pode ser vista endentada pelos eritrócitos vizinhos.

O vírus persiste em pelo menos uma célula B de memória por mililitro de sangue por toda a vida da pessoa. O EBV pode ser reativado quando a célula B de memória é ativada (especialmente nas amígdalas ou orofaringe), podendo ser liberado na saliva.

Epidemiologia

O EBV é transmitido pela saliva (Quadro 53-9). Mais de 90% das pessoas infectadas por EBV liberam intermitentemente o vírus por toda a vida, mesmo quando totalmente assintomáticas. Crianças podem adquirir o vírus em qualquer idade ao compartilhar copos contaminados. *Crianças geralmente apresentam doença subclínica*. A troca de saliva entre adolescentes e adultos jovens ocorre frequentemente durante o beijo; por isso, a mononucleose por EBV ganhou o apelido de “doença do beijo”. A doença nestas pessoas pode passar despercebida ou se manifestar em diferentes graus de gravidade. Pelo menos 70% da população nos Estados Unidos já foi infectada aos 30 anos de idade.

Quadro 53-9 Epidemiologia do Vírus Epstein-Barr

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida. A doença recorrente é causa de contágio. O vírus pode ser liberado assintomaticamente.

Transmissão

A transmissão ocorre através da saliva, por contato oral próximo (¨doença do beijo¨) ou pelo compartilhamento de itens como escovas de dentes e copos.

Quem Está sob Risco?

Crianças apresentam doença assintomática ou sintomas leves.

Adolescentes e adultos estão sob risco de mononucleose infeciosa.

Pessoas imunocomprometidas estão em risco alto de doença neoplásica com risco de vida.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

A mononucleose infecciosa apresenta distribuição mundial. Existe uma associação causal com o linfoma de Burkitt africano em regiões de malária da África.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Não existem meios de controle.

A distribuição geográfica de algumas neoplasias associadas ao EBV indica uma possível associação com cofatores. O potencial imunossupressor da malária foi sugerido como um cofator na progressão da infecção crônica ou latente por EBV para o AfBL. A restrição do carcinoma nasofaríngeo em pessoas que vivem em certas regiões da China indica uma possível predisposição genética ao câncer ou à presença de cofatores nos alimentos ou ambiente. Mecanismos mais sutis podem facilitar o papel do EBV em 30% a 50% dos casos de doença de Hodgkin.

Pessoas que receberam transplante, pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e as geneticamente imunodeficientes estão sob alto risco de apresentar transtornos linfoproliferativos iniciados por EBV. Estes transtornos podem se apresentar como linfomas de células B policlonais ou monoclonais. Essas pessoas também estão sob alto risco de uma infecção produtiva por EBV na forma de **tricoleucoplasia oral**.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 53-2)

Mononucleose Infecciosa Positiva para Anticorpos Heterófilos

A tríade de sintomas clássicos para a mononucleose infecciosa consiste em **linfadenopatia** (inchaço de linfonodos), **esplenomegalia** (aumento do baço) e **faringite exudativa** acompanhada de febre alta, mal-estar e, frequentemente, hepatoesplenomegalia (aumento do fígado e baço). Pode ocorrer um exantema, especialmente após o tratamento com ampicilina (para a dor de garganta). A principal queixa de pessoas com mononucleose infecciosa é a fadiga (Fig. 53-15). A doença raramente é fatal em pessoas saudáveis, mas pode causar complicações sérias resultantes de transtornos neurológicos, obstrução laríngea ou ruptura do baço. Complicações neurológicas incluem meningoencefalite e a síndrome de Guillain-Barré. Síndromes semelhantes à mononucleose também podem ser causadas por CMV, HHV-6, *Toxoplasma gondii* e vírus da imunodeficiência humana (HIV). Como ocorre nas infecções causadas por outros herpesvírus, a infecção por EBV em crianças é muito mais branda que em adolescentes ou adultos. De fato, a infecção em crianças é geralmente subclínica.

Caso Clínico 53-2 Vírus de Epstein-Barr em Indivíduo Imunocomprometido

Purtilo et al. (Ann Intern Med 101:180-186, 1984) relataram em um menino com doença de Duncan, que apresentava níveis reduzidos de IgA, uma história de afta e episódios recorrentes de otite média. Este menino apresentava uma imunodeficiência variável combinada progressiva recessiva ligada ao X causada por uma mutação no gene da proteína SH2D1A, que impede uma comunicação apropriada entre células B e T. Depois da exposição ao EBV na idade de 11 anos, o menino não desenvolveu anticorpos contra EBV, mas os níveis genéricos de IgM no soro aumentaram, e linhagens de células B imortalizadas EBNA-positivas cresceram prontamente de seu sangue periférico. A identificação destas linhagens de células B é indicativa de controle aberrante, por células T, da proliferação de células B induzida pelo vírus. Na idade de 18 anos, foi tratado com um concentrado de hemácias para a aplasia de eritrócitos, e, então, 9 semanas depois, desenvolveu o mononucleose infecciosa (MI) com febre, linfadenomegalia generalizada, fígado doloroso e baço aumentado, linfocitose com predominância de linfócitos atípicos, e um teste monospot positivo. Dentro de 6 meses, estava agamaglobulinêmico, com células B não detectáveis e sofreu de pneumonias por *Haemophilus influenzae* e *Mycobacterium tuberculosis*. Cinco meses depois, as células B foram detectadas outra vez. O início de MI na idade de 18 anos pode ter o resultado de infecção nova ou de uma reativação de infecção anterior. Este caso ilustra a natureza incomum de infecções por EBV e de outras infecções virais, quando a resposta imune está comprometida.

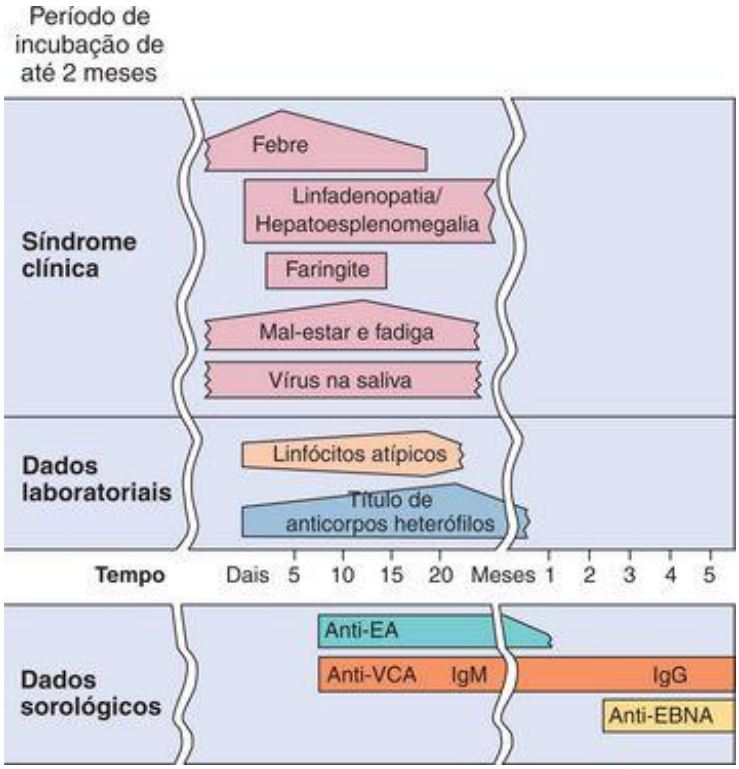


Figura 53-15 Evolução clínica da mononucleose infecciosa e achados laboratoriais de pessoas com a infecção. A infecção por vírus Epstein-Barr (EBV) pode ser assintomática ou produzir os sintomas de mononucleose. O período de incubação pode durar até dois meses. EA, antígeno precoce; EBNA, antígeno nuclear codificado por Epstein-Barr; VCA, antígeno do capsídeo viral.

Doença Crônica

O EBV pode causar doença cíclica recorrente em algumas pessoas. Estes pacientes apresentam fadiga crônica e podem ter febre baixa, cefaleias e dor de garganta. Este transtorno é diferente da síndrome de fadiga crônica, cuja etiologia não é conhecida.

Doenças Linfoproliferativas Induzidas por Vírus Epstein-Barr

Na infecção por EBV, indivíduos com deficiência de imunidade mediada por células T estão sujeitos a apresentar, com risco de vida, doença proliferativa de células B semelhante à leucemia policlonal e linfoma, em vez de mononucleose infecciosa. Homens com deficiências congênitas na função das células T podem sofrer de doenças linfoproliferativas ligadas ao X, com risco de vida. Um defeito genético ligado ao X em um gene de células T (SLAM [molécula sinalizadora de ativação de linfócitos] – proteína associada) impede que células T controlem o crescimento de células B durante uma resposta imune normal contra antígenos ou EBV. Receptores de transplante sob tratamento imunossupressor apresentam alto rico de **doença linfoproliferativa pós-transplante**, em vez de mononucleose infecciosa, após a exposição ao vírus ou à reativação de um vírus latente. Doenças semelhantes são vistas em pacientes com AIDS.

O linfoma de Burkitt africano (linfoma endêmico) consiste em um linfoma de células B monoclonais pouco diferenciadas, ocorrendo na mandíbula e face e sendo endêmico em crianças que vivem em regiões afetadas pela malária na África. Os tumores contêm sequências de DNA de EBV, mas expressam somente o antígeno viral EBNA-l. Vírions ocasionalmente podem ser vistos à microscopia eletrônica de material infectado. Além do DNA

de EBV, as células tumorais contêm translocações cromossômicas que justapõem o oncogene *C-myc* a um promotor muito ativo, tal como um promotor de gene de imunoglobulina [t(8;14), t(8;22), t(8;2)]. As células tumorais também são relativamente invisíveis para o controle imune. Não se sabe como a malária atua na promoção do envolvimento do EBV com o AfBL. O EBV está associado a linfomas de Burkitt em pessoas que vivem em outras regiões do mundo, mas em graus muito menores. Muitos **linfomas de Hodgkin** também podem ser atribuídos ao EBV.

Como citado anteriormente, o **carcinoma nasofaríngeo** é endêmico na Ásia, ocorre em adultos e contém DNA de EBV nas células tumorais. Diferente do linfoma de Burkitt, no qual as células tumorais derivam de linfócitos, as células tumorais do carcinoma nasofaríngeo são de origem epitelial.

Tricoleucoplasia Oral

A tricoleucoplasia oral é uma manifestação incomum de uma infecção produtiva por EBV de células epiteliais, caracterizada por lesões na língua e boca. É uma manifestação oportunista que ocorre em pacientes com AIDS.

Diagnóstico Laboratorial

A mononucleose infecciosa induzida por EBV é diagnosticada com base nos **sintomas** (Quadro 53-10), no achado de linfócitos atípicos e na presença de **linfocitose** (células mononucleares constituindo 60% a 70% da contagem de leucócitos, com 30% de linfócitos atípicos), **anticorpos heterófilos** e anticorpos contra antígenos virais. O isolamento do vírus não é prático. PCR e análise por sonda de DNA para pesquisar o genoma viral e identificação por imunofluorescência de antígenos virais são utilizadas para detectar evidências de infecção.

Quadro 53-10 Diagnóstico do Vírus Epstein-Barr

1. Sintomas
    a. Cefaleia leve, fadiga, febre
    b. Tríade: linfoadenopatia, esplenomegalia, faringite exudativa
    c. Outros: hepatite, exantema induzido por ampicilina

2. Hemograma completo
    a. Hiperplasia
    b. Linfócitos atípicos (células de Downey) (células T)

3. Anticorpos heterófilos (transitórios)

4. Anticorpo específico para antígeno do EBV

Linfócitos atípicos são provavelmente a indicação detectável mais precoce de uma infecção por EBV. Estas células surgem com o início dos sintomas e desaparecem com a resolução da doença.

Anticorpos heterófilos resultam da ativação inespecífica, semelhante a mitógenos, de células B pelo EBV e da produção de um amplo repertório de anticorpos. Estes anticorpos incluem o anticorpo IgM heterófilo que reconhece o antígeno de Paul-Bunnell em eritrócitos de carneiro, cavalo e bovinos, mas não em células de rim de porcos da Índia. A resposta por anticorpos heterófilos pode geralmente ser detectada ao final da primeira semana de doença e permanece por muitos meses. É uma excelente indicação de infecção por EBV em adultos, mas não é confiável em crianças. Os testes com células de cavalo (Monoteste) e ELISA são rápidos e amplamente utilizados para a detecção de anticorpos heterófilos.

Testes sorológicos para anticorpos contra antígenos virais são métodos mais caros que os anticorpos heterófilos para confirmar o diagnóstico de mononucleose por EBV (Tab. 53-4; Fig. 53-15). A infecção por EBV é indicada por qualquer dos seguintes achados: (1) anticorpos IgM contra o VCA; (2) presença do anticorpo para VCA e ausência do anticorpo contra EBNA; ou (3) elevação de anticorpos contra VCA e antígeno precoce. O achado de anticorpos contra VCA e EBNA no soro indica que o indivíduo teve uma infecção prévia. A geração de anticorpos contra EBNA requer a lise da célula infectada, e geralmente indica o controle da doença ativa por células T.

Tabela 53-4 Perfil sorológico das infecções por vírus Epstein-Barr (EBV)

Tabela 53-4. Perfil sorológico das infecções por vírus Epstein-Barr (EBV)

		Anticorpos Heterófilos		Anticorpos Específicos para EBV		
	Estado Clínico do Paciente	VCA-IgM	VCA-IgG	EA	EBNA	Comentário
Suscetível	–	–	–	–	–	–
Infecção primária aguda	+	+	+	±	–	–
Infecção primária crônica	–	–	+	+	–	–
Infecção passada	–	–	+	–	+	–
Reativação de infecção	–	–	+	+	+	EA restrito ou difuso
Linfoma de Burkitt	–	–	+	+	+	EA somente restrito
Carcinoma nasofaríngeo	–	–	+	+	+	EA somente difuso

Modificado de Balows A. et al. (eds): Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York, Springer-Verlag, 1988.
EA, antígeno precoce; EBNA, antígeno nuclear de Epstein-Barr; Ig, imunoglobulina; VCA, antígeno do capsídeo viral.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há tratamento efetivo ou vacina disponível contra as doenças por EBV (Quadro 53-5). A natureza ubíqua do vírus e o potencial de liberação assintomática tornam difícil o controle da infecção. Entretanto, a infecção promove a imunidade por toda a vida. A melhor maneira de se prevenir a mononucleose infecciosa é a exposição ao vírus na infância, porque a doença é mais benigna em crianças.

Citomegalovírus

CMV é um patógeno humano comum, infectando 0,5% a 2,5% de todos os neonatos e aproximadamente 40% das mulheres atendidas em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis. É a causa viral mais comum de **anomalias congênitas**. Embora geralmente cause doença branda ou assintomática em crianças e adultos, o CMV é particularmente importante como um **patógeno oportunista em pacientes imunocomprometidos**.

Estrutura e Replicação

O CMV é um membro da subfamília *Betaherpesvirinae*, sendo considerado linfotrópico. Apresenta o maior genoma entre os herpesvírus humanos. Em contraste com a definição tradicional de vírus, que afirma que uma partícula viral contém DNA ou RNA, pesquisas agora indicam que o CMV transporta mRNAs específicos na partícula de vírion, inserindo-os na célula, para facilitar a infecção. O CMV humano só se replica em células humanas. Fibroblastos, células epiteliais, macrófagos e outras células permitem a replicação do CMV. O vírus estabelece uma infecção latente em linfócitos mononucleares, células do estroma da medula óssea e outras células.

Patogênese e Imunidade

A patogênese do CMV é semelhante à de outros herpesvírus em muitos aspectos (Quadro 53-11). O CMV é um excelente parasita e estabelece rapidamente infecções persistentes e latentes, em vez de uma extensa infecção lítica. O CMV é altamente associado a células, sendo disseminado pelo corpo dentro de células infectadas, especialmente linfócitos e leucócitos. O vírus é reativado por imunossupressão (p. ex., corticosteroides, infecção por HIV) e possivelmente por estimulação alogênica (*i.e.*, a resposta do hospedeiro contra células transfundidas ou transplantadas).

Quadro 53-11 Mecanismos Patológicos do Citomegalovírus (CMV)

O CMV é adquirido do sangue, dos tecidos e da maioria das secreções corporais.

O CMV causa infecção produtiva de células epiteliais e de outras células.

O CMV estabelece latência em células T, macrófagos e outras células.

A imunidade celular é necessária para a resolução da doença e contribui para os sintomas; o papel dos anticorpos é limitado.

A supressão da imunidade celular permite a recorrência e apresentações graves.

O CMV geralmente causa infecção subclínica.

A imunidade celular é essencial para o controle do crescimento e a regressão da infecção por CMV. Entretanto, o CMV apresenta diversos mecanismos de evasão da resposta imune. A infecção por CMV altera a função de linfócitos e leucócitos. O vírus impede a apresentação de antígenos para as células T CD8 citotóxicas e T CD4 por impedir a expressão de moléculas do MHC I na superfície celular e por interferir na expressão, induzida por citocinas, de moléculas do MHC II em células apresentadoras de antígenos (incluindo as células infectadas). Uma proteína viral também bloqueia o ataque, pelas células NK, de células infectadas por CMV. Como o EBV, o CMV também codifica um análogo da interleucina-10 que inibe respostas imunes protetoras do tipo TH1.

Epidemiologia e Síndromes Clínicas

Na maioria dos casos, o CMV se replica e é liberado sem causar sintomas (Tab. 53-5). A ativação e replicação do CMV no rim e glândulas secretórias promovem sua liberação na urina e nas secreções corporais. O CMV pode ser isolado a partir de urina, sangue, material de garganta, saliva, lágrimas, leite materno, sêmen, fezes, líquido amniótico, secreções vaginais e cervicais e tecidos obtidos para transplante (Tab. 53-6 e Quadro 53-12). O vírus pode ser transmitido para outros indivíduos através de transfusões sanguíneas e transplantes de órgãos. As vias congênita, oral e sexual, a transfusão sanguínea e o transplante de tecidos são os principais meios de transmissão de CMV. A doença por CMV é um distúrbio oportunista, raramente causando sintomas no hospedeiro imunocompetente, mas provocando doença grave em pessoas imunossuprimidas ou imunodeficientes, como pacientes com AIDS ou neonatos (Figura 53-16).

Tabela 53-5 Fontes de Infecção por Citomegalovírus

Grupo Etário	Fonte
Neonato	Transmissão transplacentária, infecções intrauterinas, secreções cervicais
Bebê ou criança	Secreções corporais: leite, saliva, lágrimas, urina
Adulto	Transmissão sexual (sêmen), transfusão sanguínea, enxerto de órgão

Tabela 53-6 Síndromes por Citomegalovírus

Tecido	Crianças/Adultos	Pacientes Imunossuprimidos
Apresentação predominante	Assintomática	Doença disseminada, doença grave
Olhos	–	Coriorretinite
Pulmões	–	Pneumonia, pneumonite
Trato gastrointestinal	–	Esofagite, colite
Sistema nervoso	Polineurite, mielite	Meningite e encefalite, mielite
Sistema linfático	Síndrome de mononucleose, síndrome pós-	Leucopenia, linfocitose

Sistema linfático	transfusão	Leucopenia, linfocitose
Órgãos principais	Cardite*, hepatite*	Hepatite
Neonatos	Surdez, calcificação intracerebral, microcefalia, retardo mental	–

* *Complicação de mononucleose ou síndrome pós-transfusão*.

Quadro 53-12 Epidemiologia da Infecção por Citomegalovírus

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida A doença recorrente é causa de contágio O vírus pode ser liberado assintomaticamente

Transmissão

A transmissão ocorre através do sangue, transplante de órgãos e todas as secreções corporais (urina, saliva, sêmen, secreções serviçais, leite e lágrimas)

O vírus é transmitido oral e sexualmente, em transfusões sanguíneas, em transplante de tecidos, no útero, no nascimento e na amamentação

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo

Não há incidência sazonal

Quem Está sob Risco?

Bebês

Bebês de mães que apresentaram soroconversão durante a gravidez estão sob alto risco de defeitos congênitos

Pessoas sexualmente ativas Receptores de sangue e órgãos Vítimas de queimaduras

Pessoas imunocomprometidos: doença sintomática e recorrente

Meios de Controle

Fármacos antivirais disponíveis para pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida.

Triagem de doadores potenciais de sangue e órgãos para citomegalovírus reduz a transmissão do vírus.

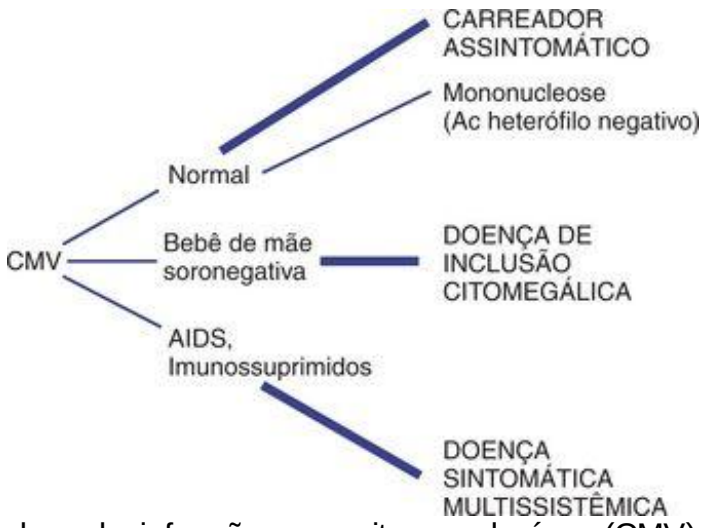


Figura 53-16 Desfechos de infecções por citomegalovírus (CMV). O resultado de uma infecção por CMV depende principalmente do estado imune do paciente.

Infecção Congênita

CMV é a causa viral mais prevalente de doenças congênitas. Uma porcentagem significativa (0,5% a 2,5%) de todos os neonatos nos Estados Unidos é infectada por CMV antes do nascimento, e uma grande porcentagem de bebês é infectada nos primeiros meses de vida. Aproximadamente 10% dos neonatos afetados (4.000 por ano) apresentam evidências clínicas de doença. Os sinais da doença incluem baixo peso, trombocitopenia, microcefalia, calcificação intracerebral, icterícia, hepatoesplenomegalia e exantema **(doença de inclusão citomegálica)**. Perda auditiva unilateral ou bilateral e retardo mental são consequências comuns da infecção congênita por CMV. O risco de anomalias graves ao nascimento é extremamente alto para bebês de mães que sofreram infecções primárias por CMV durante a gravidez.

Os fetos são infectados pelo vírus através do sangue materno (infecção primária) ou pela ascensão do vírus a partir do colo uterino (após uma recorrência). Os sintomas de infecção congênita podem ser atenuados ou abolidos pela resposta imune de uma mãe soropositiva. A infecção congênita por CMV é mais bem documentada pelo isolamento do vírus a partir da urina do bebê na primeira semana de vida.

Infecção Perinatal

Nos Estados Unidos, 20% das mulheres grávidas portam o CMV na cérvice no momento do parto, podendo apresentar reativação do vírus durante a gestação. Aproximadamente metade

dos neonatos nascidos através de um colo uterino infectado adquire infecção por CMV e passa a excretar o vírus após 3 ou 4 semanas de idade. Os neonatos também podem adquirir o CMV a partir do leite materno ou colostro. A infecção perinatal não causa doença clinicamente evidente em bebês saudáveis nascidos a termo.

Outro meio pelo qual um neonato pode adquirir CMV é através de transfusões sanguíneas. Dentre os bebês soronegativos expostos ao sangue de doadores soropositivos, 13,5% adquirem a infecção por CMV no período pós-natal imediato. Infecção clínica significativa pode ocorrer em bebês prematuros que adquirem CMV a partir de sangue transfundido, geralmente resultando em pneumonia e hepatite.

Infecção em Crianças e Adultos

Apenas 10% a 15 % dos adolescentes estão infectados pelo CMV, mas esse número aumenta para 50% a 85% em adultos de 40 anos de idade nos Estados Unidos. CMV é mais prevalente entre pessoas de baixo nível socioeconômico que vivem em ambientes domésticos superpovoados e em pessoas de países em desenvolvimento. O CMV é uma **doença sexualmente transmissível**. O título de CMV no sêmen é o maior entre todas as secreções corporais. Aproximadamente 40% das mulheres atendidas em clínicas de doenças venéreas adquiriram o vírus recentemente.

Embora a maioria das infecções por CMV adquiridas no início da vida adulta seja assintomática, os pacientes podem apresentar uma **síndrome de mononucleose negativa para anticorpos heterófilos**. Os sintomas de doença por CMV são semelhantes àqueles da infecção por EBV, mas com faringite e linfadenopatia mais brandas (Fig. 53-16). Embora a presença de células infectadas por CMV promova um supercrescimento de células T (linfocitose atípica) semelhante àquele visto na infecção por EBV, os anticorpos heterófilos não estão presentes. A ausência destes anticorpos reflete as diferenças nas células-alvo e a ação dos vírus sobre estas células. Deve-se suspeitar de doença por CMV em pacientes com mononucleose negativa para anticorpos heterófilos ou naqueles em que haja sinais de hepatite, mas com testes negativos para hepatites A, B e C.

Transmissão através de Transfusão e Transplante

A transmissão de CMV pelo sangue resulta muito frequentemente, em uma infecção assintomática; quando os sintomas estão presentes, eles se assemelham tipicamente aos da mononucleose. Febre, esplenomegalia e linfocitose atípica geralmente iniciam 3 a 5 semanas após a transfusão. Pneumonia e hepatite branda podem também ocorrer. O CMV também pode ser transmitido pelo transplante de órgãos (p. ex., rim. medula óssea) e a infecção por CMV é frequentemente reativada em receptores de transplante durante períodos de intensa imunossupressão.

Infecção no Hospedeiro Imunocomprometido

O CMV é um importante agente infeccioso oportunista. Em indivíduos imunocomprometidos causa doença sintomática primária ou recorrente (Tab. 53-6).

As doenças pulmonares por CMV **(pneumonia** e **pneumonite)** ocorrem comumente em pacientes imunossuprimidos e podem ser fatais se não tratadas. Além disso CMV frequentemente causa **retinite** em pacientes gravemente imunodeficientes (p. ex., em até 10% a 15% dos pacientes com AIDS). Pneumonia intersticial e encefalite também podem ser causadas por CMV, mas são difíceis de ser distinguidas das infecções causadas por outros agentes oportunistas. **Colite ou esofagite** por CMV podem se desenvolver em até 10% dos

pacientes com AIDS. A esofagite por CMV pode imitar a esofagite por *Candida*. Uma menor porcentagem de pacientes imunocomprometidos pode apresentar infecção por CMV do trato gastrointestinal. Pacientes com colite por CMV geralmente apresentam diarreia, perda de peso, anorexia e febre.

CMV também é responsável pela **falência de muitos transplantes renais**. Isto pode ocorrer devido à replicação do vírus no enxerto após a reativação no rim transplantado ou pela infecção a partir do hospedeiro.

Diagnóstico Laboratorial

Histologia

A marca histológica característica da infecção por CMV é a **célula citomegálica**, que consiste em uma **célula aumentada** (25 a 35 mm em diâmetro) contendo um denso **"olho de coruja" central**, que é um **corpo de inclusão intranuclear basofílico** (Tab. 53-7; Fig. 53-17). Essas células infectadas podem ser encontradas em qualquer tecido do corpo e na urina, sendo provavelmente de origem epitelial. As inclusões são facilmente vistas à coloração de Papanicolaou ou hematoxilina-eosina.

Tabela 53-7 Testes Laboratoriais para o Diagnóstico de Infecção por Citomegalovírus

Teste	Achado
Citologia e histologia*	Corpo de inclusão em “olho de coruja”
	Detecção de antígeno
	Hibridização por sonda de DNA *in situ*
	Reação em cadeia da polimerase (PCR)
Cultura de células	Efeito citológico em fibroblastos diploides humanos
	Detecção por imunofluorescência de antígenos precoces (mais comum)
	PCR
Sorologia	Infecção primária

* *Amostras coletadas para análise incluem urina, saliva, sangue, lavado broncoalveolar e biópsia de tecido*.

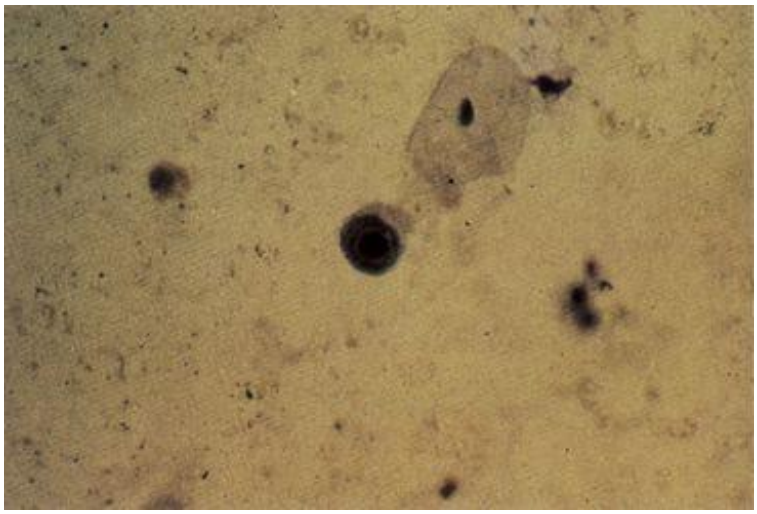


Figura 53-17 Célula infectada por citomegalovírus com corpo de inclusão nuclear basofílico.

Técnicas Imunes e por Sonda de DNA

Um diagnóstico rápido e sensível pode ser obtido pela detecção de antígenos virais, utilizando imunofluorescência ou ELISA, ou do genoma viral, utilizando PCR e técnicas relacionadas em células de biópsia, sangue, lavado broncoalveolar ou amostra de urina. (Cap. 16, Fig. 16-3)

Cultura

CMV cresce em culturas de células de fibroblastos diploides e, normalmente, deve ser mantido por 4 a 6 semanas, porque os CPEs característicos se desenvolvem muito lentamente em amostras com títulos muito baixos do vírus. O isolamento do CMV é especialmente confiável em pacientes imunocomprometidos, que frequentemente apresentam altos títulos do vírus em suas secreções. Por exemplo, no sêmen de pacientes com AIDS, os títulos de vírus viáveis podem ser maiores que 10^6.

Resultados mais rápidos são conseguidos através da centrifugação da amostra de um paciente sobre células crescidas em uma lamínula dentro de um tubo de ensaio (*shell vial*). As amostras são examinadas após 1 a 2 dias de incubação por imunofluorescência indireta, pesquisando-se a presença de um ou mais dos antígenos virais precoces imediatos.

Sorologia

A soroconversão é geralmente um excelente marcador da infecção primária por CMV. Os títulos de anticorpos IgM específicos para CMV podem ser muito altos em pacientes com AIDS. Entretanto, esses anticorpos podem também se desenvolver durante a reativação do CMV, não sendo, portanto, indicadores confiáveis de infecção primária.

Tratamento, Prevenção e Controle

Ganciclovir (diidroxipropoximetil guanina), **valganciclovir** (valil éster de ganciclovir), **cidofovir** e **foscarnet** (ácido fosfonofórmico) foram aprovados pela FDA para o tratamento de doenças específicas resultantes de infecção por CMV em pacientes imunossuprimidos (Quadro 53-5). Ganciclovir é estruturalmente semelhante ao ACV; é fosforilado e ativado por uma proteína quinase codificada pelo CMV, inibe a DNA polimerase viral e causa a terminação da cadeia do DNA (Cap. 49). Ganciclovir é mais tóxico que ACV. Ganciclovir pode ser usado para tratar infecções graves por CMV em pacientes imunocomprometidos. Valganciclovir é um pró-fármaco de ganciclovir que pode ser administrado oralmente, converte-se em ganciclovir no fígado e apresenta melhor biodisponibilidade que ganciclovir. Cidofovir é um análogo do nucleosídeo citidina fosforilado que não requer enzimas virais para a ativação. Foscarnet é uma molécula simples que inibe a DNA polimerase viral por imitar a porção pirofosfato de trifosfatos de nucleotídeos.

O CMV dissemina-se principalmente pela via sexual, pelo transplante de tecidos e por transfusões; a disseminação por estes meios pode ser prevenida. O sêmen é um importante vetor para a disseminação sexual do CMV, em contatos heterossexuais e homossexuais. O uso de preservativos ou a abstinência limitariam a disseminação viral. A transmissão do vírus também pode ser reduzida através da triagem de doadores potenciais de sangue e de órgãos para CMV soronegatividade. A triagem é especialmente importante entre doadores de sangue quando este é transfundido em bebês. Embora a transmissão congênita e a perinatal do CMV não possam ser efetivamente prevenidas, uma mãe soropositiva apresenta poucas chances de gerar um bebê com doença sintomática por CMV. Não há vacina disponível contra CMV.

Herpesvírus Humanos 6 e 7

As duas variantes de HHV-6, HHV-6A e HHV-6B, e HHV-7 são membros do gênero *Roseolovirus* da subfamília *Betaherpesvirinae*. O HHV-6 foi inicialmente isolado do sangue de pacientes com AIDS e cultivado em culturas de células T. Foi identificado como um herpesvírus devido a sua morfologia característica nas células infectadas. Como o CMV, o HHV-6 é linfotrópico e ubíquo. Pelo menos 45% das pessoas são soropositivas para HHV-6 aos 2 anos de idade, e quase 100% na vida adulta. Em 1988, o HHV6 foi sorologicamente associado a uma doença comum em crianças, o **exantema súbito**, conhecido comumente como **roséola**. O HHV-7 foi isolado de maneira semelhante a partir de células T de um paciente com AIDS que também estava infectado por HHV-6, e posteriormente se demonstrou que também causava exantema súbito.

Patogênese e Imunidade

A infecção por HHV-6 ocorre muito cedo na vida. O vírus se replica na glândula salivar, é liberado e transmitido na saliva.

O HHV-6, como o CMV, infecta linfócitos, monócitos, células epiteliais, células endoteliais e neurônios. A replicação do vírus nas glândulas salivares é a fonte do vírus secretado na saliva. O HHV-6 estabelece uma infecção latente em células T e monócitos, mas pode se replicar com a ativação destas células. As células nas quais o vírus está se replicando apresentam-se aumentadas e refratárias, com corpos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos ocasionais.

Como ocorre com o CMV, a replicação do HHV-6 é controlada pela imunidade celular, o vírus é ativado em pacientes com AIDS ou outros transtornos linfoproliferativos e imunossupressores e causa doença oportunista.

Síndromes Clínicas (Quadro 53-13)

Exantema súbito, ou roséola, é causado por HHV-6B ou HHV-7, sendo um dos cinco exantemas clássicos da infância previamente mencionados (Fig. 53-18). É caracterizado pelo início rápido de febre alta com duração de poucos dias, seguida por um exantema generalizado que dura apenas 24 a 48 horas. A presença de células T infectadas ou a ativação de células T de hipersensibilidade tardia na pele podem ser a causa do exantema. A doença é controlada e curada efetivamente pela imunidade celular, mas o vírus estabelece uma infecção latente das células T por toda a vida. Embora geralmente benigno, o HHV-6 é a causa mais comum de ataques febris na infância (6 a 24 meses de idade).

Quadro 53-13 Síndromes Clínicas

Herpes oral primário: Um menino de 5 anos de idade apresenta um exantema ulcerativo com vesículas em torno da boca. Vesículas e úlceras também estão presentes dentro da boca. O resultado de um esfregaço de Tzanck demonstra células gigantes multinucleadas (sincícios) e corpúsculos de inclusão do tipo Cowdry A. As lesões regridem após 18 dias.

HSV oral recorrente: Um estudante de medicina de 22 anos de idade, estudando para as provas, sente uma dor localizada na borda labial e 24 horas depois apresenta uma lesão vesicular única no local.

HSV genital recorrente: Uma mulher de 32 anos de idade, sexualmente ativa, apresenta uma recorrência de lesões vaginais ulcerativas, com dor, prurido, disúria e sintomas sistêmicos 48 horas após ter sido exposta à luz UVB enquanto esquiava. As lesões regridem em 8 dias. Os resultados de um esfregaço de Papanicolaou mostraram células gigantes multinucleadas (sincícios) e corpos de inclusão do tipo Cowdry A

Encefalite por HSV: Um paciente apresenta sintomas neurológicos focais e convulsões. Os resultados de imagem por ressonância magnética demonstram a destruição de um lobo temporal. Eritrócitos estão presentes no líquido cefalorraquidiano e a reação em cadeia da polimerase é positiva para DNA viral de HSV.

Vírus Varicela-Zóster

Varicela (catapora): Um menino de 5 anos de idade desenvolve febre e exantema maculopapular no abdome, 14 dias após encontrar-se com seu primo, que também desenvolveu o exantema. Estágios sucessivos de lesões apareceram durante 3 a 5 dias, com o exantema disseminado perifericamente.

Zóster (cobreiro): Uma mulher de 65 anos de idade apresenta um cinturão de vesículas ao longo de um dermátomo torácico e sente dor intensa localizada nesta região.

Vírus Epstein-Barr

Mononucleose infecciosa: Um estudante de colégio de 23 anos de idade desenvolve mal-estar, fadiga, febre, glândulas inchadas e faringite. Após o tratamento empírico com ampicilina para a faringite, surge um exantema. Anticorpos heterófilos e linfócitos atípicos foram detectados no sangue.

Citomegalovírus

Doença congênita por CMV: Um neonato apresenta microcefalia, hepatoesplenomegalia e exantema. Calcificação intracerebral é identificada pela radiografia. A mãe teve sintomas semelhantes à mononucleose durante o terceiro trimestre da gravidez.

Herpesvírus humano 6

Exantema súbito (roséola): Uma criança de 4 anos de idade desenvolve febre alta de início rápido que dura 3 dias, retornando rapidamente ao normal. Dois dias depois, um exantema maculopapular aparece no tronco, disseminando-se para outras partes do corpo.

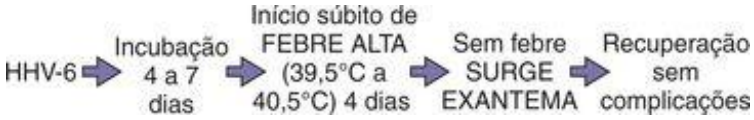


Figura 53-18 Evolução temporal dos sintomas do exantema súbito (roséola) causado pelo herpesvírus 6 (HHV-6). Compare estes sintomas e sua evolução temporal com os do eritema infeccioso, que é causado pelo parvovírus B19 (Cap. 56).

O HHV-6 pode também causar uma síndrome de mononucleose e linfadenopatia em adultos e pode ser um cofator na patogênese da AIDS. Como ocorre com o CMV, o HHV-6 pode ser reativado em pacientes transplantados e contribuir para a falha do enxerto. O HHV-6 também tem sido associado à esclerose múltipla e síndrome da fadiga crônica.

Outros Herpesvírus Humanos

Herpesvírus Humano 8 (Herpesvírus Associado a Sarcoma de Kaposi)

Sequências de DNA de **HHV-8** foram descobertas em amostras de biópsia de **sarcoma de Kaposi, linfoma de efusão primária** (um tipo raro de linfoma de células B), **e doença multicêntrica de Castleman** através de análise por PCR. O sarcoma de Kaposi é uma das doenças oportunistas características associadas à AIDS. A análise de sequência do genoma demonstrou que o vírus era um membro singular da subfamília *Gammaherpesvirinae*. Como ocorre com o EBV, a célula B é a célula-alvo primária para HHV-8, mas o vírus também infecta um número limitado de células endoteliais, monócitos, células epiteliais e nervosas sensitivas. Dentro dos tumores do sarcoma de Kaposi, células fusiformes endoteliais contêm o vírus.

O HHV-8 codifica diversas proteínas que apresentam homologia com proteínas humanas, promovendo o crescimento e impedindo a apoptose das células infectadas e das que as cercam. Estas proteínas incluem um homólogo da interleucina-6 (crescimento e antiapoptose), um análogo de Bcl-2 (antiapoptose), quimiocinas e um receptor de quimiocinas. Estas proteínas podem promover o crescimento e desenvolvimento de células policlonais do sarcoma de Kaposi em pacientes com AIDS e outros. Aproximadamente 10% das pessoas imunocompetentes apresentam DNA do HHV-8 associado a linfócitos do sangue periférico, principalmente células B. O HHV-8 está limitado a certas áreas geográficas (Itália, Grécia, África) e a pacientes com AIDS. O vírus é transmitido principalmente pela via sexual, mas pode ser disseminado por outros meios.

Herpesvírus simiae (vírus B) (subfamília *Alphaherpesvirinae*: o homólogo símio de HSV) é nativo de macacos asiáticos. O vírus é transmitido para humanos por mordidas de macaco ou saliva, ou mesmo por tecidos e células amplamente usados em laboratórios de virologia. Uma vez infectado, um humano pode apresentar dor, rubor localizado e vesículas no sítio de entrada do vírus. Desenvolve-se uma encefalopatia que é frequentemente fatal: a maioria das pessoas que sobrevive apresenta lesões cerebrais graves. O isolamento do vírus e testes sorológicos podem ser usados para estabelecer o diagnóstico de infecção por vírus B.

Estudos de Casos e Questões

Uma criança de 2 anos de idade, com febre há 2 dias, não está se alimentando e chora muito. Ao exame, o médico vê que as mucosas da boca estão cobertas com numerosas ulcerações superficiais e pálidas. Algumas pápulas e vesículas avermelhadas também são observadas em torno das bordas labiais. Os sintomas pioram durante 5 dias e então regridem lentamente, com remissão completa após 2 semanas.

1. O médico suspeita que esta seja uma infecção por HSV. Como o diagnóstico poderia ser confirmado?

1° caso

1. O diagnóstico pode ser confirmado pelo esfregaço de Tzanck feito com células retiradas da base das lesões. Neste teste a presença de HSV é evidenciada por seus efeitos citopatológicos como produção de sincícios, citoplasma vacuolado e inclusões intranucleares do tipo Cowdry A. A amostra também pode ser analisada por imunofluorescência. Ainda, o líquido das vesículas pode ser cultivado e os efeitos citopatológicos característicos observados ou a presença viral podem ser demonstrados pela pesquisa do genoma do HSV por PCR neste líquido.

2. Como você determinaria se esta infecção foi causada por HSV-1 ou HSV-2?

2. Imunofluorescência usando anticorpos tipo-específicos ou PCR são técnicas utilizadas para a distinção entre HSV-1 e HSV-2.

3. Que respostas imunes foram mais importantes na regressão desta doença, e quando foram ativadas?

3. Respostas inatas, como o interferon alfa e as células NK, são ativadas precocemente para limitar a propagação de vírus. Posteriormente, células T e anticorpos produzem uma resposta imunológica. As células T são essenciais para a resolução da infecção e os anticorpos auxiliam nesta diminuição das partículas virais, mas não são suficientes para proteção contra novas infecções.

4. O HSV escapa à resolução imune completa por causar infecções latentes e recorrentes. Qual foi o sítio de latência nesta criança, e o que poderia promover recorrências futuras?

4. A latência é estabelecida no gânglio trigeminal. Recorrências futuras são desencadeadas por estresses, como exposição à radiação UVB, estresse físico ou emocional.

5. Quais foram os meios mais prováveis pelos quais esta criança foi infectada por HSV?

5. A criança foi infectada por contato com uma pessoa infectada ou através da partilha de algum item (p. ex.: talheres ou copo) com uma pessoa portadora de lesão ativa.

6. Que fármacos antivirais estão disponíveis para o tratamento de infecções por HSV? Quais são seus alvos? Eles seriam indicados para esta criança? Por quê?

6. As drogas mais eficazes no combate ao HSV são os análogos de nucleotídeos que quando ativados pela ação da timidina quinase viral inibem a DNA polimerase e, portanto, a replicação do vírus. Estes incluem valaciclovir, aciclovir, penciclovir e famciclovir. Porém, eles não estão indicados para uso neste caso devido à infecção estar em fase adiantada trazendo um efeito antiviral limitado ao medicamento e também por esta infecção não trazer maiores riscos à criança.

Um estudante de segundo grau de 17 anos de idade apresentou febre baixa e astenia por vários dias, seguidas por dor de garganta, linfonodos cervicais inchados e fadiga crescente. O paciente também nota algum desconforto no quadrante superior esquerdo do abdômen. A dor de garganta, linfadenopatia e febre regrediram gradualmente nas 2 semanas seguintes, mas o nível completo de recuperação do paciente só retornou após outras 6 semanas.

1. Que testes laboratoriais confirmariam o diagnóstico de mononucleose infecciosa induzida por EBV e distinguiria de infecção por CMV?

2° caso

1. O teste mais simples seria a pesquisa de anticorpos heterófilos, que é específico para EBV. A sorologia para antígenos de EBV também pode confirmar o diagnóstico. Estes testes também distinguem entre uma infecção por EBV atual ou pregressa.

2. *Mononucleose* se refere a qual característica particular da doença?

2. Mononucleose se refere à expansão do número de células T após estimulação pelas células B que são as infectadas por EBV. Síndromes *mononucleose-like* podem acompanhar outras infecções de linfócitos, incluindo as causadas por CMV e HIV.

3. O que causa a linfadenopatia e a fadiga?

3. Linfoadenopatia e fadiga são causadas pela ativação da resposta imune em larga escala, como indicado pela expansão do número de células T.

4. Quem está sob maior risco de complicação grave da infecção por EBV? Qual é a complicação? Por quê?

4. Em pessoas imunodeprimidas a infecção por EBV poderá induzir leucemia e linfoma. Isso pode ocorrer porque na ausência de células T funcionais, células B estimuladas pelo EBV podem entrar em multiplicação de maneira descontrolada. É o caso, por exemplo, de meninos com doença de Duncan (uma imunodeficiência ligada ao X) que devido à imunodeficiência podem morrer por uma imunoproliferação semelhante à leucemia quando infectados pelo EBV.

Bibliografia

Boshoff C, Weiss RA, editors. Kaposi Sarcoma Herpesvirus: New Perspectives Series: Current Topics in Microbiology and Immunology, 312. New York: Springer-Verlag, 2007.
Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.
Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.
Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.
Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.
Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.
Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004.
Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2004.
McGeoch DJ. The genomes of the human herpesviruses: Contents, relationships and evolution. *Annu Rev Microbiol*. 1989;43:235-265.
Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical Virology. Washington DC: ASM Press, 2002.
Strauss JH, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.
Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.
White DO, Fenner FJ. Medical Virology, 4th ed. New York: Academic, 1994.

Vírus Herpes Simplex

Arbesfeld DM, Thomas I. Cutaneous herpes simplex infections. *Am Fam Physician*. 1991;43:1655-1664.
Beauman JG. Genital herpes: A review. *Am Fam Physician*. 2005;72:1527-1534.

Cunningham AL. et al: The cycle of human herpes simplex virus infection: Virus transport and immune control. *J Infect Dis*. 2006;194(S1):S11-S18.
Dawkins BJ. Genital herpes simplex infections. *Prim Care*. 1990;17:95-113.
Kimberlin DW. Neonatal herpes simplex virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:1-13.
Landy HJ, Grossman JHIII. Herpes simplex virus. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1989;16:495-515.
National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Herpes simplex virus fact sheet. Disponível em Rouse BT: Herpes simplex virus: Pathogenesis, immunobiology and control. www.niaid.nih.gov/factsheets/stdherp.htm. Curr Top Microbiol Immunol. 1992;179:1-179.
Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex virus: State of the art clinical article. *Clin Infect Dis*. 1998;26:541-555.

Vírus Varicella-Zoster

Chia-Chi Ku V, Besser J, Abendroth A. et al: Varicella-zoster virus pathogenesis and immunobiology: New concepts emerging from investigations with the SCIDhu mouse model. *J Virol*. 2005;79:2651-2658.
Gnann JWJr, Whitley RJ. Herpes zoster. *New Engl J Med*. 2002;347:340-346.
Ostrove JM. Molecular biology of varicella zoster virus. *Adv Virus Res*. 1990;38:45-98.
White CJ. Varicella-zoster virus vaccine. *Clin Infect Dis*. 1997;24:753-761. quiz 762–763

Vírus Epstein-Barr

Basgoz N, Preiksaitis JK. Post-transplant lymphoproliferative disorder. *Infect Dis Clin North Am*. 1995;9:901-923.
Cohen JI. The biology of Epstein-Barr virus: Lessons learned from the virus and the host. *Curr Opin Immunol*. 1999;11:365-370.
Faulkner GC, Krajewski AS, Crawford DH. The ins and outs of EBV infection. *Trends Microbiol*. 2000;8:185-189.
Hutt-Fletcher L. Epstein Barr virus entry. *J Virol*. 2007;81:7825-7832.
Sugden B. EBV's open sesame. *Trends Biochem Sci*. 1992;17:239-240.
Takada K. Epstein Barr Virus and Human Cancer (Curr Top Microbiol Immunol, vol 258). New York: Springer, 2001.
Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus and the B cell: That's all it takes. *Trends Microbiol*. 1996;4:204-208.
Thorley-Lawson DA, Babcock GJ. A model for persistent infection with Epstein-Barr virus: The stealth virus of human B cells. *Life Sci*. 1999;65:1433-1453.

Citomegalovírus e Herpevírus Humanos 6, 7, e 8

Bigoni B. et al: Human herpesvirus 8 is present in the lymphoid system of healthy persons and can reactivate in the course of AIDS. *J Infect Dis*. 1996;173:542-549.
Campadelli-Fiume G, Mirandola P, Menotti L. Human herpesvirus 6: An emerging pathogen. Emerg Infect Dis, vol 5 (1999, on-line): Disponível em DeBolle L, Naesens L, De Clercq E: Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no3/campadelli. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:217-245.
Gnann JWJr, Pellett PE, Jaffe HW. Human herpesvirus 8 and Kaposi sarcoma in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 2000;30:S72--S76.
McDougall JK. Cytomegalovirus. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1990;154:1-279.

Miele PS, Smith MA. Human herpesvirus type 6 (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/MED/topic1035.htm.
Pellet PE, Black JB, Yamamoto Y. Human herpesvirus 6: The virus and the search for its role as a human pathogen. *Adv Virus Res*. 1992;41:1-52.
Plachter B, Sinzger C, Jahn G. Cell types involved in replication and distribution of human cytomegalovirus. *Adv Virus Res*. 1996;46:197-264.
Proceedings of a conference on pathogenesis of cytomegalovirus diseases. *Transplant Proc*. 1991;23(Suppl 3):1-182.
Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus Series: Current Topics in Microbiology and Immunology, 325. New York: Springer-Verlag, 2008.
Stoeckle MY. The spectrum of human herpesvirus 6 infection: From roseola infantum to adult disease. *Annu Rev Med*. 2000;51:423-430.
Wyatt LS, Frenkel N. Human herpesvirus 7 is a constitutive inhabitant of adult human saliva. *J Virol*. 1992;66:3206-3209.
Yamanishi K. et al: Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthema subitum. *Lancet*. 1988;1:1065-1067.

54 Poxvírus

Os poxvírus incluem os vírus humanos da **varíola** (***smallpox*** – gênero *Orthopoxvirus*) e d o **molusco contagioso** (gênero *Molluscipoxvirus*), além de alguns vírus que infestam naturalmente animais, mas que podem causar infecções incidentais em seres humanos (**zoonoses**). Muitos desses vírus compartilham determinantes antigênicos com a varíola, permitindo o uso de um poxvírus animal para uma vacina humana.

Na Inglaterra do século XVIII, a varíola era responsável por 7% a 12% de todas as mortes e de um terço pela morte de crianças. Entretanto, o desenvolvimento da primeira vacina viva em 1796 e a posterior distribuição mundial desta vacina levou à erradicação da varíola em 1980. Como resultado, estoques de referência do vírus da varíola em dois laboratórios da Organização Mundial de Saúde (OMS) foram destruídos em 1996 após um acordo internacional. Infelizmente, a varíola não desapareceu. Os estoques do vírus ainda existem nos Estados Unidos e na Rússia. Enquanto o mundo estava eliminando com sucesso a varíola natural, a antiga URSS (União das Repúblicas Socialistas Soviéticas) estava armazenando imensas quantidades de vírus da varíola para serem utilizadas como armas em uma guerra biológica. A varíola é considerada como um *agente de categoria A* pelo CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) dos Estados Unidos, juntamente com antraz (carbúnculo), peste, botulismo, tularemia e febres hemorrágicas virais, por causa de seu grande potencial como agentes de bioterrorismo e guerra biológica, capazes de disseminação em larga escala provocando graves doenças. O potencial para estes estoques de varíola para serem adquiridos e usados por um terrorista tem sido acelerado para renovar o interesse no desenvolvimento de novos programas de vacinas contra a varíola e fármacos antivirais.

Positivamente os vírus da vacínia e o vírus canaripox encontraram um uso benéfico como vetores de liberação de genes e para o desenvolvimento de vacinas híbridas. Vírus híbridos contêm e expressam os genes de outros agentes infecciosos e a infecção resulta na imunização contra ambos os agentes.

Estrutura e Replicação

Os poxvírus são os maiores vírus, quase visíveis à microscopia óptica (Quadro 54-1). Medem 230 × 300nm e são de formato ovoide ou de tijolo, com uma complexa morfologia. A partícula do vírion do poxvírus pode carrear muitas enzimas, incluindo uma polimerase de ácido ribonucleico (RNA) dependente de ácido desoxirribonucleico (DNA), para permitir que a síntese do RNA mensageiro (mRNA) viral ocorra no citoplasma. O genoma viral consiste em um grande DNA linear de dupla fita que é ligado em ambas as extremidades. A estrutura e a replicação do vírus vacínia são representativas de outros poxvírus (Fig. 54-1). O genoma do vírus vacínia consiste em aproximadamente 189 mil pares de bases.

Quadro 54-1 Propriedades Exclusivas dos Poxvírus

Os poxvírus são os maiores e mais complexos vírus.

Os poxvírus têm uma complexa morfologia, de formato oval ou como um tijolo.

Os poxvírus têm um genoma com um DNA linear de fita dupla, de extremidades fundidas.

Os poxvírus são **vírus de DNA que replicam no citoplasma**.

O vírus codifica e carreia todas as proteínas necessárias para a síntese de mRNA.

O vírus também codifica as proteínas para funções tais como síntese de DNA, captação de nucleotídeos e mecanismos de escape imunológico.

Os vírus são montados em corpúsculos de inclusão (corpúsculos de Guarnieri), onde adquire suas membranas externas.

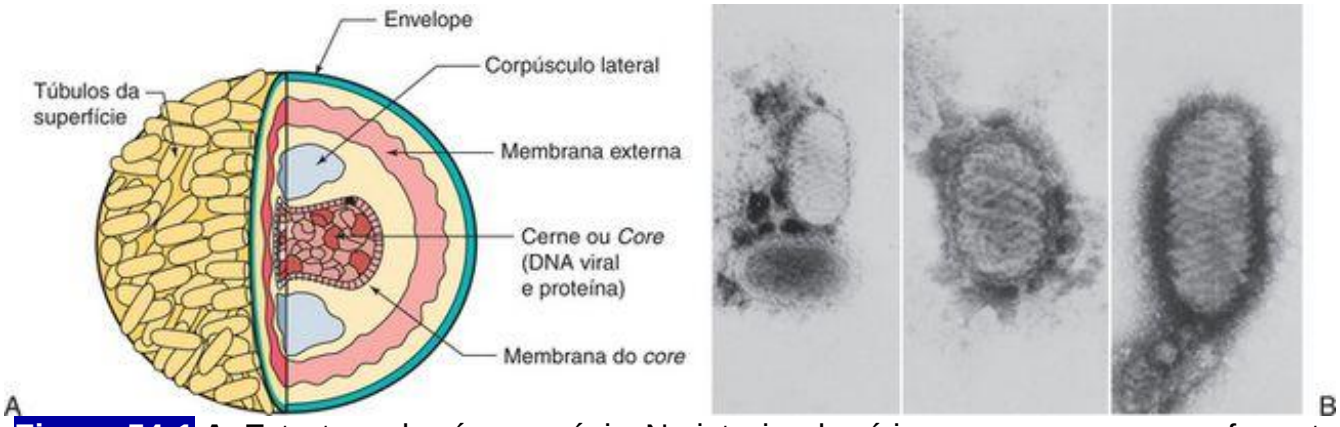


Figura 54-1 **A**, Estrutura do vírus vacínia. No interior do vírion, o cerne assume o formato de um halter por causa dos grandes corpúsculos laterais. Os vírions têm uma dupla membrana; a "membrana externa" se organiza ao redor do eixo no citoplasma, e o vírus sai da célula por exocitose ou por lise celular. **B**, Micrografia eletrônica do vírus orf. Observe sua complexa estrutura.

A replicação dos poxvírus é única entre os vírus contendo DNA, no que o ciclo de multiplicação inteiro ocorre no interior do citoplasma da célula hospedeira (Fig. 54-2). Como resultado, *os poxvírus podem codificar as enzimas necessárias para a síntese do mRNA e do DNA, como também outras atividades que vírus de DNA normalmente obtêm da célula hospedeira*.

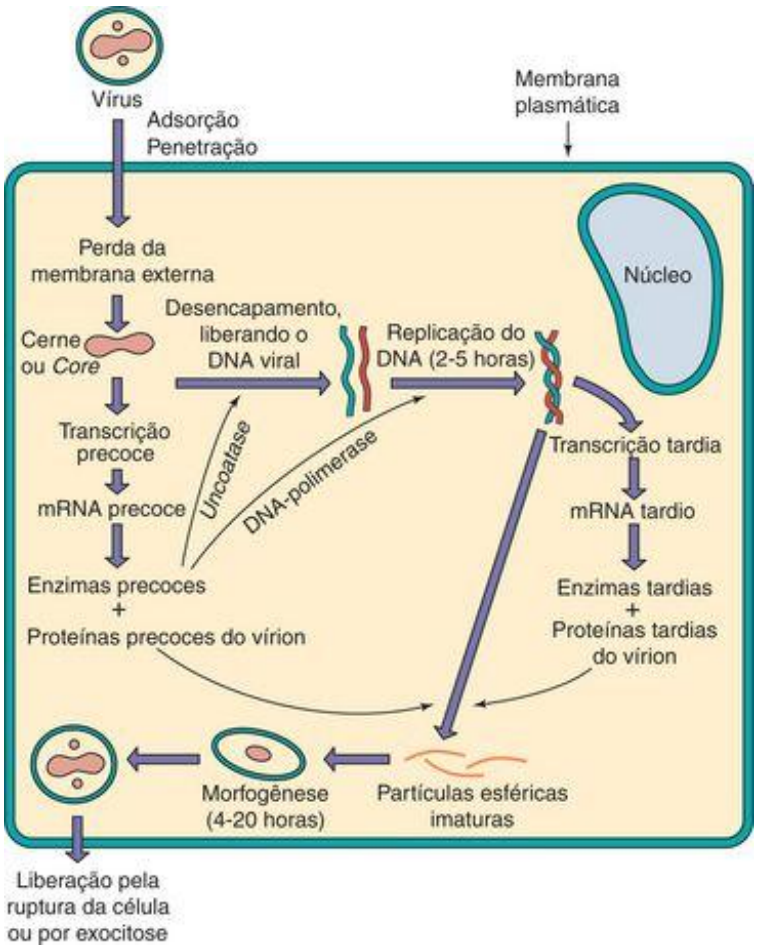


Figura 54-2 Replicação do vírus vacínia. O *core* é liberado no interior do citoplasma, onde as enzimas dos vírions iniciam a transcrição. Em seguida, a enzima *uncoatase* codificada pelo vírus causa a liberação do DNA. A polimerase viral replica o genoma, e uma transcrição tardia ocorre. O DNA e as proteínas são organizados em cernes (ou *cores)* com uma membrana envolvendo-os. Uma membrana externa envolve o cerne contendo os corpúsculos laterais e as enzimas necessárias para a infectividade. O vírion brota através da membrana plasmática ou é liberado através de lise celular. mRNA, RNA mensageiro.

Depois de se ligar a um receptor da superfície celular, o envoltório externo do poxvírus se funde com as membranas celulares, seja na superfície celular, ou dentro da célula. A transcrição gênica precoce é iniciada com a remoção da membrana externa. O cerne ou *core* do vírion contém um ativador transcricional específico e todas as enzimas necessárias para a transcrição, incluindo uma RNA-polimerase com múltiplas subunidades, como também enzimas para a adição da cauda poli A e do 5′ *cap* no mRNA. Entre as primeiras proteínas produzidas está uma que promove o desnudamento (*uncoatase*), consequentemente liberando o DNA viral para o citoplasma da célula. Em seguida, o DNA viral se replica em inclusões citoplasmáticas eletrondensas (corpúsculos de inclusão de Guarnieri), citadas como **fábricas**. O mRNA viral tardio para proteínas estruturais, do vírion e outras proteínas, é produzido após a replicação do DNA. Nos poxvírus, ao contrário de outros vírus, as membranas se organizam ao redor das fábricas do cerne (*core*). Aproximadamente 10 mil partículas virais são produzidas por uma célula infectada. Diferentes formas de vírus são liberadas por exocitose ou por lise celular, mas ambas são infecciosas.

Os vírus da vacínia e canaripox estão sendo usados como vetores de expressão para produzir vacinas de vírus vivos recombinantes/híbridos para agentes infecciosos mais virulentos (Fig. 54-3). Para este processo, um plasmídio é construído de modo a conter o gene exógeno que codifica a molécula imunizante, flanqueado por sequências gênicas específicas do poxvírus para promover a recombinação. Este plasmídio é inserido em uma célula hospedeira, à qual é em seguida infectada com o poxvírus. O gene exógeno é incorporado ao genoma do poxvírus “de resgate” devido às sequências virais homólogas incluídas no

plasmídio. A imunização com o poxvírus recombinante resulta da expressão do gene exógeno e sua apresentação ao sistema imunológico, quase como por infecção pelo outro agente. Um vírus vacínia híbrido contendo a proteína G do vírus da raiva embebido em uma isca de alimento e disseminado em florestas tem sido usado com sucesso para imunizar guaxinins, raposas e outros mamíferos. Vacinas experimentais para o vírus da imunodeficiência humana, hepatite B, influenza e outros vírus também têm sido preparadas usando estas técnicas. O potencial para produzir outras vacinas desta maneira é ilimitado.

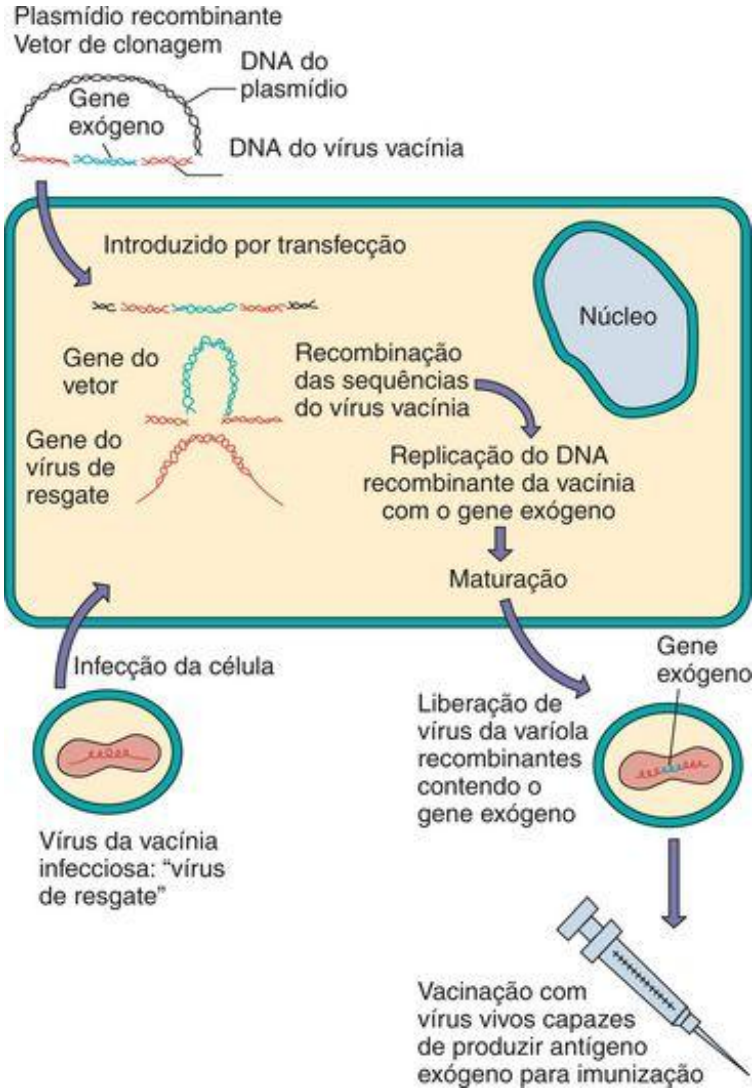


Figura 54-3 Vírus da varíola como um vetor de expressão para a produção de vacinas recombinantes com organismos vivos.

(Modificado de Piccini A, Paoletti E: Adv Virus Res 34:43-64, 1988.)

Patogênese e Imunidade

Após ter sido inalado, o vírus da varíola se replica no trato respiratório superior (Fig. 54-4). A disseminação ocorre através da via linfática e propagação virêmica associada à célula. Os tecidos internos e dérmico são inoculados após uma segunda viremia, mais intensa, que causa a erupção simultânea das "pústulas" características. O molusco contagioso e os outros poxvírus, entretanto, são adquiridos através de contato direto com lesões e não se propagam extensamente. O molusco contagioso causa uma lesão semelhante a uma verruga, em vez de uma infecção lítica.

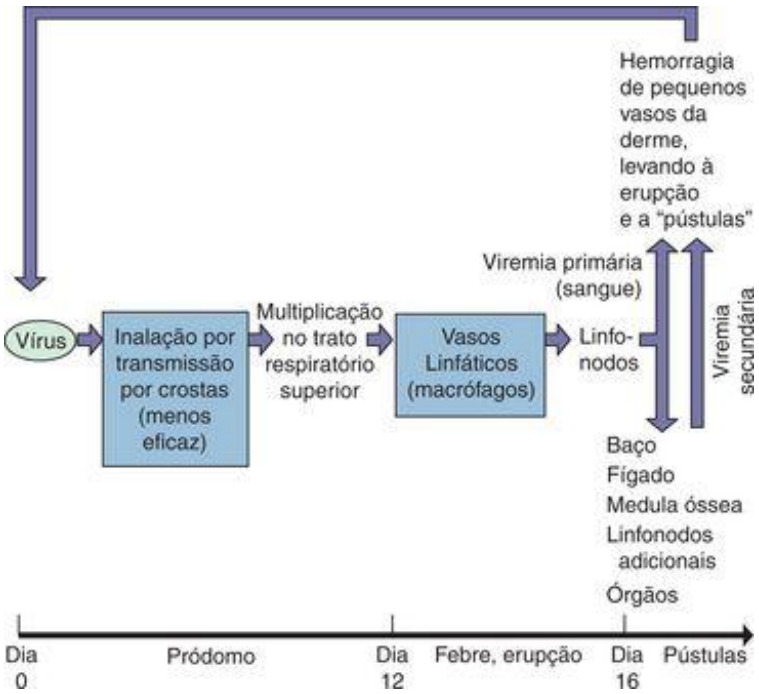


Figura 54-4 Disseminação da varíola dentro do corpo. O vírus entra e se replica no trato respiratório sem causar sintomas ou contágio. O vírus infecta macrófagos, que entram no sistema linfático e carreiam o vírus para os linfonodos regionais. O vírus em seguida se replica e inicia uma viremia, fazendo com que a infecção se espalhe para o baço, medula óssea, linfonodos, fígado e todos os órgãos seguindo para a pele (erupção cutânea). Uma viremia secundária causa o desenvolvimento de lesões adicionais por todo o hospedeiro, seguido de morte ou recuperação com ou sem sequelas. A recuperação da varíola era associada a uma imunidade prolongada e proteção por toda a vida.

Os poxvírus codificam muitas proteínas que facilitam sua replicação e a patogênese no hospedeiro. Elas incluem proteínas que inicialmente estimulam a proliferação na célula do hospedeiro e em seguida levam à lise celular e disseminação viral.

A imunidade mediada por células é essencial para resolver uma infecção por poxvírus. Entretanto, poxvírus codificam atividades que os auxiliam escapar do controle imunológico. Estas incluem a disseminação célula a célula do vírus para evitar anticorpos e proteínas o que impede a ação do interferon, complemento, respostas inflamatórias e proteção por imunidade celular. Os mecanismos patológicos dos poxvírus estão resumidos no Quadro 54-2.

Quadro 54-2 Mecanismos Patológicos dos Poxvírus

A **varíola** é iniciada por uma infecção do trato respiratório e é disseminada principalmente pelo sistema linfático e viremia associada a células.

O **molusco contagioso** e **zoonoses** são transmitidos por contato.

Os vírus podem causar estimulação inicial da proliferação celular e em seguida a lise celular.

O vírus codifica mecanismos de escape imunológico.

A imunidade mediada por células e a imunidade humoral são importantes para a cura.

A maioria dos poxvírus compartilha determinantes antigênicos que permitem a preparação de vacinas “seguras” com vírus vivos a partir poxvírus animais.

Epidemiologia

A varíola e o molusco contagioso são vírus estritamente humanos. Em contraste, os hospedeiros naturais para os outros poxvírus importantes para seres humanos são vertebrados diferentes de humanos (p. ex., vacas, ovelhas e cabras). Os vírus infectam seres humanos apenas através de exposição acidental ou ocupacional (zoonoses). Um surto recente de varíola de macacos nos Estados Unidos é um desses exemplos. Os indivíduos infectados tinham comprado, como animais de estimação, cães-da-pradaria (roedores) que tiveram contato com ratos gigantes da Gâmbia e que provavelmente foram a fonte do vírus. O restabelecimento da vacinação do pessoal militar contra a varíola trouxe com ela a incidência de doenças mediadas por vacinas em contatos.

A varíola era muito contagiosa e, conforme citado anteriormente, era disseminada principalmente através da via respiratória. Também era propagada de forma menos eficiente através de contato íntimo com vírus secos em roupas ou outros materiais. Apesar da severidade da doença e de sua tendência a disseminar, vários fatores contribuíram para sua eliminação, conforme listado no Quadro 54-3.

Quadro 54-3 Propriedades da Varíola Natural que Levam à sua Erradicação

Características Virais

Humanos são os únicos hospedeiros (não há reservatórios ou vetores animais).

Sorotipo único (a imunização protege contra todas as infecções).

Características da Doença

Apresentação da doença consistente, com pústulas visíveis (a identificação de fontes de contágio permitiu a quarentena e a vacinação de contatos).

Vacina

A imunização com poxvírus animais protege contra a varíola.

Vacina estável, barata e de fácil administração.

Presença de cicatriz que indica uma vacinação bem-sucedida.

Serviço de Saúde Pública

Programa da OMS bem-sucedido por todo o mundo, que combina vacinação e quarentena.

Síndromes Clínicas

As doenças associadas com poxvírus estão listadas na Tabela 54-1.

Tabela 54-1 Doenças Associadas a Poxvírus

Tabela 54-1. Doenças Associadas a Poxvírus

Vírus	Doença	Fonte	Localização
Varíola	Varíola (agora extinta)	Seres humanos	Extinta
Vacínia	Usada para vacinação contra varíola	Produto de laboratório	-
Orf	Lesão localizada	Zoonose – ovelhas, cabras	Mundial
Poxvírus bovino (*cowpox*)	Lesão localizada	Zoonose – roedores, gatos, vacas	Europa
Pseudopoxvírus bovino (*pseudocowpox*)	Nódulo do ordenhador	Zoonose – gado leiteiro	Mundial
Poxvírus de macacos (*monkeypox*)	Doença generalizada	Zoonose – macacos, esquilos	África
Vírus da estomatite papular bovina	Lesão localizada	Zoonose – bezerros, gado de corte	Mundial
Tanapox	Lesão localizada	Zoonose rara - macacos	África
Yabapox	Lesão localizada	Zoonose rara – macacos, babuínos	África
Molusco contagioso	Muitas lesões de pele	Seres humanos	Mundial

Modificado de Balows A, et al. (eds): Laboratory Diagnosis: Principles and Practice, vol. 2 New York, Springer-Verlag, 1988.

Varíola

As duas variantes da varíola foram a varíola maior, que era associada com uma mortalidade de 15% a 40%, e a varíola menor, que estava associada a uma mortalidade de 1%. A varíola era iniciada usualmente pela infecção do trato respiratório, com subsequente envolvimento de linfonodos locais, o que por sua vez levava à viremia.

Os sintomas e o curso da doença são apresentados na Figura 54-4, e a erupção cutânea característica é mostrada na Fig. 54-5. Após um período de incubação de 5 a 17 dias, a pessoa infectada experimentava febre alta, fadiga, dor de cabeça severa, dor nas costas e mal-estar, seguido pela erupção cutânea vesicular na boca e logo em seguida no corpo. Vômitos, diarreia e sangramento excessivo rapidamente viriam a seguir. O surgimento simultâneo da erupção cutânea vesicular distingue a varíola das vesículas da varicela-zóster, as quais erupcionam em levas sucessivas.

Figura 54-5 Criança com varíola. Observe a característica da erupção cutânea.

A varíola era usualmente diagnosticada clinicamente, porém era confirmada pelo crescimento do vírus em ovos embrionados ou culturas de células. As lesões características (pústulas) apareciam na membrana corioalantoide de ovos embrionados. Novas técnicas de reação em cadeia da polimerase e de sequenciamento rápido de DNA estão disponíveis no CDC.

A varíola foi a primeira doença a ser controlada por imunização e sua erradicação é um dos grandes triunfos da epidemiologia médica. A erradicação resultou de uma massiva campanha da OMS para vacinar todas as pessoas suscetíveis, especialmente aquelas expostas a alguém com a doença, interrompendo consequentemente a cadeia de transmissão de ser humano para ser humano. A campanha começou em 1967 e foi bem-sucedida. O último caso de infecção naturalmente adquirida foi relatado em 1977, e a erradicação da doença foi reconhecida em 1980.

A variolação, uma abordagem anterior à imunização, envolvia a inoculação de pessoas suscetíveis com o pus virulento da varíola. Isto foi primeiramente realizado no Extremo Oriente e mais tarde na Inglaterra. Cotton Mather introduziu a prática na América. A variolação foi associada a uma taxa de mortalidade de aproximadamente 1%, um risco melhor que o associado à varíola propriamente. Em 1796, Jenner desenvolveu e em seguida popularizou uma vacina usando um vírus menos virulento, o da varíola bovina (poxvírus bovino ou *cowpox*), no qual compartilha determinantes antigênicos com a varíola.

À medida que o programa de erradicação se aproximava de sua meta, se tornava aparente que o índice de reações adversas à vacinação (veja a seguinte discussão da vacínia) excedia o risco de infecção no mundo desenvolvido. Consequentemente, a vacinação de rotina contra a varíola começou a ser interrompida em 1970 e foi totalmente suspensa após 1980. Vacinas mais recentes e mais seguras estão sendo armazenadas como resultado de preocupações com o possível uso da varíola em guerras biológicas.

O interesse renovado tem sido dedicado a fármacos antivirais que são eficazes contra a varíola e outros poxvírus. O cidofovir, um nucleotídeo análogo capaz de inibir a DNA-polimerase viral, é eficaz e está aprovado para o tratamento de infecções por poxvírus.

Vacínia e Doença Relacionada a Vacinas (Caso Clínico 54-1)

A vacínia é o vírus usado para a vacina contra varíola. Embora considerado como derivado da varíola bovina, ele pode ser um híbrido ou outro poxvírus. O procedimento de vacinação consistia em arranhar o vírus vivo na pele do paciente com uma agulha bifurcada e em seguida observar o desenvolvimento de vesículas e pústulas para confirmar uma "pega". Conforme diminuía a incidência da varíola, tornou-se aparente que havia mais complicações relacionadas à vacinação do que casos de varíola. Várias complicações foram severas e até fatais. Elas incluíam encefalite e infecção progressiva (*vaccinia necrosum*), esta última ocorrendo ocasionalmente em pacientes imunocomprometidos que foram inadvertidamente vacinados. Casos recentes de doenças ocorridas após a vacina têm sido observados em membros da família de pessoal militar imunizado. Estes indivíduos são tratados com imunoglobulina contra o vacínia vírus e fármacos antivirais.

Caso Clínico 54-1 Infecção por Vacínia em Contatos Vacinados

O CDC (Morb Mortal Wkly Rep 56(17):417-419, 2007) descreveu o caso de uma mulher que visitou a clínica de saúde pública no Alasca porque a dor de ulcerações vaginais tinha aumentado ao longo do curso de 10 dias. Não havia febre, coceira, ou disúria. O exame clínico mostrou duas úlceras rasas, vermelhidão e supuração vaginal. Não havia linfadenopatia inguinal. A coleta de um espécime viral a partir da lesão foi enviada ao CDC e identificada como a cepa do vírus da vacínia utilizada em vacinas. A presença do vírus foi identificada por técnica de PCR, o qual produz fragmentos de DNA característicos da vacínia a partir do genoma. Embora ela use rotineiramente preservativos durante o sexo, um preservativo se rompeu com um novo parceiro sexual. O parceiro era do Exército dos Estados Unidos e tinha sido vacinado contra varíola 3 dias antes de iniciar seu relacionamento com a mulher. Embora a imunização de rotina contra varíola tenha sido interrompida devido à eliminação do vírus, números crescentes de militares e outras pessoas estão recebendo imunização de vacínia para proteção contra varíola usada como arma. Isto aumenta o potencial para transmissão não intencional do vírus vacínia utilizado na vacina. Outros casos de infecção de vacínia relacionada à vacina incluem bebês e indivíduos com dermatite atópica, que têm complicações mais severas.

Orf, Varíola Bovina e Varíola de Macacos

A infecção humana com os vírus orf (poxvírus de ovelhas e cabras) ou da varíola bovina (poxvírus bovino ou vacínia) é usualmente um risco ocupacional que resulta do contato direto com as lesões do animal. Uma única lesão nodular comumente se forma no ponto de contato, como dedos, mão ou antebraço e é hemorrágica (na varíola bovina) ou granulomatosa (com orf ou pseudovaríola bovina) (Fig. 54-6). Lesões vesiculares frequentemente se desenvolvem e em seguida regridem em 25 a 35 dias, geralmente sem formação de cicatrizes. As lesões podem ser confundidas com antraz. O vírus pode proliferar em cultura ou ser visto diretamente em microscopia eletrônica, mas é usualmente diagnosticado a partir dos sintomas e da história do paciente.

Figura 54-6 Lesão pelo vírus orf no dedo de um taxidermista.

(cortesia de Joe Meyers, MD, Akron, Ohio.)

Os mais de 100 casos de doenças que se assemelham à varíola têm sido atribuídos ao vírus da varíola de macacos. Exceto pelo surto nos estados americanos de Illinois, Indiana e Wisconsin em 2003, todas ocorreram nas Áfricas ocidental e central, especialmente na República Democrática do Congo (antigo Zaire). A varíola de macacos causa uma versão mais leve da doença da varíola, incluindo a erupção cutânea em pústulas.

Molusco Contagioso (Quadro 54-4)

As lesões do molusco contagioso diferem significativamente das lesões do tipo “pox” (causadas pelos demais poxvírus) por serem nodulares ou semelhantes a verrugas (Fig. 54-7A). Elas começam como pápulas e em seguida se tornam nódulos umbilicados, semelhantes a pérolas que têm de 2 a 10mm de diâmetro e apresentam um tampão caseoso central que pode ser espremido. Elas são mais comuns no tronco, genitália e membros superiores usualmente ocorrendo em um agregado de 5 a 20 nódulos. O período de incubação para o molusco contagioso é de 2 a 8 semanas e a doença se dissemina por contato direto (p. ex., contato sexual, briga) ou fômites (p. ex., toalhas). A doença é mais comum em crianças do que em adultos, mas sua incidência está aumentando em indivíduos sexualmente ativos e imunocomprometidos.

Quadro 54-4 Resumos Clínicos

Molusco contagioso: Uma menina de 5 anos de idade tem em seu braço várias lesões semelhantes a verrugas que quando apertadas exsudam um material esbranquiçado.

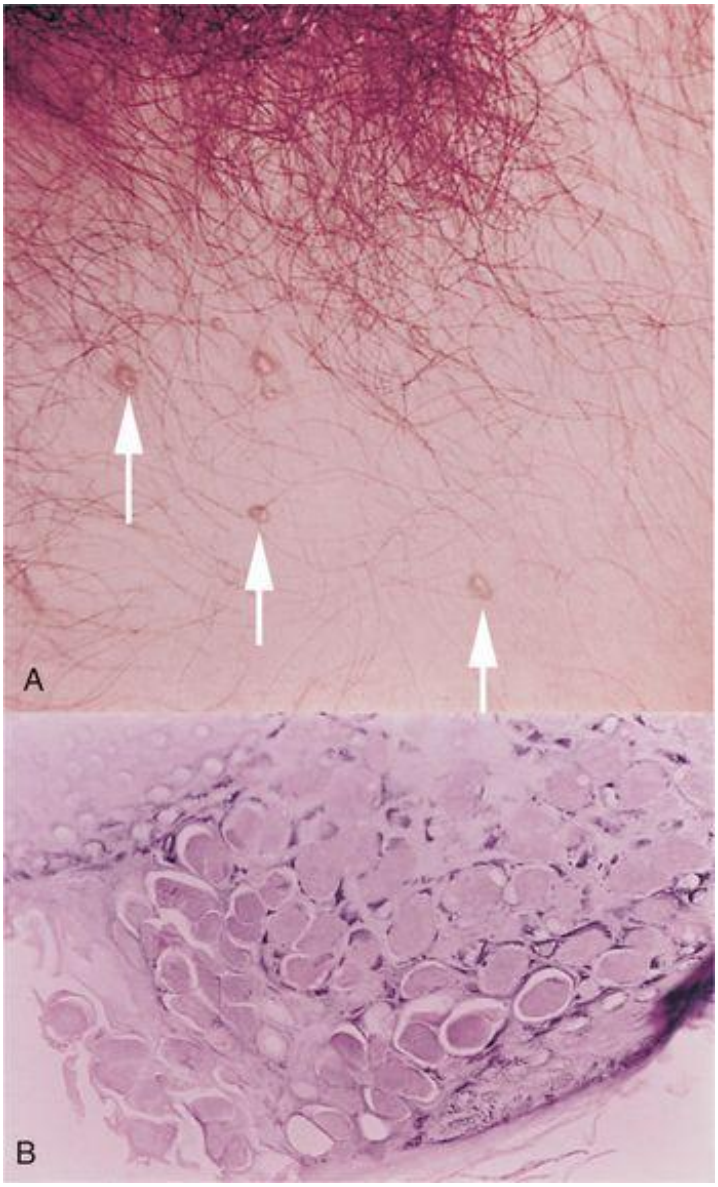


Figura 54-7 Molusco contagioso. **A**, Lesões de pele. **B**, Visualização microscópica; a epiderme está cheia com corpúsculos de molusco (aumento de 100×).

O diagnóstico de molusco contagioso é confirmado histologicamente pelo achado de características e grandes inclusões citoplasmáticas eosinófilas (corpúsculos do molusco) em células epiteliais (Fig. 54-7B). Esses corpúsculos podem ser vistos em espécimes de biópsia ou no centro caseoso expresso de um nódulo. O vírus do molusco contagioso não pode proliferar em cultura de tecidos ou em modelos animais.

As lesões do molusco contagioso desaparecem entre 2 e 12 meses, presumivelmente como resultado de respostas imunológicas. Os nódulos podem ser removidos por curetagem (raspagem) ou pela aplicação de nitrogênio líquido ou soluções de iodeto.

Questões

1. A estrutura dos poxvírus é mais complexa do que a da maioria dos outros vírus. Que problemas esta complexidade cria para a replicação viral?

1. Poxvírus têm uma estrutura grande e complexa com muitas membranas, corpos laterais e outras estruturas. A síntese e montagem destas estruturas complexas são difíceis.

2. Os poxvírus se replicam no citoplasma. Que problemas este aspecto cria para a replicação viral?

2. Poxvírus são vírus de genoma DNA e a replicação do DNA viral no citoplasma exige que o vírus codifique as enzimas necessárias para a síntese de mRNA (RNA polimerase DNA-dependente, enzimas para adição do 5′ cap no mRNA etc.) e para a síntese de DNA (DNA polimerase DNA-dependente), pois estas enzimas estão normalmente presentes no núcleo das células.

3. Como a resposta imunológica à infecção por varíola em uma pessoa sem imunidade prévia difere da infecção em uma pessoa vacinada? Quando os anticorpos surgem em cada caso? Que estágio ou estágios da disseminação viral são bloqueados em cada caso?

3. Imunidade à infecção da varíola compreende desde respostas inatas locais até as mais sistêmicas, como anticorpos e respostas de células T. As respostas imunes não se desenvolvem até 6 a 10 dias após a infecção, quando já é tarde demais para parar a propagação do vírus. Quando o vírus já está disseminado pelo organismo, infectando muitos tecidos, a resposta imune (especialmente a imunidade celular) na tentativa de eliminar as células infectadas pode causar grandes danos.

Em uma pessoa vacinada, o anticorpo está presente na corrente sanguínea para bloquear a disseminação do vírus por viremia. As respostas mediadas pelas células T são ativadas dentro de 2-4 dias a partir de células de memória e essas respostas podem limitar e resolver a infecção com êxito.

4. Que características da varíola facilitaram sua eliminação?

4. Eliminação da varíola foi possível graças a vários fatores: produção de uma excelente vacina, ação efetiva da Organização Mundial da Saúde e algumas propriedades virais. Dentre as propriedades virais destacam-se: não há necessidade de controlar vetores, existência de um único sorotipo viral (tanto no vírus que infecta humanos como nos que infectam animais) e presença de sintomas nos indivíduos infectados, o que facilitou os procedimentos de quarentena.

5. O vírus da vacínia está sendo usado como um vetor para o desenvolvimento de vacinas híbridas. Por que o vírus da vacínia é bem adequado para esta tarefa? Quais agentes infecciosos seriam apropriados para uma vacina híbrida de vacínia e por quê?

5. O vírus vacínia foi desenvolvido em laboratório como um vírus atenuado, não causando doença no homem (em hospedeiros imunocompetentes). Seu genoma contém muitos genes que não são necessários para a replicação do vírus e, portanto, estes podem ser substituídos por genes de outros microrganismos. Se o gene apropriado é incorporado em um híbrido de vírus vacínia com o objetivo de produzir uma vacina, esta poderia estabelecer uma resposta imune natural, incluindo ativação das células T CD8 e formação de memória imunológica, o que seria adequado para os vírus, que exigem respostas imunes Th1 para o seu controle. A vacina usando um híbrido de vírus vacínia poderia ser apropriada para vários vírus como HIV, HPV, HSV, CMV, EBV, entre outros. Porém esta vacina poderia ter segurança questionável devido ao potencial de reversão ou potencial oncogênico.

Bibliografia

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Fenner F. A successful eradication campaign: Global eradication of smallpox. *Rev Infect Dis*. 1982;4:916-930.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1997.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2004.

Moyer RW, Turner PC. Poxviruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1990;163:1-211.

Piccini A, Paoletti E. Vaccinia: Virus, vector, vaccine. *Adv Virus Res*. 1988;34:43-64.

Poonawalla et al., Poonawalla TA, Diven D, Kaufman HL. et al: Vaccinia (2006, online): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/byname/vaccinia.htm.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease. San Diego: Academic, 2002.

White DO, Fenner FJ. Medical Virology, 4th ed. New York: Academic, 1994.

Voyles BA. Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

55 Parvovírus

Parvoviridae são os menores vírus de DNA. Seu tamanho pequeno e repertório genético limitado os tornam mais dependentes da célula hospedeira do que qualquer outro vírus, ou ainda faz com que eles requeiram a presença de um vírus auxiliar para replicação. Apenas um membro de *Parvoviridae*, o **B19**, um membro do gênero *Parvovirus*, é conhecido como causador da doença humana.

O B19 normalmente causa **eritema infeccioso**, ou **quinta doença**, uma doença exantemática febril branda que ocorre em crianças. Tem este último nome porque faz parte de um dos cinco exantemas clássicos da infância (os primeiros quatro são varicela, rubéola, roséola e sarampo). O B19 também é responsável por episódios de **crise aplástica em pacientes com anemia hemolítica crônica** e está associado à **poliartrite aguda** em adultos. A infecção intrauterina do feto pode causar aborto.

Outros parvovírus, como RA-1 (isolado de um indivíduo com artrite reumatoide) e parvovírus presentes nas fezes, não foram comprovados como causadores de doença humana. Os parvovirus felinos e caninos não causam a doença humana que se previnem com a vacinação do animal de estimação.

Vírus Adenoassociados (VAAs) são membros do gênero *Dependovirus* na família *Parvoviridae*. Eles infectam comumente os humanos, mas se replicam apenas em associação com um segundo vírus “auxiliar”, geralmente um adenovírus. Os dependovírus não causam doença nem modificam a infecção por seus vírus auxiliares. Estas propriedades e a propensão dos VAAs de se integrarem ao cromossomo hospedeiro tornaram os VAAs geneticamente modificados candidatos ao uso na **terapia gênica**. Um terceiro gênero da família, o *Densovirus*, infecta apenas insetos.

Estrutura e Replicação

Os parvovírus são extremamente pequenos (18 a 26nm de diâmetro) e têm um capsídio icosaédrico, não envelopado (Quadro 55-1 e Fig. 55-1). O genoma do vírus B19 contém uma molécula com uma cadeia única de ácido desoxirribonucleico (DNA), com uma massa molecular de 1,5 a 1,8 × 10^6 Da (5.500 bases de comprimento) (Quadro 55-2). As fitas de DNA positivas e negativas são empacotadas separadamente em vírions. O genoma decodifica três proteínas estruturais e duas principais não estruturais. Sabe-se que existe apenas um sorotipo de B19.

Quadro 55-1 Propriedades Características dos Parvovírus

Menor DNA vírus

Capsídeo nu de formato icosaédrico

Genoma de DNA fita simples (polaridade + ou –)

Requer células em crescimento (B19) ou vírus auxiliar (dependovírus) para replicação

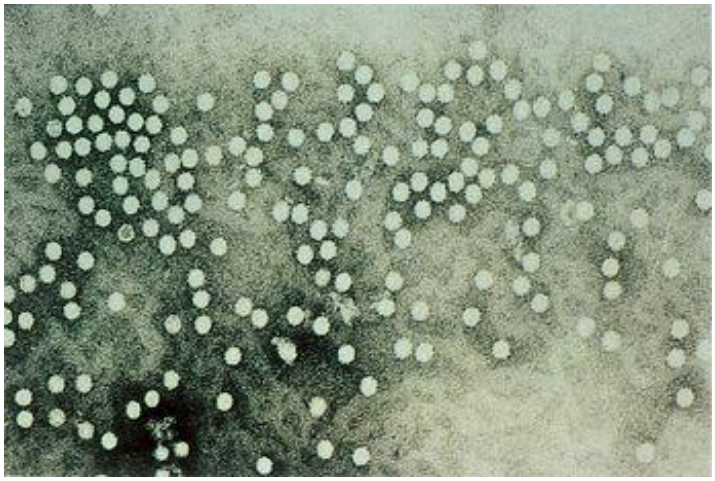


Figura 55-1 Micrografia eletrônica do parvovírus. Parvovírus são vírus pequenos (18 a 26nm), não envelopados, com DNA de fita simples.

(Cortesia de Centers for Disease Control and revention, Atlanta.)

Quadro 55-2 Genoma do Parvovírus

Genoma de DNA de fita simples linear

Aproximadamente 5,5 quilobases de comprimento

Fitas de polaridade positiva e negativa empacotadas em vírions B19 separados

Extremidades do genoma têm repetições invertidas que hibridizam para formar alças em grampo e um iniciador (*primer*) para a síntese de DNA

Regiões separadas de codificação para proteínas não estruturais (NS) e estruturais (VP)

O vírus B19 replica em células mitoticamente ativas e prefere células da linhagem eritroide, como células de medula óssea humana, células eritroides do fígado fetal e células

leucêmicas de linhagem eritroide (Fig. 55-2). Após se ligar ao antígeno do grupo P eritrocitário do sangue (globosídeo) e de sua internalização, o vírus é descapsidado e o genoma com fita simples de DNA é encaminhado para o núcleo. Fatores disponíveis apenas durante a fase S do ciclo de crescimento celular e DNA polimerases celulares são necessários para gerar uma cadeia complementar de DNA.

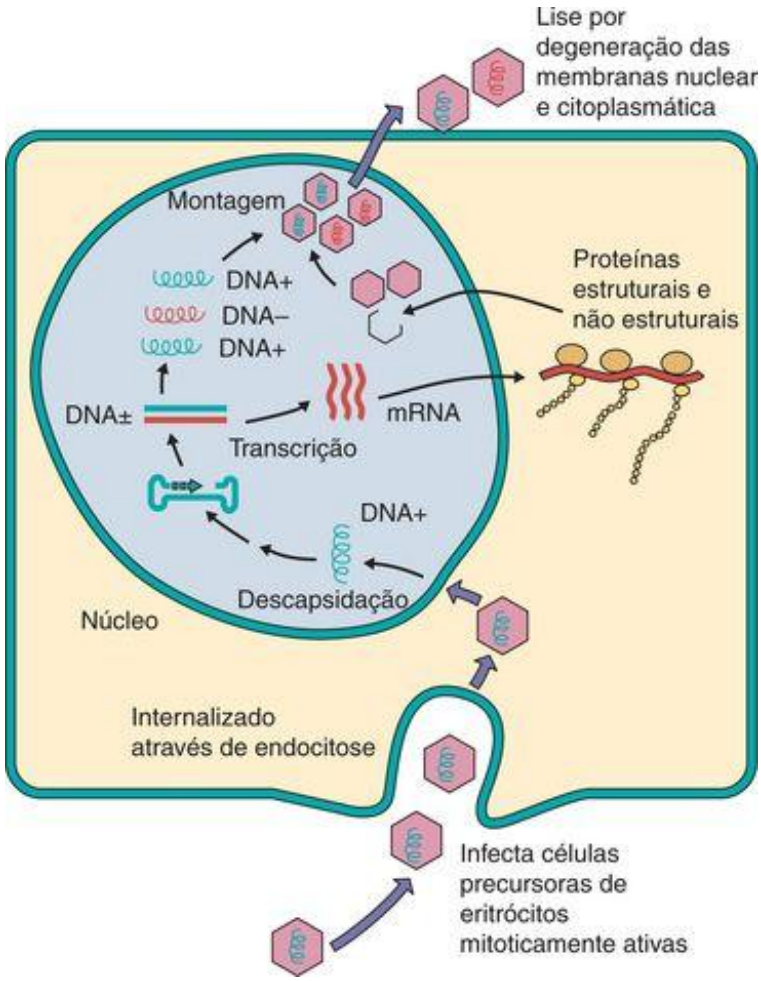


Figura 55-2 Replicação postulada do parvovírus (B19) baseada em informação a partir de vírus relacionados (vírus de camundongo). O parvovírus internalizado direciona seu genoma para o núcleo, onde o DNA de fita única (positivo ou negativo) é convertido em DNA de fita dupla por fatores do hospedeiro e DNA polimerases presente apenas em células em crescimento. Transcrição, replicação e montagem ocorrem no núcleo. O vírus é liberado pela lise celular.

O genoma do vírion de DNA fita simples é convertido para uma versão de DNA fita dupla, que é necessária para a transcrição e replicação. Sequências de repetição invertidas nas duas extremidades se dobram e hibridizam junto ao genoma formando uma estrutura que lembra um grampo, e, que assim dobrada, provê um iniciador (*primer*) necessário ao funcionamento do DNA polimerase da célula. Desta maneira é criada a cadeia complementar que permite replicar o genoma viral. As duas proteínas não estruturais principais e as proteínas estruturais VP1 e VP2 do capsídeo viral são sintetizadas no citoplasma e as proteínas estruturais voltam para o núcleo, em que o vírion é montado. A proteína VP2 é clivada mais tarde para produzir a VP3. As membranas nuclear e citoplasmática degeneram e o vírus é liberado com a lise celular.

Patogênese e Imunidade

O B19 tem como alvo as células precursoras eritroides causando sua citólise (Quadro 55-3). A doença causada pelo parvovírus B19 é determinada pela destruição direta destas células e a subsequente resposta imunológica à infecção (erupção cutânea e artralgia).

Quadro 55-3 Mecanismos Patológicos do Parvovírus B19

Vírus se dissemina por secreções **respiratórias** e **orais**

Vírus **infecta** células **precursoras eritroides mitoticamente ativas** na medula óssea e estabelece infecção lítica

Vírus estabelece ampla **viremia** e pode **atravessar a placenta**

Anticorpo é importante para resolução e profilaxia

Vírus causa doença bifásica:

Fase inicial relacionada à viremia:

Sintomas semelhantes à gripe e de disseminação do vírus

Fase tardia relacionada à resposta imunológica:

Complexos imunes circulantes de anticorpos e vírions que não fixam o complemento

Resultado: exantema eritematoso maculopapular, artralgia e artrite

Depleção de células precursoras eritroides e desestabilização de eritrócitos iniciando **crise aplástica em pessoas com anemia crônica**

Estudos realizados em voluntários sugerem que o vírus B19 primeiro se replica na nasofaringe ou trato respiratório superior. Em seguida, o vírus se dissemina por viremia para a medula óssea e outros locais, em que se replica e destrói as células precursoras de eritrócitos (Fig. 55-3). Essa doença tem um **curso bifásico**.

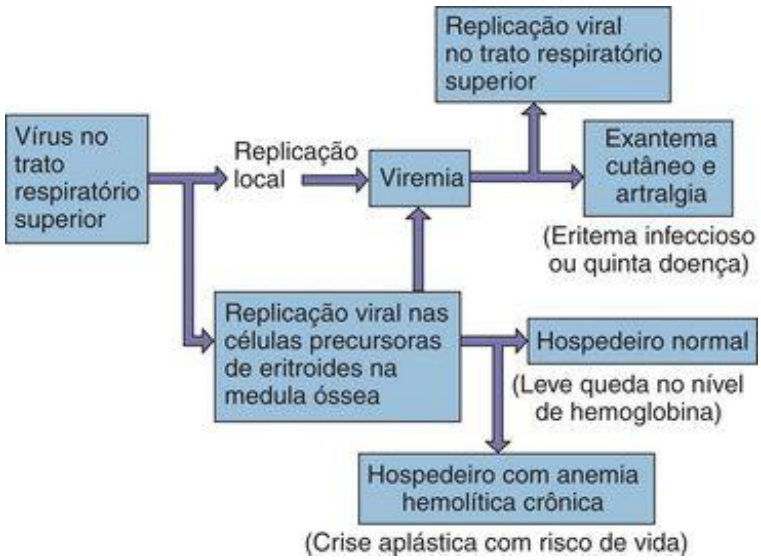


Figura 55-3 Mecanismo de disseminação do parvovírus pelo corpo.

O *estágio febril inicial é o estágio infeccioso*. Durante esse tempo, a produção de eritrócitos é interrompida por aproximadamente 1 semana como um resultado da destruição das células precursoras de eritrócitos pelo vírus. Uma grande viremia ocorre 8 dias após a infecção e é acompanhada por sintomas inespecíficos semelhantes a uma gripe. Grandes quantidades de vírus também são liberadas através das secreções orais e respiratórias. O anticorpo interrompe a viremia e é importante para a resolução da doença, porém, contribui para os sintomas.

O *segundo estágio, sintomático, é mediado imunologicamente*. A erupção cutânea e a artralgia vistos neste estágio coincidem com o aparecimento do anticorpo vírus-específico, com o desaparecimento do vírus B19 detectável e a formação de complexos imunes.

Hospedeiros com anemia hemolítica crônica (p. ex., anemia falciforme) infectados com o vírus B19 podem sofrer uma reticulocitopenia com risco de vida, relatado como **crise aplástica**. A reticulocitopenia resulta da combinação de: (1) depleção pelo B19 das células precursoras das hemácias; e (2) meia-vida encurtada dos eritrócitos causada pela anemia de base.

Epidemiologia

Aproximadamente 65% da população adulta já foi infectada pelo B19 até os 40 anos de idade (Quadro 55-4). O eritema infeccioso é mais comum em crianças e adolescentes de 4 a 15 anos de idade, que são uma fonte de contágio. Artralgia e artrite têm mais probabilidade de ocorrer em adultos. Muito provavelmente, gotículas respiratórias e secreções orais transmitem o vírus. A doença geralmente ocorre no final do inverno e na primavera. A transmissão parenteral do vírus por concentrados de fatores de coagulação sanguíneos também tem sido descrita.

Quadro 55-4 Epidemiologia da Infecção por Parvovírus B19

Doença/Fatores Virais

Capsídeo do vírus resistente à inativação

Período contagioso precede os sintomas

Vírus atravessa a placenta e infecta o feto

Transmissão

Transmitido via gotículas respiratórias

Quem Está sob Risco?

Crianças, especialmente as nas fases pré-escolar e escolar: eritema infeccioso (quinta doença)

Pais de crianças com infecção por B19

Mulheres grávidas: infecção e doença fetal

Pessoas com anemia crônica: crise aplástica

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Vírus encontrado no mundo todo

Quinta doença mais comum no fim do inverno e primavera

Modos de Controle

Não existem modos de controle

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 55-1)

O vírus B19, como citado anteriormente, é a causa do eritema infeccioso (quinta doença) (Quadro 55-5). A infecção começa com um período prodrômico inespecífico de 7 a 10 dias, durante o qual o indivíduo está contagioso. A infecção de um hospedeiro normal pode causar sintomas que passam despercebidos ou febre e sintomas inespecíficos, como dor de garganta, calafrios, indisposição e mialgia, como um leve decréscimo nos níveis de hemoglobina (Fig. 55-4). Esse período é seguido por um exantema cutâneo característico nas bochechas, parecendo que a pessoa foi esbofeteada. O exantema geralmente se espalha, especialmente para a pele exposta, como a dos braços e pernas (Fig. 55-5), regredindo entre 1 e 2 semanas. O reaparecimento do exantema é comum.

Caso Clínico 55-1 Infecção por B19 em Receptor de Transplante

Anemia persistente, em vez de transitória, ocorre em indivíduos imunocomprometidos infectados pelo parvovírus B19. Um caso foi reportado por Pamidi et al. (Transplantation 69:2666-2669, 2000). Após 1 ano de terapia imunossupressora (prednisona, tacrolimus e micofenolato de mofetil) devido a um transplante renal, um homem de 46 anos de idade apresenta dispneia, vertigem e fadiga após exercícios. Testes laboratoriais confirmaram anemia. Análises da medula óssea indicaram hiperplasia eritroide com um predomínio de eritroblastos imaturos. Proeritroblastos submetidos à imuno-histoquímica se mostraram com o citoplasma basofílico e inclusões intranucleares. O paciente recebeu transfusões de concentrados de hemácias durante 6 semanas, porém continuou anêmico. Testes sorológicos indicaram a presença de anticorpos IgM anti-B19 (1:10) e títulos insignificantes de IgG. O tratamento com IgG intravenoso por 5 dias resultou em uma melhora significativa.

A terapia imunossupressora desse paciente diminuiu imensamente as respostas imunes medidas por células T auxiliares impedindo a produção de anticorpos IgG. A resolução de uma infecção viral como a causada por parvovírus depende de uma robusta resposta imunológica mediada por anticorpos. Assim, em sua ausência, uma anemia transitória normal causada pela replicação viral em células precursoras de eritrócitos pode não ser resolvida.

Quadro 55-5 Consequências Clínicas da Infecção por Parvovírus (B19)

Doença leve, semelhante à gripe (febre, cefaleia, calafrios, mialgia, mal-estar)
Eritema infeccioso (quinta doença)
Crise aplástica em pessoas com anemia crônica
Artropatia (poliartrite: sintomas em muitas articulações)
Risco de morte fetal como resultado da passagem do vírus B19 através da placenta, causando doença relacionada à anemia, mas não anomalias congênitas

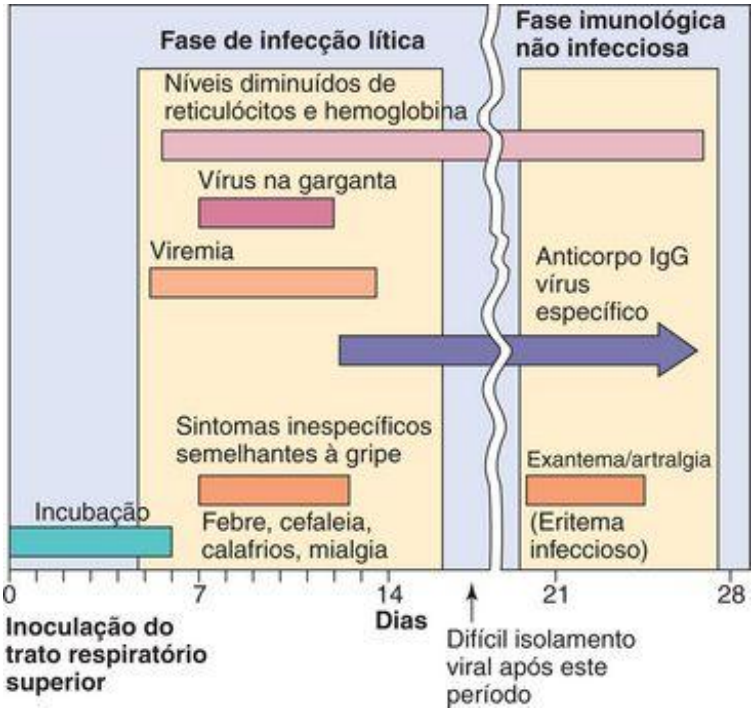


Figura 55-4 Evolução temporal da infecção por parvovírus (B19). O B19 causa uma doença bifásica: primeiro, uma fase de infecção lítica inicial caracterizada por sintomas febris semelhantes a uma gripe e depois uma fase imunológica não infecciosa caracterizada por um exantema cutâneo e artralgia.

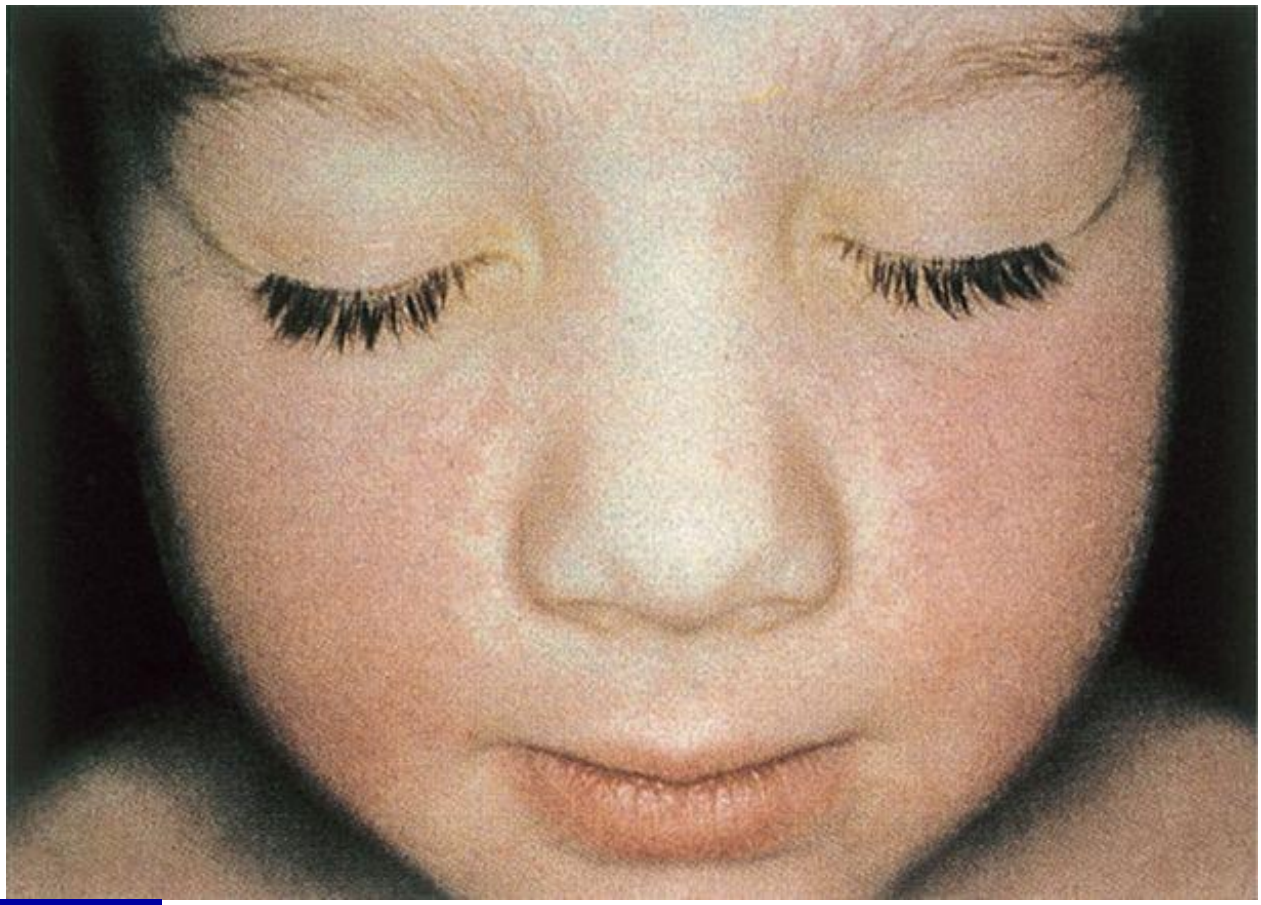


Figura 55-5 Um aspecto de “bochecha esbofeteada” é típico do exantema do eritema infeccioso.

(De Hart CA, Broadhead RL: A Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases. London, Wolfe, 1992.)

A infecção por parvovírus B19 em adultos causa poliartrite (com ou sem exantema cutâneo) que pode durar semanas, meses ou mais. Predomina a artrite das mãos, punhos, joelhos e tornozelos. O exantema cutâneo pode preceder a artrite, mas isso não ocorre com frequência. A infecção por B19 da população imunocomprometida pode resultar em doença crônica.

A complicação mais séria da infecção por parvovírus é a crise aplástica que ocorre em pacientes com anemia hemolítica crônica (p. ex., anemia falciforme). A infecção destes indivíduos causa uma redução transitória da eritropoiese na medula óssea. A redução resulta em uma reticulocitopenia transitória que dura de 7 a 10 dias e um decréscimo no nível de hemoglobina. Uma crise aplástica é acompanhada por febre e sintomas inespecíficos, como mal-estar, mialgia, calafrios e pruridos. Um exantema cutâneo maculopapular com artralgia e algum edema articular também podem estar presentes.

A infecção por B19 de uma mãe soronegativa aumenta o risco para morte fetal. O vírus pode infectar o feto e destruir precursores de eritrócitos, causando anemia e insuficiência cardíaca congênita (**hidropsia fetal**). A infecção de grávidas soropositivas não tem efeito adverso sob o feto. Não há evidências de que o B19 cause anomalias congênitas (Quadros 55-5 e 55-6).

Quadro 55-6 Resumos Clínicos

Um paciente de 10 anos de idade tem uma história de 5 dias de uma doença semelhante à gripe (cefaleia, febre, dor muscular, cansaço) e, então, desenvolve um exantema cutâneo intenso nas bochechas e outro brando “em trama” sobre o tronco e extremidades

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de eritema infeccioso geralmente se baseia no quadro clínico. Para que a doença por B19 seja diagnosticada definitivamente a imunoglobulina M (IgM) específica ou o DNA viral precisam ser detectados (para fazer a distinção entre o exantema cutâneo causado pelo B19 e daquele causado pela rubéola em uma mulher grávida). Ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA para pesquisa de IgM e IgG específicas para parvovírus B19 estão disponíveis. O exame da reação em cadeia da polimerase é um método muito sensível para detectar o genoma do B19 em amostras clínicas. O isolamento do vírus não é realizado.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há tratamento antiviral específico ou meio de controle disponível. As vacinas estão disponíveis para prevenção de parvoviroses do cão e do gato.

Estudo de Caso e Questões

A sra. Doe trouxe sua filha ao pediatra com queixa de exantema cutâneo. A face da filha parecia ter sido esbofeteada, mas ela não tinha febre ou outros sintomas perceptíveis. Na anamnese, a sra. Doe relatou que sua filha teve uma gripe leve 2 semanas antes e que ela própria estava sentindo mais dor articular que o usual e se sentia muito cansada.

1. Quais características desta história indicam uma etiologia de parvovírus B19?

1. A natureza bifásica da doença e a erupção na face são sintomas característicos de infecção por parvovírus B19, porém não são exclusivos. Parvovírus B19 também provoca artralgia em adultos devido à formação de complexos imunes. Sinais e sintomas semelhantes poderiam ocorrer na infecção por HHV6 que induz exantema súbito (roséola), embora o curso temporal da infecção apresenta-se diferente.

2. A criança estava em estágio infeccioso na consulta? Se não, quando houve este contágio?

2. A criança esteve contagiosa durante os sinais iniciais da doença, ou seja, durante o quadro semelhante a um resfriado leve. A erupção é mediada pelo sistema imune e não pela presença viral.

3. O que causou os sintomas?

3. Os sintomas iniciais não específicos são causados pelo interferon e outras respostas imunes inatas. A erupção é causada por respostas imunes induzidas, provavelmente associados com presença de anticorpos e formação de imunocomplexos.

4. Os sintomas de mãe e filha eram relacionados?

4. A erupção da filha e da artralgia da mãe são devido à presença de anticorpos contra o parvovírus B19, formação de complexos imunes e reações de hipersensibilidade do tipo 2 e 3.

5. Que condição subjacente colocaria a filha em risco aumentado para doença grave após a infecção por B19? E a mãe?

5. Indivíduos com anemia hemolítica crônica, por exemplo, anemia falciforme, estão sob risco de doença grave por parvovírus B19. Isso porque o parvovírus se replica em células precursoras de hemácias, impedindo o desenvolvimento de novos eritrócitos e reduzindo a meia-vida destas células. Mulheres grávidas infectadas por parvovírus B19 estão sob risco de perda do feto e ocorrência de hidropsia fetal.

6. Por que o isolamento não é um meio indicado para limitar a disseminação do parvovírus B19?

Quarentena não seria eficaz porque o vírus é transmitido antes do aparecimento dos sinais clássicos do eritema infeccioso (ou quinta doença).

Bibliografia

Anderson LJ. Human parvoviruses. *J Infect Dis*. 1990;161:603-608.

Anderson MJ. Parvoviruses. Belshe RB, editor, 2nd ed. Textbook of Human Virology. St Louis: Mosby. 1991.

Berns KI. The Parvoviruses. New York: Plenum, 1984.

Berns KI. Parvovirus replication. *Microbiol Rev*. 1990;54:316-329.

Brown KE, Young NS. Parvovirus B19 in human disease. *Annu Rev Med*. 1997;48:59-67.

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Chorba T. et al: The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease). *J Infect Dis*. 1986;154:383-393.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Cunningham D, Rennels MB. Parvovirus B19 (2006, online): Available at. http://www.emedicine.com/ped/topic192.htm.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.

Naides SJ. et al: Rheumatologic manifestations of human parvovirus B19 infection in adults. *Arthritis Rheum*. 1990;33:1297-1309.

Törk TJ. Parvovirus B19 and human disease. *Adv Intern Med*. 1992;37:431-455.

Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

Ware RE. Parvovirus infections. Katz SL, Gerson AA, Lotez PJ, editors, 10th ed. Krugman's Infectious Diseases of Children. St. Louis: Mosby. 1998.

Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350(6):586-597.

56 Picornavírus

Picornaviridae é uma das maiores famílias de vírus e inclui alguns dos mais importantes vírus humanos e de animais (Quadro 56-1). Como o nome indica, estes vírus são **pequenos *(pico)*** vírus de **RNA** (ácido ribonucleico) que possuem uma estrutura de **capsídeo não envelopado**. A família tem mais de 230 membros divididos em nove gêneros, incluindo *Enterovirus, Rhinovirus, Hepatovirus, Cardiovirus* e *Aphthovirus*. Os enterovírus são distintos dos rinovírus pela estabilidade do capsídeo em pH 3, pela ótima temperatura para crescimento, modo de transmissão e pelas doenças que provocam (Quadro 56-2).

Quadro 56-1 Picornaviridae

Enterovírus
- Poliovírus tipos 1, 2 e 3
- Vírus Coxsackie A tipos 1 a 22 e 24
- Vírus Coxsackie B tipos 1 a 6
- Echovírus (ECHO vírus) tipos 1 a 9, 11 a 27 e 29 a 34
- Enterovírus 68 a 71

Rinovírus tipos 1 a 100+

Cardiovírus

Aftovírus

Heparnavírus

Vírus da hepatite A

Quadro 56-2 Propriedades Características dos Picornavírus Humanos

Vírion é um capsídeo **não envelopado, pequeno** (25 a 30nm), **icosaédrico**, que encerra um genoma de RNA positivo fita simples.

Enterovírus são resistentes a pH 3 a pH 9, detergentes, tratamento brando de esgoto e calor.

Rinovírus são lábeis em pH ácido; a temperatura de crescimento ótimo é de 33°C.

Genoma é um mRNA

Genoma purificado é suficiente para infecção.

Vírus se replica no citoplasma.

RNA viral é traduzido em poliproteína, a seguir, é clivada, originando proteínas estruturais e enzimas.

A maioria dos vírus é **citolítica**.

Existem pelo menos 71 sorotipos de enterovírus humanos, que são membros dos poliovírus, vírus coxsackie dos grupos A ou B, e echovírus. Diversas síndromes podem ser causadas por um sorotipo específico de enterovírus. Similarmente, diferentes sorotipos podem causar a mesma doença, dependendo do tecido-alvo afetado. O vírus da hepatite A era incluído neste grupo, mas foi reclassificado como um *Hepatovirus* e é discutido separadamente no Capítulo 65.

Os capsídeos dos enterovírus são *muito resistentes a condições ambientais severas* (sistemas de esgoto) e condições no trato gastrointestinal, o que facilita sua transmissão pela via fecal-oral. Embora possam iniciar infecção no trato gastrointestinal, os enterovírus raramente causam doença entérica. De fato, a maioria das infecções geralmente é assintomática. O picornavírus mais conhecido e estudado é o poliovírus, do qual existem três sorotipos.

Os coxsackievírus receberam esse nome em referência à cidade de Coxsackie, Nova York, onde foram isolados pela primeira vez. São divididos em dois grupos, A e B, com base em certas diferenças biológicas e antigênicas. São ainda subdivididos em sorotipos numerados com base em diferenças antigênicas adicionais.

O nome **echovírus** é derivado de ***e*** *nteric* ***c*** *ytopathic* ***h*** *uman* ***o*** *rphan*, porque estes agentes não foram inicialmente associados à doença clínica. Porém, desde 1967, os novos enterovírus isolados foram distinguidos numericamente.

Os rinovírus humanos consistem em pelo menos 100 sorotipos e são a causa principal do resfriado comum. Eles são *sensíveis a pH ácido e replicam-se mal em temperaturas acima de 33°C*. Estas propriedades usualmente limitam os rinovírus a causarem infecções do trato respiratório superior.

Estrutura

A fita positiva de RNA dos picornavírus é circundada por um **capsídeo icosaédrico** com aproximadamente 30nm de diâmetro. O capsídeo icosaédrico possui 12 vértices pentaméricos, cada um é composto de cinco unidades protoméricas de proteínas. Os protômeros são constituídos de quatro polipeptídeos do vírion (VP1 a VP4). VP2 e VP4 são gerados pela clivagem de um precursor, o VP0. O VP4 no vírion solidifica a estrutura, mas não é gerado até que o genoma seja incorporado no capsídeo. Esta proteína é liberada com a ligação do vírus ao receptor celular. Os capsídeos são estáveis na presença de calor e detergente, e, com exceção dos rinovírus, também são estáveis em meio ácido. A estrutura do capsídeo é tão regular que paracristais de vírions muitas vezes se formam nas células infectadas (Figs. 56-1 e 56-2).

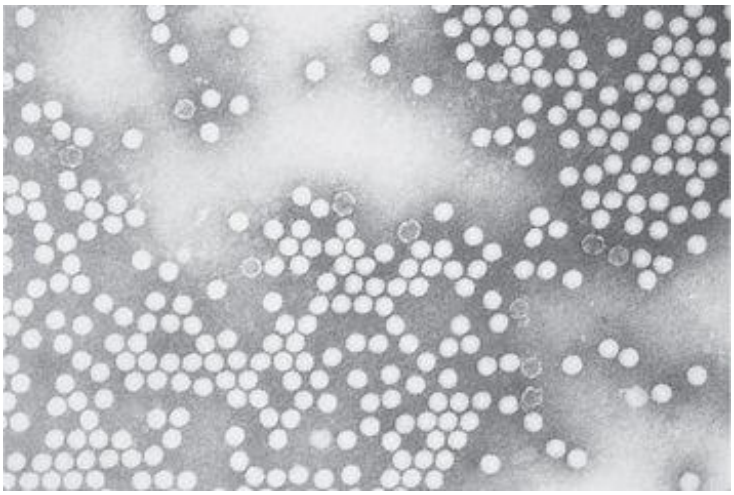


Figura 56-1 Micrografia eletrônica de poliovírus.

(Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)

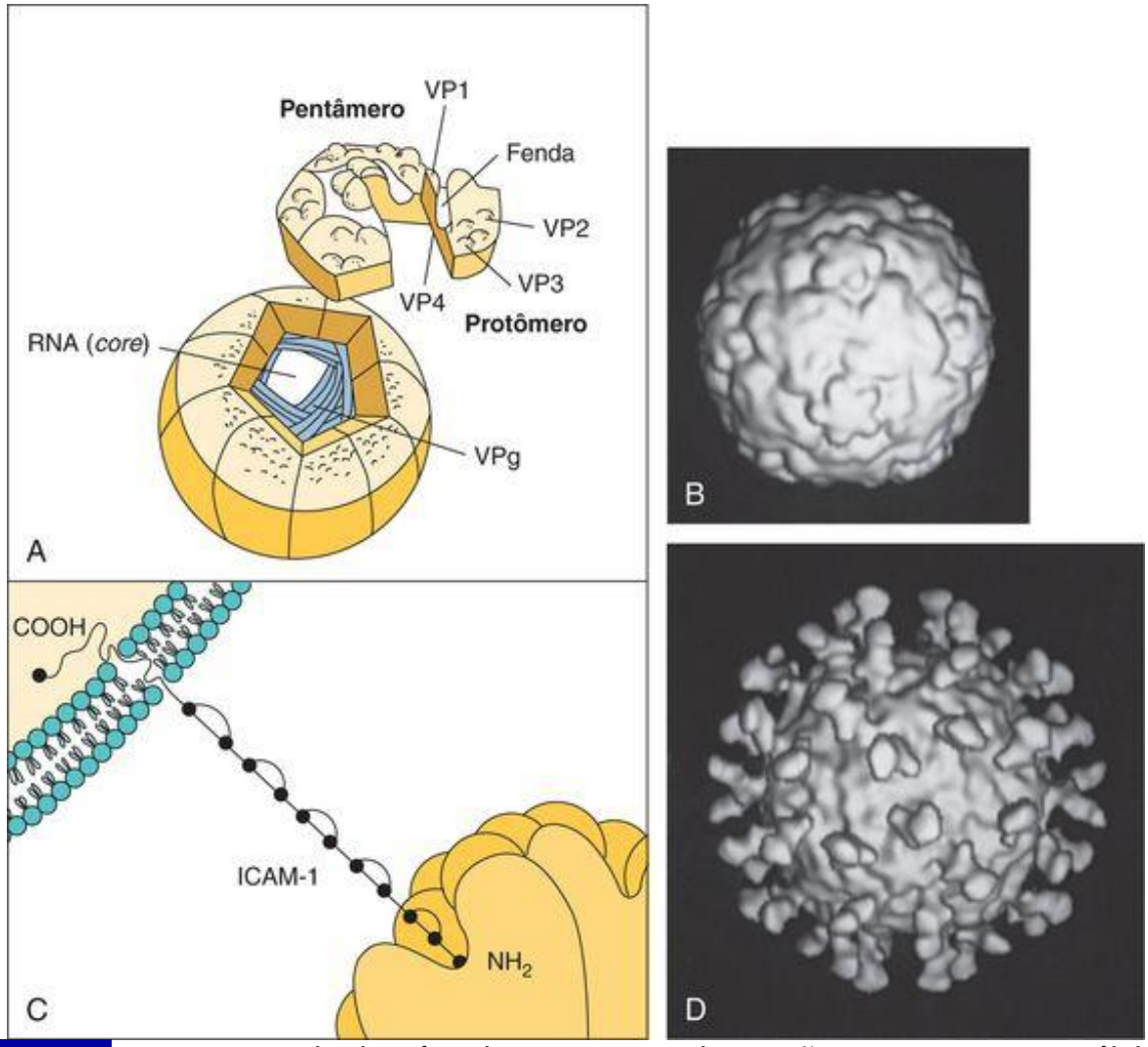


Figura 56-2 **A**, Estrutura do rinovírus humano e sua interação com ICAM-1 na célula-alvo. **B**, Reconstrução gerada por computador a partir de microscopia crioeletrônica do rinovírus humano 16. **C**, A ligação da molécula ICAM-1 dentro da fenda do vírion dispara a abertura do capsídeo para liberação do genoma dentro da célula. **D**, Reconstrução de microscopia crioeletrônica da interação de uma forma solúvel de ICAM-1 com o rinovírus humano 16. *Nota:* Há uma ICAM-1 por capsômero. ICAM-1, molécula de adesão intercelular-1.

*(**B** e **D**, Cortesia de of Tim Baker, Pardue University, West Lafayette, Ind.)*

O **genoma dos picornavírus assemelha-se a um RNA mensageiro** (mRNA) (Fig. 56-3). Ele é uma fita simples de RNA sentido positivo de aproximadamente 7.200 a 8.450 bases, e tem um poli A na extremidade 3′ e uma proteína pequena, VPg (proteína viral ligada ao genoma; 22 a 24 aminoácidos) na extremidade 5′. A sequência poli A aumenta a infectividade do RNA, e a VPg pode ser importante no empacotamento do genoma no capsídeo e na iniciação da síntese de RNA viral. *O genoma purificado dos picornavírus é suficiente para infectar uma célula*.

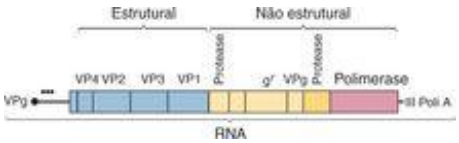


Figura 56-3 Estrutura do genoma dos picornavírus. O genoma (7.200 a 8.400 bases) é traduzido como uma poliproteína, a qual é clivada por proteases codificadas pelo vírus em proteínas individuais. g^r, marcador de resistência à guanidina (um lócus genético envolvido na iniciação da síntese de RNA); Poli A, poliadenilato; •••, sítio interno de entrada do ribossomo para iniciação da síntese proteica.

O genoma codifica uma poliproteína, que é clivada proteoliticamente para produzir as enzimas e proteínas estruturais do vírus. Além das proteínas do capsídeo e VPg, os picornavírus codificam pelo menos duas proteases e uma RNA polimerase RNA-dependente. O poliovírus também produz uma protease que degrada a proteína de 200.000 Da-*cap* ligante (*cap-binding protein*) dos ribossomos eucarióticos, bloqueando a tradução da maioria do mRNA celular.

Replicação

A especificidade da interação dos picornavírus com os receptores celulares é o principal fator determinante do tropismo pelo tecido-alvo e da doença (Cap. 4, Fig. 4-13). As proteínas VP1 nos vértices do vírion contêm uma estrutura em fenda (*canyon*) à qual o receptor se liga. O local de ligação é protegido de neutralização por anticorpo. Pleconaril e compostos antivirais correlatos contêm um grupo 3-metilisoxazol, que se liga ao soalho desta fenda e altera sua conformação para impedir o desencapsidamento do vírus.

Os picornavírus podem ser categorizados de acordo com a especificidade dos seus receptores na superfície celular. Os receptores para poliovírus, alguns coxsackievírus e rinovírus são membros da superfamília de proteínas das imunoglobulinas. Pelo menos 80% dos rinovírus e vários sorotipos de coxsackievírus se ligam à molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), à qual é expressa em células epiteliais, fibroblastos e células endoteliais. Vários coxsackievírus, echovírus e outros enterovírus se ligam ao fator acelerador de decaimento (CD55). O poliovírus se liga a uma molécula diferente (PVR/CDl55) semelhante ao receptor para vírus herpes simples. O receptor para poliovírus está presente em muitas células humanas diferentes, mas nem todas replicarão o vírus.

Com a ligação ao receptor, o VP4 é liberado e o vírion enfraquecido. O genoma é então injetado diretamente através da membrana por um canal criado pela proteína VP1 em um dos vértices do vírion. O genoma se liga diretamente aos ribossomos, apesar da falta da estrutura 5′-*cap*. Os ribossomos reconhecem uma alça de RNA interna única no genoma, que também está presente em alguns mRNAs celulares. Uma poliproteína contendo todas as sequências de proteínas virais é sintetizada10 a 15 minutos após a infecção. Esta poliproteína é clivada por proteases codificadas no vírus. A RNA polimerase RNA-dependente viral gera um molde de RNA fita simples de sentido negativo a partir do qual o novo mRNA/genoma pode ser sintetizado. A quantidade de mRNA viral aumenta rapidamente na célula, com o número de moléculas de RNA viral atingindo 400.000 por célula.

A maioria dos picornavírus inibe a síntese de RNA e proteínas celulares durante a infecção. Por exemplo, a clivagem da proteína de 200.000 Da ligante de *cap* (EIF4-G) do ribossomo por uma protease de poliovírus impede que a maioria dos mRNA celulares se ligue ao ribossomo. A inibição de fatores de transcrição diminui a síntese de mRNA celular e alterações de permeabilidade induzidas pelos picornavírus reduzem a capacidade do mRNA celular se ligar ao ribossomo. O mRNA viral pode competir com o mRNA celular pelos fatores requeridos para síntese de proteína. Estas atividades contribuem para o efeito citopático do vírus sobre a célula-alvo.

Enquanto o genoma viral está sendo replicado e traduzido, as proteínas estruturais VP0, VPl e VP3 são clivadas da poliproteína por uma protease codificada pelo vírus e montadas em subunidades. Cinco **subunidades** se associam em **pentâmeros** e 12 **pentâmeros** se associam para formar o **procapsídeo**. Após a inserção do genoma, VP0 é clivada em VP2 e VP4 para completar o **capsídeo**. Até 100.000 vírions por célula podem ser produzidos e liberados com a lise celular. O ciclo de replicação completo pode ser de 3 a 4 horas.

Enterovírus

Patogênese e Imunidade

Contrariamente ao seu nome, os enterovírus geralmente não causam doença entérica, mas se replicam no intestino e são transmitidos pela via fecal-oral. As doenças produzidas pelos enterovírus são determinadas principalmente por diferenças no tropismo tecidual e na capacidade citolítica dos vírus (Fig. 56-4; Quadro 56-3). O trato respiratório superior, a orofaringe e o trato intestinal são as portas de entrada para os enterovírus. Os vírions não são afetados pelo ácido gástrico, por proteases e bile. A replicação viral é iniciada na mucosa e no tecido linfoide das amígdalas e faringe, e, mais tarde, o vírus infecta células linfoides das placas de Peyer subjacentes à mucosa intestinal. A viremia primária dissemina o vírus aos tecidos-alvo que possuem receptores, incluindo as células reticuloendoteliais dos linfonodos, baço e fígado, para iniciar uma segunda fase de replicação viral, que resulta em uma viremia secundária e sintomas.

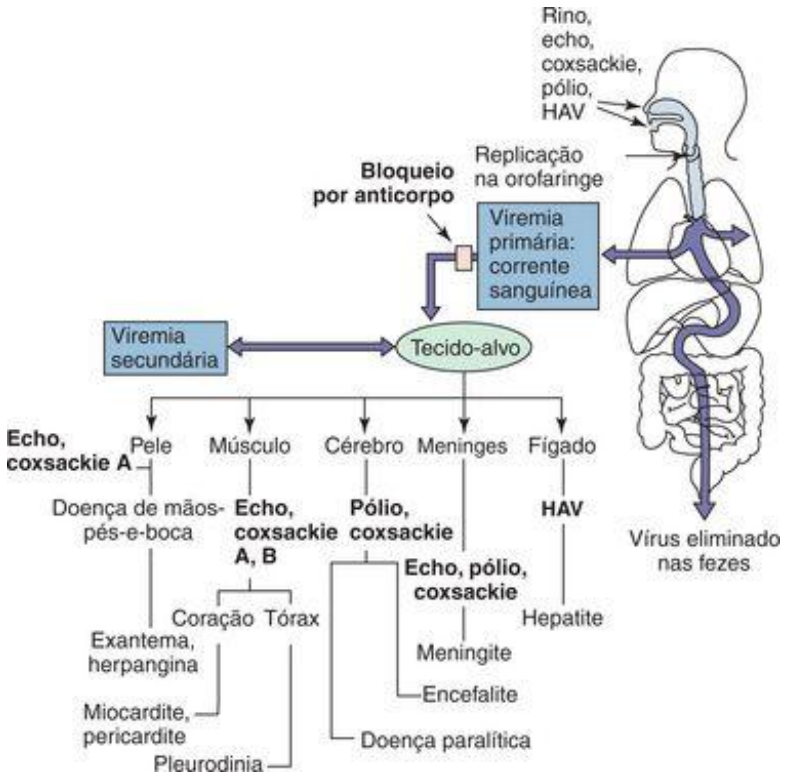


Figura 56-4 Patogênese da infecção por enterovírus. O tecido-alvo infectado pelo enterovírus determina a doença predominante causada pelo vírus. Coxsackie, coxsackievírus; echo, echovírus; HAV, vírus da hepatite A; pólio, poliovírus; rino, rinovírus.

Quadro 56-3 Mecanismos Patológicos dos Picornavírus

Os enterovírus entram pela orofaringe, mucosa intestinal ou pelo trato respiratório superior e infectam o tecido linfático subjacente; os rinovírus são restritos ao trato respiratório superior.

Na ausência de anticorpo sérico, os enterovírus se disseminam por viremia às células de um tecido-alvo que apresenta receptores.

Diferentes picornavírus se ligam a diferentes receptores, muitos dos quais são membros da superfamília das imunoglobulinas (p. ex., ICAM-1)

O tecido-alvo infectado determina a doença subsequente.

Os efeitos patológicos virais, em vez de imunes, são geralmente responsáveis por causarem

sintomas de doença.

A resposta de anticorpo sérico é transitória, mas pode impedir o início da infecção.

Anticorpo sérico bloqueia a disseminação virêmica ao tecido-alvo, evitando sintomas.

Enterovírus é eliminado nas fezes durante longos períodos.

A infecção é frequentemente assintomática ou causa doença branda, semelhante à gripe, ou no trato respiratório superior.

A maioria dos enterovírus é citolítica, se replicando rapidamente e causando dano direto à célula-alvo. O vírus da hepatite A é a exceção, por não ser muito citolítico. A cinética da resposta imune à hepatite A se correlaciona com o aparecimento de sintomas, indicando imunopatogênese.

No caso dos poliovírus, o vírus ganha acesso ao cérebro infectando o músculo esquelético viajando pelos nervos que o inervam até o cérebro, como o vírus da raiva (Cap. 60). O vírus é citolítico para os neurônios motores do corno anterior e tronco cerebral. A localização e o número de células nervosas destruídas pelo vírus governam a extensão da paralisia e se/quando outros neurônios podem reinervar o músculo e restaurar a atividade. A perda combinada de neurônios para a pólio e a idade avançada pode resultar em paralisia mais tarde na vida, chamada **síndrome pós-pólio**.

A eliminação de vírus pela orofaringe pode ser detectada durante um curto tempo antes que os sintomas apareçam, enquanto a produção viral e sua liberação pelo intestino podem durar 30 dias ou mais, mesmo na presença de uma resposta imune humoral.

A produção de anticorpos é a principal resposta imune protetora contra os enterovírus. Anticorpos secretórios podem prevenir o estabelecimento inicial de infecção na orofaringe e no trato gastrointestinal, e anticorpos séricos evitam disseminação virêmica ao tecido-alvo e, portanto, doença. A evolução cronológica do desenvolvimento de anticorpos depois da infecção com uma vacina viva está apresentada na Figura 56-10.

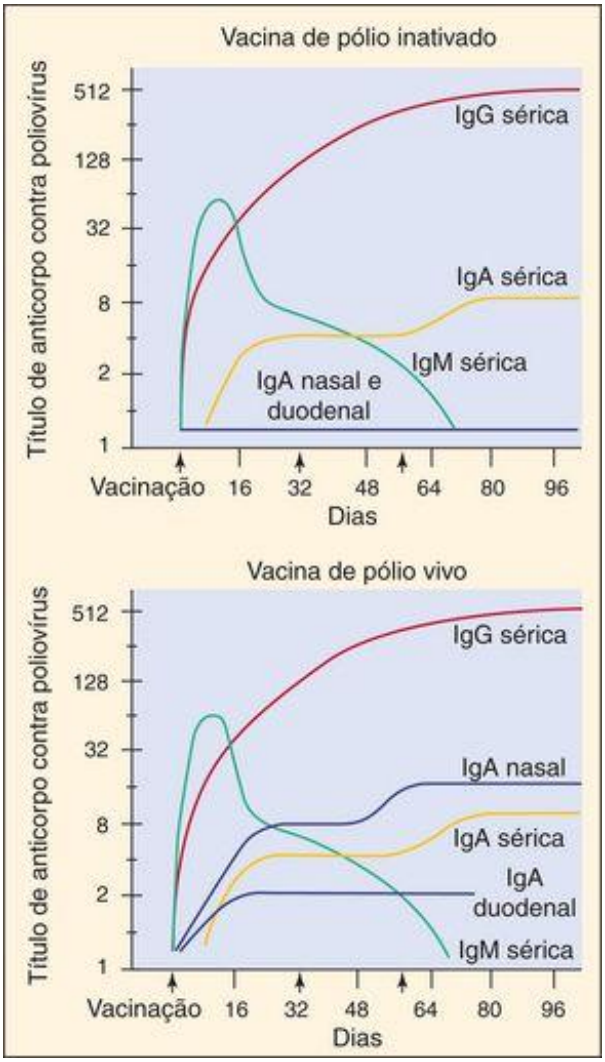


Figura 56-10 Resposta de anticorpo sérico e secretório à inoculação intramuscular da vacina de pólio inativado e à vacina de pólio vivo atenuado, administrada oralmente. Observe a presença de IgA secretória induzida pela vacina de pólio vivo.

(Redesenhado de Ogra P, et al: Rev Infect Dis 2:352-369, 1980. Copyright 1980, University of Chicago Press.)

A imunidade celular geralmente não está envolvida na proteção, mas pode desempenhar um papel na patogênese. O vírus da hepatite A é a exceção, pois as células T são importantespara a resolução da doença e são o determinante principal da patogênese. As células T também parecem contribuir para a patogênese da miocardite induzida por vírus coxsackie B em camundongos.

Epidemiologia

Os enterovírus são exclusivamente patógenos humanos (Quadro 56-4). Como sugere o nome, estes vírus se disseminam principalmente pela via **fecal-oral**. **Eliminação assintomática** pode ocorrer durante até um mês, espalhando vírus para o ambiente. Saneamento insatisfatório e condições de vida de superpovoamento favorecem a transmissão dos vírus (Fig. 56-5). Contaminação do suprimento de água por esgoto pode resultar em epidemias de enterovírus. Surtos de doença por enterovírus são observados em escolas e creches, e o verão é a principal estação para estes surtos da doença. Os coxsackievírus e echovírus também podem ser disseminados em gotículas de aerossol e causar infecções do trato respiratório.

Quadro 56-4 Epidemiologia das Infecções por Enterovírus

Doença/Fatores Virais

A natureza da doença se correlaciona com enterovírus específicos e a idade do indivíduo.

A infecção é frequentemente assintomática, com eliminação viral. O vírion é resistente às condições ambientais (detergentes, ácido, secagem, tratamento brando de esgoto e calor).

Transmissão

Via fecal-oral: má higiene, fraldas sujas (especialmente em creches). Ingestão de alimentos e água contaminados.

Contato com mãos e fômites infectados.

Inalação de aerossóis infecciosos.

Quem Está sob Risco?

Crianças jovens sob risco de pólio (doenças assintomática ou branda).

Crianças mais velhas e adultos: sob risco de pólio (de doença assintomática a paralítica).

Lactentes e neonatos: sob mais alto risco de doença grave por coxsackievírus e enterovírus.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus tem distribuição mundial; pólio de tipo selvagem está praticamente erradicada nos países desenvolvidos por causa de programas de vacinação.

A doença é mais comum no verão.

Meios de Controle

Para pólio, vacina de pólio vivo oral (OPV trivalente) ou vacina de pólio inativado (IPV) trivalente é administrada.

Para outros enterovírus, não há vacina; boa higiene limita a disseminação.

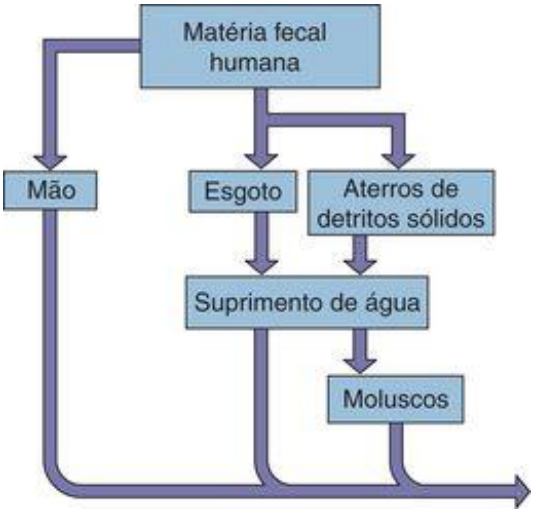


Figura 56-5 Transmissão de enterovírus. A estrutura do capsídeo é resistente a tratamento brando de esgoto, água salgada, detergentes e mudanças de temperatura, possibilitando que estes vírus sejam transmitidos pela via fecal-oral, por fômites e pelas mãos.

Com o sucesso das vacinas de pólio, o poliovírus tipo selvagem foi eliminado do hemisfério ocidental (Fig. 56-6) e da maioria de outros, mas não do mundo todo. A pólio paralítica ainda é prevalente na África e permanece endêmica no Afeganistão, Paquistão, Índia e Nigéria. A pólio tipo selvagem também ocorre em áreas onde a vacina não é disponível e em comunidades onde a vacinação contraria crenças religiosas ou outras doutrinas. Um número pequeno, mas significativos, de casos de pólio relacionados com vacina resulta da reversão do vírus vivo vacinal com o restabelecimento de sua neurovirulência. Estas ocorrências levam a um estímulo para o uso da vacina de pólio inativada. Os poliovírus são disseminados mais frequentemente durante o verão e outono.

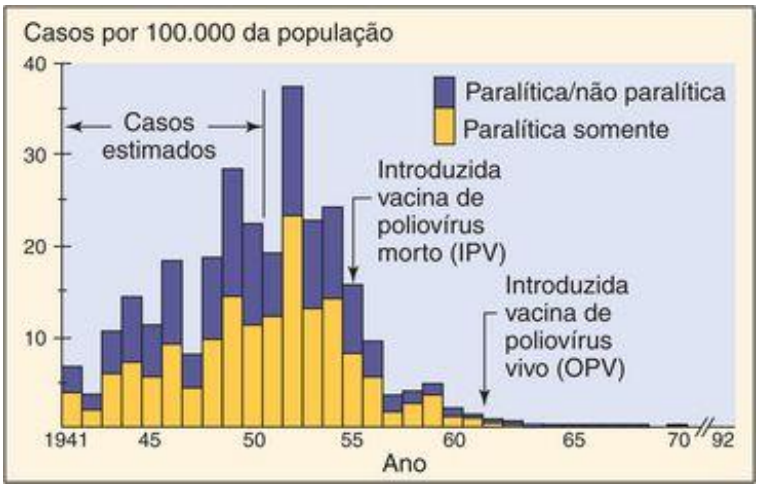


Figura 56-6 Incidência de pólio nos Estados Unidos. A vacina de poliovírus morto (inativada) (IPV) foi introduzida em 1955, e a vacina de poliovírus vivo (oral) (OPV) foi

introduzida em 1961 e 1962. Pólio do tipo selvagem foi erradicada nos Estados Unidos.

(Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention: Immunization Against Disease: 1972. Washington, DC, U.S. Government Printing Office, 1973.)

A pólio paralítica foi considerada uma doença da classe média, porque a boa higiene retardaria a exposição de uma pessoa ao vírus até a infância avançada, os anos da adolescência ou a idade adulta, quando a infecção produziria os sintomas mais graves. A infecção no início da infância geralmente resulta em doença assintomática ou muito branda.

Tal como a infecção por poliovírus, a doença por vírus coxsackie A geralmente é mais grave em adultos que em crianças. Entretanto, vírus coxsackie B e alguns dos echovírus (especialmente, echovírus 11) podem ser particularmente danosos para crianças jovens.

Síndromes Clínicas

As síndromes clínicas produzidas pelos enterovírus são determinadas por vários fatores, incluindo: (1) sorotipo viral; (2) dose infectante; (3) tropismo tecidual; (4) porta de entrada; (5) idade, gênero e estado de saúde do paciente; e (6) gravidez (Tab. 56-1). O período de incubação nas doenças causadas por enterovírus varia de 1 a 35 dias, dependendo do vírus, do tecido-alvo e da idade da pessoa. Os vírus que afetam os sítios orais e respiratórios têm períodos de incubação mais curtos.

Tabela 56-1 Resumo das Síndromes Clínicas Associadas aos Principais Grupos de Enterovírus

Tabela 56-1. Resumo das Síndromes Clínicas Associadas aos Principais Grupos de Enterovírus

Síndrome	Ocorrência	Poliovírus	Vírus Coxsackie A	Vírus Coxsackie B	Echovírus
Doença paralítica	Esporádica	+	+	+	+
Encefalite, meningite	Surtos	+	+	+	+
Cardite	Esporádica		+	+	+
Doença neonatal	Surtos			+	+
Pleurodinia	Surtos			+	
Herpangina	Comum		+		
Doença de mãos-pés-e-boca	Comum		+		
Doença eruptiva	Comum		+	+	+
Conjuntivite hemorrágica aguda	Epidêmica		+		
Infecções do trato respiratório	Comum	+	+	+	+
Febre indiferenciada	Comum	+	+	+	+
Diarreia, doença gastrointestinal	Incomum				+
Diabetes, pancreatite	Incomum			+	
Orquite	Incomum			+	
Doença em pacientes imunodeficientes	–	+	+		+
Anomalias congênitas	Incomum		+	+	

Infecções por Poliovírus

Infecções por pólio tipo selvagem são raras pelo sucesso das vacinas contra pólio (Fig. 56-6). Entretanto, como assinalado anteriormente, casos de pólio associados à vacina ocorrem e algumas populações permanecem sem se vacinar, colocando-se em risco de infecção. O poliovírus pode causar um dos quatro resultados seguintes em pessoas não vacinadas, dependendo da progressão da infecção (Fig. 56-7):

1. **Doença sintomática**, se a infecção viral for limitada à orofaringe e ao intestino. Pelo menos 90% das infecções por poliovírus são assintomáticas.

2. **Poliomielite abortiva**, a **doença menor**, é uma doença febril inespecífica que ocorre em aproximadamente 5% das pessoas infectadas. Febre, cefaleia, mal-estar, dor de garganta e

vômito ocorrem nessas pessoas dentro de 3 a 4 dias da exposição.

3. **Poliomielite não paralítica** ou **meningite asséptica** ocorre em 1% a 2% dos pacientes com infecções por poliovírus. Nesta doença, o vírus progride para o sistema nervoso central e as meninges, causando dor nas costas e espasmos musculares, além dos sintomas da doença menor.

4. **Pólio paralítica**, a **doença maior**, ocorre em 0,1% a 2% das pessoas com infecções por poliovírus e é o resultado mais grave. Aparece 3 a 4 dias depois que a doença menor regrediu, produzindo uma enfermidade bifásica. Nesta doença, o vírus se dissemina do sangue para as **células do corno anterior** da medula espinhal e para o córtex motor do cérebro. A gravidade da paralisia é determinada pela extensão da infecção neuronal e de quais neurônios sejam afetados. A paralisia espinhal pode comprometer um ou mais membros, enquanto a paralisia bulbar (craniana) pode envolver uma combinação de nervos cranianos e mesmo o centro respiratório medular.

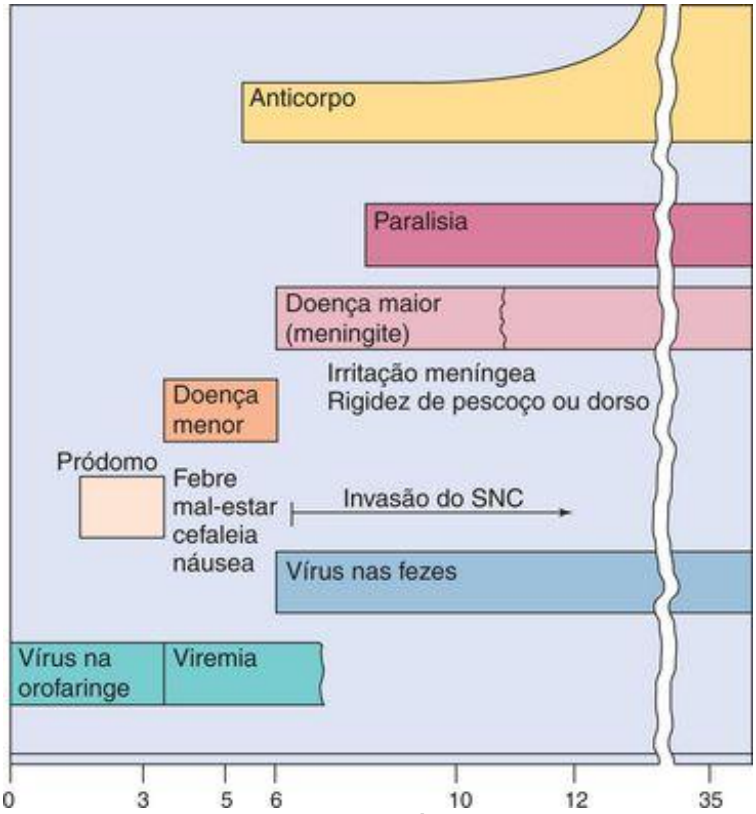


Figura 56-7 Progressão da infecção por poliovírus. A infecção pode ser assintomática ou pode progredir para doença menor ou maior. SNC, sistema nervoso central.

A **poliomielite paralítica** é caracterizada por uma paralisia flácida, assimétrica, sem perda sensitiva: O poliovírus do tipo 1 é responsável por 85% dos casos de pólio paralítica. A reversão à virulência dos vírus vacinais atenuados dos tipos 2 e 3 pode causar doença associada à vacina.

O grau de paralisia varia pelo fato de que pode envolver apenas alguns grupos musculares (p. ex., uma perna), ou pode haver paralisia flácida completa de todas as quatro extremidades. A paralisia pode progredir durante os primeiros dias e resultar em recuperação completa, paralisia residual ou morte. A maioria das recuperações ocorre dentro de 6 meses, mas em até 2 anos podem ser necessários para remissão completa.

A **poliomielite bulbar** pode ser mais grave, envolvendo os músculos da faringe, as cordas vocais e a respiração, além de resultar na morte de 75% dos pacientes. Pulmões de aço e câmaras que forneciam compressão respiratória externa foram usados nos anos de 1950 para assistir a respiração de pacientes com essa poliomielite. Antes dos programas de vacinação, pulmões de aço enchiam as enfermarias dos hospitais infantis.

A **síndrome pós-pólio** é uma sequela da poliomielite que pode ocorrer muito mais tarde na vida (30 a 40 anos mais tarde) em 20% a 80% das vítimas originais. As pessoas afetadas sofrem uma deterioração dos músculos originalmente afetados. O poliovírus não está presente, mas admite-se que a síndrome resulte na perda de neurônios dos nervos inicialmente afetados.

Infecções por Coxsackievírus e Echovírus

Várias síndromes clínicas podem ser causadas por coxsackievírus ou echovírus (p. ex., meningite asséptica), mas certas enfermidades são especificamente associadas aos coxsackievírus. Os vírus coxsackie A são associados a doenças envolvendo lesões vesiculares (p. ex., herpangina), enquanto os vírus coxsackie B (**B, de *body***) são mais frequentemente associados à miocardite e pleurodinia. Os coxsackievírus também podem causar uma doença paralítica semelhante à pólio (Caso Clínico 56-1). O resultado mais comum da infecção é a ausência de sintomas ou doença branda do trato respiratório superior ou sintomas semelhantes aos da gripe.

Caso Clínico 56-1 Doença Semelhante à Pólio por Vírus Coxsackie A

Caso relatado por Yoshimura e Kurashige (Brain Dev 20:540-542, 1998), ocorrido em paciente com 4 anos de idade admitido em hospital devido a sintomas de dor e distensão abdominais, inabilidade para urinar e incapacidade para andar. Todos os reflexos abdominais foram perdidos pelo paciente, acompanhados de disfunção da bexiga e do reto. A sensação à dor e ao calor se apresentava normal. O LCR (líquido cefalorraquidiano) mostrou um aumento na contagem de células, 393 células/mm^3, com 95% de neutrófilos e 5% de linfócitos. A proteína e a glicose do LCR estavam dentro dos valores normais. A análise sorológica foi negativa para poliovírus, ECHO (echovírus) e tipos de vírus Coxsackie (A4, A7, A9, B1, B5), patógenos relatados como causadores da doença paralítica semelhante à poliomielite. Anticorpos contra Coxsackie A 10 foram detectados durante a fase aguda (título = 128) e após 4 semanas (título = 32). Após 3 semanas, o paciente podia andar novamente mas as disfunções brandas da bexiga e do reto permaneceram, mesmo 3 meses após a admissão. Ainda que a imunização rotineira contra a pólio tenha eliminado a doença natural na maior parte do mundo, doenças semelhantes podem ser causadas por outros picornavírus e por reversão às formas virulentas de cepas relacionadas à vacina.

Herpangina é causada por vários tipos de vírus coxsackie A e não é relacionada a uma infecção por herpesvírus. Febre, dor de garganta, dor à deglutição, anorexia e vômito caracterizamesta doença. O achado clássico são lesões vesiculares ulceradas em torno do palato mole e da úvula (Fig. 56-8). Menos tipicamente, as lesões afetam o palato duro. O vírus pode ser recuperado das lesões ou das fezes. A doença é autolimitada e necessita apenas de tratamento sintomático.

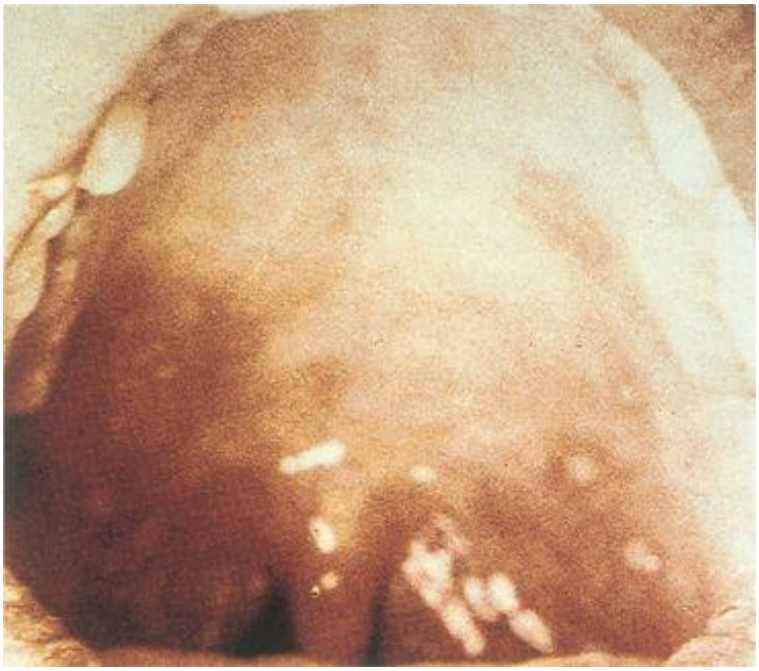


Figura 56-8 Herpangina. Vesículas discretas características são vistas nos pilares amigdalianos anteriores.

(Cortesia de Dr. GDW McKendrock. From Lambert HP, et. al: Infectious Diseases Illustrated. London, Gower, 1982.)

Doença de mãos-pés-e-boca é um exantema vesicular geralmente causado por coxsackievírus A16. O nome é descritivo porque os principais aspectos desta infecção consistem em lesões vesiculares em mãos, pé, boca e língua (Fig. 56-9). O paciente apresenta febre branda e a enfermidade regride em poucos dias.

Figura 56-9 Doença de mãos-pés-e-boca causada pelo vírus Coxsackie A. As lesões aparecem inicialmente na cavidade oral e, então, desenvolvem-se dentro de 1 dia nas palmas e, como visto aqui, nas plantas dos pés.

(De Habif TP: Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnosis and Therapy, 3rd ed. St Louis, Mosby, 1996.)

Pleurodinia (**doença de Bornholm**), também conhecida como **agarrão do diabo**, é uma doença aguda na qual os pacientes têm um início súbito de febre e dor torácica baixa unilateral, dor pleurítica que pode ser excruciante. Dor abdominal e mesmo vômito também pode ocorrer, e os músculos no lado comprometido podem estar extremamente sensíveis à palpação. A pleurodinia dura em média 4 dias, mas pode recidivar depois que a condição esteve assintomática por vários dias. Vírus coxsackie B é o agente causador.

Infecções miocárdicas e **pericárdicas** causadas por vírus coxsackie B ocorrem

esporadicamente em crianças mais velhas e adultos, porém são mais ameaçadoras em recém-nascidos. Os neonatos com estas infecções têm doença febril e início súbito e inexplicado de insuficiência cardíaca. Cianose, taquicardia, cardiomegalia e hepatomegalia ocorrem. Alterações eletrocardiográficas são encontradas em pacientes com miocardite. A mortalidade associada à infecção é alta, e a autópsia revela tipicamente o comprometimento de outros sistemas de órgãos, incluindo cérebro, fígado e pâncreas. Pericardite aguda benigna afeta adultos jovens, mas pode ser vista em pessoas mais velhas. Os sintomas se assemelham aos do infarto do miocárdio com febre.

Meningite viral (**asséptica**) é uma doença febril aguda acompanhada por cefaleia e sinais de irritação meníngea, inclusive com rigidez de nuca. Petéquias ou exantema podem ocorrer em pacientes com meningite enteroviral. A recuperação usualmente é tranquila, a menos que a enfermidade seja associada à encefalite (meningoencefalite) ou ocorra em crianças com menos de 1 ano. Surtos de meningite por picornavírus (echovírus 11) ocorrem a cada ano no verão e outono.

Febre, erupção e sintomas semelhantes ao resfriado comum podem ocorrer em pacientes infectados com echovírus ou coxsackievírus. A erupção é geralmente maculopapular, mas pode ocasionalmente ser petequial ou mesmo vesicular. O tipo petequial de erupção deve ser diferenciado daquele da meningococemia. Os sintomas de infecção enteroviral são menos intensos para a criança do que a meningococemia. Coxsackievírus A21 e A24 e echovírus 11 e 20 podem causar sintomas semelhantes aos rinovírus, parecendo com o resfriado comum.

Outras Doenças Causadas por Enterovírus

O enterovírus 70 e uma variante do coxsackievírus A24 foram associados a uma doença ocular extremamente contagiosa, **conjuntivite hemorrágica aguda**. A infecção causa hemorragias subconjuntivais e conjuntivite. A doença tem um período de incubação de 24 horas e se resolve dentro de 1 ou 2 semanas. Algumas cepas de vírus coxsackie B e echovírus podem ser transmitidas ao feto por via transplacentária. Infecção do feto ou de um bebê por esta ou outra via pode produzir doença disseminada grave. Infecções do pâncreas por vírus coxsackie B foram consideradas suspeitas de causar diabetes insulino-dependente como resultado da destruição das ilhotas de Langerhans.

Diagnóstico Laboratorial

Bioquímica Clínica

O líquido cefalorraquidiano (LCR) de meningite asséptica por poliovírus ou enterovírus revela uma pleocitose (presença de 25 a 500 células/mm^3) predominantemente linfocítica. Em contraste com a meningite bacteriana, o LCR na meningite viral não apresenta neutrófilos e o nível de glicose é geralmente normal ou levemente baixo. A concentração de proteína no LCR é de normal a levemente elevada. O LCR raramente é positivo para o vírus.

Cultura

Poliovírus podem ser isolados da faringe do paciente durante os primeiros dias de doença, das fezes até 30 dias mas apenas raramente do LCR. O vírus cresce bem em cultura de tecido do rim de macaco. Coxsackievírus e echovírus geralmente podem ser isolados da garganta e das fezes durante a infecção e muitas vezes do LCR em pacientes com meningite. O vírus raramente é isolado de pacientes com miocardite, porque os sintomas ocorrem várias semanas após a infecção inicial. Os vírus coxsackie B podem ser cultivados em células primárias de rim de macaco ou de embrião humano. Entretanto, muitas amostras de vírus coxsackie A não crescem em cultura de tecido e ainda precisam ser cultivadas em camundongos lactentes.

Estudos de Genoma e Sorologia

O tipo exato de enterovírus pode ser determinado através do uso de ensaios específicos de anticorpo e antígeno (p. ex., neutralização, imunofluorescência, ensaio imunoabsorvente ligado à enzima) ou detecção de RNA viral específico por reação em cadeia da polimerase após o uso da transcriptase reversa (RT-PCR). RT-PCR de amostras clínicas se tornou um método rápido e de rotina para confirmar o diagnóstico de meningite por echovírus 11 em crianças e de outras doenças por picornavírus.

A sorologia é usada para confirmar infecções por enterovírus, através da detecção de imunoglobulina (IgM) específica ou de um aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre o momento da doença aguda e o período de convalescença. Esta abordagem pode não ser prática para a detecção de echovírus e coxsackievírus, por seus numerosos sorotipos, a não ser que se suspeite de um vírus específico.

Tratamento, Prevenção e Controle

Uma nova droga antiviral, pleconaril, está disponível de modo limitado. A droga inibe a penetração de picornavírus nas células e deve ser administrada precocemente no curso da infecção.

A prevenção da poliomielite paralítica é um dos triunfos da medicina moderna. Em 1979, as infecções pelo poliovírus tipo selvagem desapareceram dos Estados Unidos, com o número de casos de pólio diminuindo de 21.000 por ano, na era pré-vacina, para 18 em pacientes não vacinados em 1977. Como no caso da varíola, a erradicação da pólio foi estabelecida como objetivo. A distribuição de assistência à saúde nos países subdesenvolvidos é mais difícil e, por esta razão, a doença viral do tipo selvagem ainda existe na África, no Oriente Médio e na Ásia. Má informação, má compreensão e inquietação política na África e outras partes do mundo também limitaram a aceitação da vacina contra a pólio. Novos programas mundiais de vacinação vêm sendo elaborados para alcançar o objetivo.

Os dois tipos de vacina de poliovírus são (1) **vacina de pólio inativada** (**IPV**); desenvolvida por Jonas Salk; e (2) **vacina de pólio oral atenuada viva** (**OPV**), desenvolvida por Albert Sabin. Ambas incorporam as três amostras de pólio, são estáveis, relativamente baratas e induzem uma resposta de anticorpo protetora (Fig. 56-10). A IPV foi provada eficaz em 1955, mas a vacina oral tomou seu lugar por ser barata, fácil de administrar e induzir imunidade durante toda a vida (Tab. 56-2).

Tabela 56-2 Vantagens e Desvantagens das Vacinas de Pólio

Vacina	Vantagens	Desvantagens
Viva (vacina contra pólio oral)	Eficaz Imunidade por toda vida Indução de resposta de anticorpo secretório similar àquela da infecção natural A disseminação de vírus atenuado circulando entre os contatos promove a imunização indireta (imunidade de rebanho) Barata e fácil de administrar Não é necessária a repetição da vacina de reforço	Risco de poliomielite associada à vacina nos receptores e seus contatos; disseminação viral aos contatos sem o seu consentimento Administração sem segurança em pacientes imunodeficientes
Vacina de pólio inativado	Eficaz Boa estabilidade durante o transporte e na estocagem Administração segura em pacientes imunodeficientes Nenhum risco de doença relacionada com a vacina	Ausência de indução de anticorpo secretório A vacina de reforço é necessária para a imunidade por toda vida Requer seringas e agulhas estéreis Injeção mais dolorosa que a administração oral Necessários níveis mais altos de imunização da comunidade do que com a vacina viva

A OPV foi **atenuada** (*i.e.*, tornada menos virulenta) pela passagem em culturas de células humanas ou de macaco. A atenuação produziu um vírus capaz de replicar-se na orofaringe e no trato intestinal, mas não é capaz de infectar células neuronais. Uma virtude adicional da cepa vacinal viva é ela ser eliminada nas fezes durante semanas e disseminada aos contatos próximos. A disseminação imunizará ou reimunizará os contatos próximos, assim promovendo imunização em massa. Os principais inconvenientes da vacina viva são que (1) o vírus vacinal pode infectar um indivíduo imunologicamente comprometido; e (2) existe um potencial remoto para o vírus reverter à sua forma virulenta e causar doença paralítica. A incidência de doença paralítica é estimada em uma por 4 milhões de doses administradas *(versus* uma em 100 pessoas infectadas com o poliovírus tipo selvagem).

Na ausência de poliovírus tipo selvagem, as novas recomendações indicam o uso da IPV para vacinação de rotina. As crianças devem receber a IPV aos 2, 4 e 15 meses e depois aos 4 a 6 anos de idade. Alternativamente, as primeiras duas doses de IPV podem ser seguidas por OPV.

Não há vacinas para coxsackievírus ou echovírus. A transmissão destes vírus presumivelmente pode ser reduzida por melhorias na higiene e nas condições de vida.

Rinovírus

Os rinovírus são a causa mais importante do **resfriado comum** e infecções do trato respiratório superior. Essas infecções, no entanto, são autolimitadas e não causam doença grave. Mais de 100 sorotipos de rinovírus foram identificados. Pelo menos 80% dos rinovírus têm um receptor comum que também é usado por alguns dos coxsackievírus. Este receptor foi identificado como ICAM-1, um membro da superfamília das imunoglobulinas, que é expresso em células epiteliais, fibroblastos e células B linfoblastoides.

Patogênese e Imunidade

Diferente dos enterovírus, os rinovírus são **incapazes de se replicar no trato gastrointestinal** (Quadro 56-3). Os rinovírus são **sensíveis a pH ácido**. Por outro lado, **crescem melhor a 33°C**, uma característica que pode ser parcialmente responsável por sua predileção pelo ambiente mais frio da mucosa nasal. A infecção pode ser iniciada por apenas uma partícula viral infecciosa. Durante o pico da doença, as secreções nasais contêm concentrações de 500 a 1.000 vírions infecciosos por mililitro. O vírus entra através do nariz, da boca ou dos olhos e inicia a infecção do trato respiratório superior, inclusive a garganta. A maior parte da replicação viral ocorre no nariz, e o início e a gravidade dos sintomas se correlacionam com o tempo de eliminação viral e a quantidade (título) de vírus produzido. As células infectadas liberam bradicinina e histamina, as quais causam o "corrimento nasal".

O interferon, gerado em resposta à infecção, pode limitar a progressão da infecção e contribuir para os sintomas. Curiosamente, a liberação de citocinas durante a inflamação pode promover a disseminação do vírus ao aumentar a expressão de receptores virais ICAM-1.

A imunidade aos rinovírus é transitória e provavelmente não impede uma infecção subsequente, por causa dos numerosos sorotipos do vírus. Tanto anticorpo IgA secretório nasal quanto IgG sérico são induzidos por uma infecção primária por rinovírus e podem ser detectados dentro de uma semana da infecção. A resposta de IgA secretória dissipa-se rapidamente e a imunidade começa a diminuir aproximadamente 18 meses após a infecção. A imunidade celular provavelmente não desempenha um papel importante no controle de infecções por rinovírus.

Epidemiologia

Os rinovírus causam pelo menos a metade de todas as infecções do trato respiratório superior (Quadro 56-5). Outros agentes que podem causar os sintomas do resfriado comum são enterovírus, coronavírus, adenovírus e vírus parainfluenza. Os rinovírus podem ser transmitidos por dois mecanismos: como aerossóis e em fômites (p. ex., pelas mãos ou sobre objetos inanimados contaminados). As mãos parecem constituir o principal vetor e o contato direto de pessoa a pessoa é o modo predominante de disseminação. Estes vírus não envelopados são extremamente estáveis e podem sobreviver nesses objetos durante muitas horas.

Quadro 56-5 Epidemiologia das Infecções por Rinovírus

Doença/Fatores Virais

O vírion é resistente à secagem e detergentes.

Múltipos sorotipos impedem imunidade prévia.

A replicação ocorre à temperatura ótima de 33°C e a temperaturas mais frias.

Transmissão

Contato direto por mãos e fômites infectados.

Inalação de gotículas infecciosas.

Quem Está sob Risco?

Pessoa de todas as idades.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado mundialmente.

A doença é mais comum no início do outono e final da primavera.

Meios de Controle

Lavagem das mãos e desinfecção de objetos contaminados limita a disseminação.

Os rinovírus produzem doença clínica em apenas metade das pessoas infectadas. Pessoas assintomáticas também são capazesde disseminar o vírus, apesar de poderem produzir menor quantidade do mesmo.

Os “resfriados” por rinovírus ocorrem frequentemente no começo do outono e no final da primavera, em pessoas vivendo nos climas temperados. Isto pode refletir padrões sociais (p. ex., retorno à escola e à creche) em vez de qualquer alteração no próprio vírus.

As taxas de infecção são mais altas em lactentes e crianças. As crianças de menos de dois anos “compartilham” seus resfriados com suas famílias. Infecções secundárias ocorrem em aproximadamente 50% dos membros da família, especialmente outras crianças.

Muitos sorotipos diferentes de rinovírus podem ser encontrados em uma comunidade durante uma estação específica de frio, mas as cepas predominantes geralmente são os sorotipos recém-identificados. Este padrão indica a existência de uma variação antigênica gradual (mutação), semelhante à observada no vírus influenza.

Síndromes Clínicas (Quadro 56-6)

Os sintomas do resfriado comum causado por rinovírus não podem ser facilmente distinguidos daqueles causados por outros patógenos respiratórios virais (p. ex., enterovírus, paramixovírus, coronavírus). Uma infecção do trato respiratório superior geralmente começa com espirros, o que é logo seguido por rinorreia (corrimento nasal). A rinorreia aumenta e é então acompanhada por sintomas de obstrução nasal. Também ocorre dor de garganta branda, juntamente com cefaleia e mal-estar. A doença chega ao ápice em 3 a 4 dias, mas a tosse e os sintomas nasais podem persistir por 7 a 10 dias ou mais.

Quadro 56-6 Resumos Clínicos

Pólio: Uma menina de 12 anos, do Quênia, apresenta cefaleia, febre, náusea e pescoço rígido. Os sintomas regridem e então recidivam após vários dias, com fraqueza e paralisia das pernas. Ela não tem história de imunização contra pólio.

Vírus Coxsackie A

Herpangina: Lesões vesiculares na língua e no céu da boca de um paciente de 7 anos de idade acompanham febre, dor de garganta e dor à deglutição.

Vírus Coxsackie B (*B de body*)

Pleurodinia: Um menino de 13 anos de idade apresenta febre e dor torácica severa, com cefaleia, fadiga e dores musculares durante 4 dias.

Coxsackie ou Echovírus

Meningite asséptica: Um lactente de 7 meses com febre e exantema se apresenta apático, com rigidez de nuca. Uma amostra do seu líquido cefalorraquidiano contém linfócitos, mas tem glicose normal e ausência de bactérias. A recuperação completa ocorre dentro de uma semana.

Resfriado Comum (Rinovírus)

Uma pessoa de 25 anos de idade desenvolve corrimento nasal, tosse branda e mal-estar com febre baixa. Um colega de escritório teve sintomas semelhantes durante os últimos dias.

Diagnóstico Laboratorial

A síndrome clínica do resfriado comum é geralmente tão característica que o diagnóstico laboratorial é desnecessário. O vírus pode ser isolado de lavados nasais. Os rinovírus são cultivados em células fibroblásticas diploides humanas (p. ex., WI-38) a 33°C. O vírus é identificado pelo efeito citopático típico e a demonstração de sensibilidade a ácido. Sorotipagem raramente é necessária, mas pode ser efetuada com o uso de misturas de soros neutralizantes específicos. A execução de testes sorológicos para documentar infecção por rinovírus não é prática.

Tratamento, Prevenção e Controle

Existem muitos medicamentos livremente comercializados para o resfriado comum. Vasoconstritores nasais podem trazer alívio, mas o seu uso pode ser seguido por congestão e piora dos sintomas. Inalante quente, ar umidificado e até o vapor de sopa quente de galinha podem realmente ajudar aumentando a drenagem nasal.

As drogas antivirais não são efetivas. Pleconaril e drogas similares antivirais experimentais (p. ex., arildona, rodanina, disoxaril) contêm um grupo 3-metilisoxazol, que se insere na base da fenda de ligação ao receptor e bloqueia o desencapsidamento do vírus. A enviroxima inibe a RNA polimerase RNA-dependente viral. Um análogo do receptor polipeptídico baseado na estrutura da proteína ICAM-l está sob avaliação como droga antiviral. A administração intranasal de interferon pode bloquear a infecção durante um curto tempo depois de uma exposição conhecida, mas seu uso em longo prazo (p. ex., durante toda a "estação fria") poderia causar sintomas pelo menos tão desagradáveis quanto os das infecções por rinovírus.

O rinovírus não é um bom candidato a um programa de vacina. Os múltiplos sorotipos, a aparente variação antigênica (mutação) nos antígenos rinovirais, a necessidade de produção de IgA secretória e a transitoriedade da resposta de anticorpos são importantes problemas para o desenvolvimento de vacinas. Além disso, a relação benefício-risco seria muito baixa, porque os rinovírus não causam doença significativa.

Lavagem das mãos e desinfecção de objetos contaminados são os melhores meios de prevenir a disseminação do vírus. Lenços faciais viricidas impregnados com ácido cítrico também podem limitar a disseminação do rinovírus.

Estudo de Caso e Questões

Uma menina de 6 anos de idade foi trazida ao consultório médico às 16:30h porque estava com dor de garganta, apresentava cansaço incomum e estava dormindo excessivamente. Sua temperatura era 39°C. Ela estava com dor de garganta, amígdalas aumentadas e um exantema fraco nas costas. Às 22:30h, a mãe da paciente informou que a criança tinha vomitado três vezes, continuava a dormir excessivamente e se queixava de dor de cabeça quando acordada.

O médico examinou a criança às 23:30h e notou que ela estava letárgica e acordava apenas quando sua cabeça era virada, queixando-se de que as suas costas doíam. Seu LCR (líquido cefalorraquidiano) não continha eritrócitos, mas havia 28 leucócitos/mm^3, metade neutrófilos polimorfonucleares e metade linfócitos. Os níveis de glicose e proteína no LCR estavam normais e a coloração de Gram de uma amostra de LCR mostrou ausência de bactérias.

1. Quais eram os sinais e sintomas-chave neste caso?

1. Os principais sinais e sintomas foram dores de garganta, febre, exantema fraco, sonolência excessiva, letargia, dores de cabeça, dor ao virar a cabeça. A presença de linfócitos no líquor e níveis normais de glicose e proteínas excluem o diagnóstico de uma infecção bacteriana.

2. Qual era o diagnóstico diferencial?

2. Este quando deve ser diferenciado de meningite asséptica causada por HSV, ou por um arbovírus das famílias *Bunyaviridae, Togaviridae* ou *Flaviviridae*. *Cryptococcus neoformans* (fungo), *Mycobacterium tuberculosis* ou *Borrelia burgdorferi* também são possíveis. No entanto, a presença de um prurido e dor de garganta antes dos sinais de meningite reforça a

possibilidade de uma infecção por enterovírus, como o vírus coxsackie A ou vírus ECHO. Alguns anos antes (cerca de 30 anos), a poliomielite também seria incluída no diagnóstico diferencial.

3. Que sinais e sintomas sugeriam uma infecção por enterovírus?

3. O prurido e dor de garganta no período prodrômico e a presença de neutrófilos e linfócitos no LCR distinguem uma meningite causada por enterovírus de meningite por outras causas microbianas.

4. Como o diagnóstico poderia ser confirmado?

4. A análise do LCR por RT-PCR (transcrição reversa seguida de PCR) poderia identificar o genoma de enterovírus na amostra e confirmar o diagnóstico.

5. Quais eram as fontes e os meios mais prováveis de infecção?

5. Enterovírus são disseminados pela via fecal-oral.

6. Quais eram os tecidos-alvo e os mecanismos de patogênese?

6. Os tecidos-alvo iniciais para os enterovírus são o epitélio muco-ciliado, amídalas, faringe e as placas de Peyer na mucosa intestinal. O vírus é citolítico.

Bibliografia

Ansardi D. et al: Poliovirus assembly and encapsidation of genomic RNA. *Adv Virus Res*. 1996;46:2-70.

Buenz EJ, Howe CL. Picornaviruses and cell death. *Trends Microbiol*. 2006;14:28-38.

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Centers for Disease Control and Prevention. Progress toward interruption of wild poliovirus transmission worldwide, January 2006-May 2007. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2007;56(26):682-685.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Levandowski RA. Rhinoviruses. Belshe RB, editor, 2nd ed. Textbook of Human Virology. St Louis: Mosby. 1991

McKinlay MA. et al: Treatment of the picornavirus common cold by inhibitors of viral uncoating and attachment. *Ann Rev Microbiol*. 1992;46:635-654.

Moore M, Morens DM. Enteroviruses including polioviruses. Belshe RB, editor, 2nd ed. Textbook of Human Virology. St Louis: Mosby. 1991.

Plotkin SA, Vidor E. Poliovirus vaccine—Inactive. In Plotkin SA, Orenstein WA, editors:

Vaccines, 4th ed., WB Saunders: Philadelphia, 2004.
Racaniello VR. One hundred years of poliovirus pathogenesis. *Virology*. 2006;344:9-16.
Robbins FC. The history of polio vaccine development. In Plotkin SA, Orenstein WA, editors: *Vaccines*, 4th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2004.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease. San Diego: Academic, 2002.
Sutter RW. et al: Poliovirus vaccine—Live. Plotkin SA, Orenstein WA, editors, 4th ed. *Vaccines*. Philadelphia: WB Saunders. 2004.
Tracy S, Chapman NM, Mahy BWJ. Coxsackie B Viruses (Curr Top Microbiol Immunol, vol 223. Berlin: Springer-Verlag, 1997.
Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.
Wilfert CM. et al: Enteroviruses and meningitis. *Pediatr Infect Dis*. 1983;2:333-341.

Sites

Hendrickson et al., Hendrickson CS, Sloan SB, Alsina-Gibert M. Llambrich-Mañes A: Enteroviral infections (2006, online): Disponível em. http://www.emedicine.com/derm/topic875.htm.
Larry et al., Larry I, Lutwick LI, Bron Y. Picornavirus-overview (2006, online): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic1831.htm.
Picornaviridae, Picornaviridae online. Disponível em Tolan RW, Jr, Nguyen NM, Korb JD: Rhinovirus infection (2006, online): Disponível em. http://www.picornaviridae.com, http://www.emedicine.com/ped/topic2707.htm.

57 Coronavírus Norovírus

Coronavírus

Os coronavírus (CoV) têm este nome devido ao aspecto semelhante à coroa solar (as projeções de superfície) de seus vírions, quando vistos num microscópio eletrônico (Fig. 57-1). Os coronavírus são a segunda causa mais prevalente do **resfriado comum** (os rinovírus são a primeira). Em 2002, um surto de **síndrome respiratória aguda grave (SARS)** na Província de Guangdong, Sul da China, se disseminou para Hong Kong e daí para todo o mundo. Foi demonstrado que a doença era causada por um coronavírus (**SARS-CoV**). Achados de microscopia eletrônica também ligaram os coronavírus a gastroenterites em crianças e adultos.

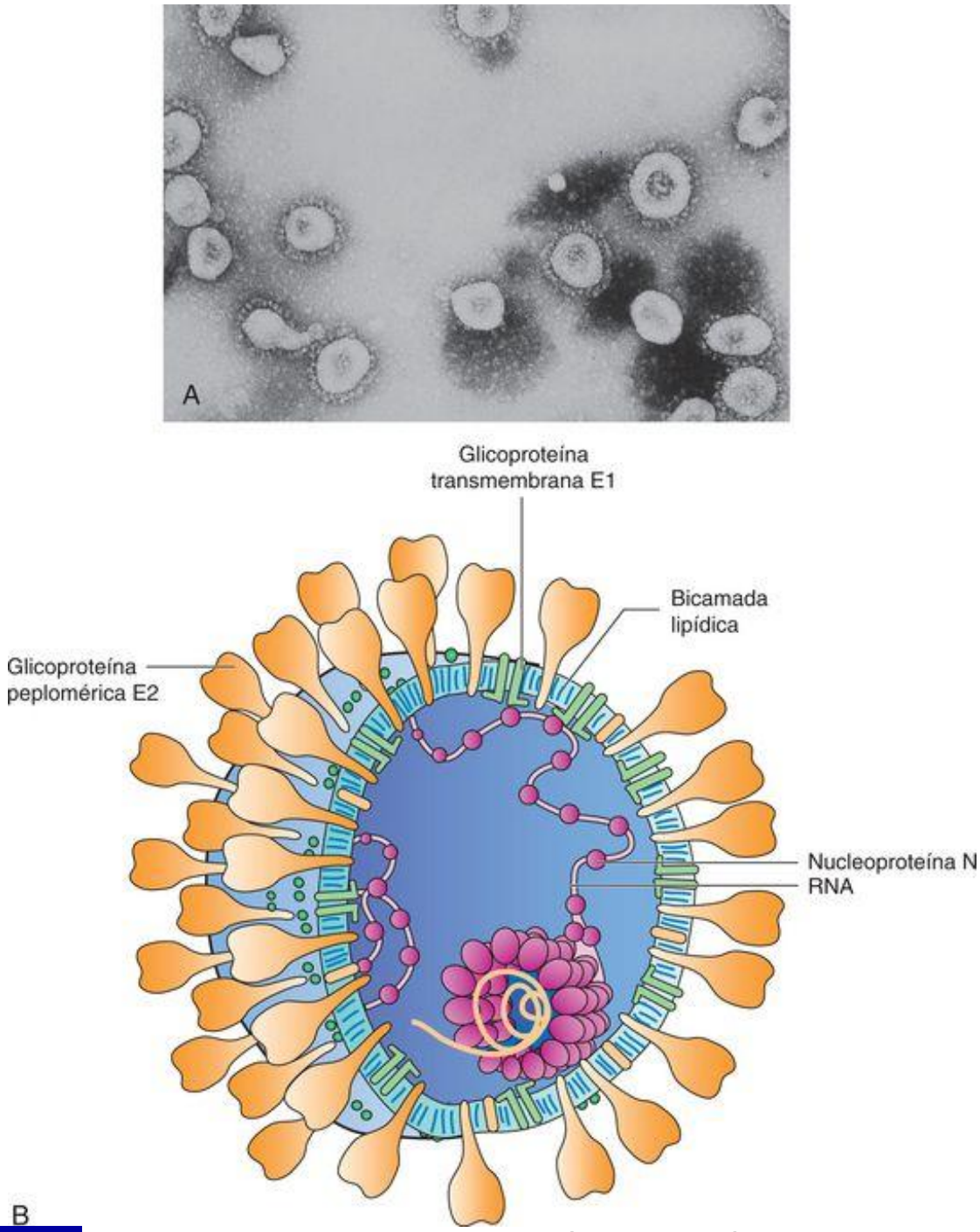


Figura 57-1 **A**, Micrografia eletrônica do coronavírus respiratório humano (ampliação de 90.000 ×). **B**, Modelo de um coronavírus. O nucleocapsídeo viral é uma hélice grande e flexível composta por genoma de cadeias positivas de RNA e muitas moléculas da proteína N fosforilada do nucleocapsídeo. O invólucro viral consiste de uma bicamada lipídica derivada

das membranas intracelulares da célula hospedeira e duas glicoproteínas virais (E1 e E2).

A *Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta;* ***B*** *Redesenhado de Fields BF, Knipe DM: Virology. New York, Raven, 1985*

Estrutura e Replicação

Os coronavírus são **vírions envelopados** com o mais comprido genoma **RNA positivo** (**+**). Os vírions medem de 80 a 160nm de diâmetro (Quadro 57-1). As glicoproteínas na superfície do envelope aparecem como projeções em forma de taco que aparecem como um halo (coroa) em torno do vírus. Diferentemente da maioria dos vírus envelopados, a "coroa" formada pelas glicoproteínas permite que o vírus prolongue as condições no trato gastrointestinal e se dissemine por via fecal-oral.

Quadro 57-1 Características Exclusivas dos Coronavírus

Vírus tem vírions de tamanho médio com um aspecto semelhante à coroa solar.

Genoma RNA de cadeia única e sentido positivo com envelope contendo a proteína de ligação viral E2, a proteína de matriz E1 e a proteína de nucleocapsídeo N.

A tradução do genoma ocorre em duas fases: (1) a fase precoce produz uma RNA polimerase (L); e (2) a fase tardia, a partir de um molde de RNA com sentido negativo, produz proteínas estruturais e não estruturais.

O vírus é montado no retículo endoplasmático rugoso.

O vírus é difícil de ser isolado e cresce em cultura celular de rotina.

O grande genoma RNA com muitas cadeias (27.000 a 30.000 bases) se associa à proteína N para formar um nucleocapsídeo helicoidal. A síntese de proteínas ocorre em duas fases, semelhante ao que ocorre com os togavírus. Na infecção, o genoma é traduzido gerando uma poliproteína que é clivada produzindo uma RNA polimerase RNA-dependente (L [225.000Da]). A polimerase gera um molde RNA de sentido negativo. A proteína L então usa o molde RNA para replicar novos genomas e produzir 5 a 7 **ácidos ribonucleicos mensageiros (mRNAs) individuais** referentes a proteínas virais individuais. A geração de mRNAs individuais também pode promover eventos de recombinação entre genomas virais para promover diversidade genética.

Os vírions contêm as glicoproteínas E1 (20.000 a 30.000 Da) e E2 (160.000 a 200.000Da) e uma nucleoproteína central (N [47.000 a 55.000Da] – nucleoproteína do *core*); algumas cepas também contêm hemaglutinina-neuraminidase (E3 [120.000 a 140.000Da]) (Tab. 57-1). A glicoproteína E2 é responsável pela mediação da fixação viral e fusão da membrana e é o alvo dos anticorpos neutralizantes. A glicoproteína E1 é uma proteína de matriz transmembrana. O esquema de replicação para os coronavírus é mostrado na Fig. 57-2.

Tabela 57-1 Principais Proteínas dos Coronavírus Humanos

Tabela 57-1. Principais Proteínas dos Coronavírus Humanos

Proteínas	Peso Molecular (kDa)	Localização	Funções
E2 (glicoproteína peplomérica)	160-200	Espículas do invólucro (peplômeros)	Ligar-se a células hospedeiras; atividade de fusão
H1 (proteína hemaglutinina)	60-66	Peplômero	Hemaglutinação
N (nucleoproteína)	47-55	Núcleo	Ribonucleoproteína
E1 (glicoproteína de matriz)	20-30	Envelope	Proteína transmembrana
L (polimerase)	225	Célula infectada	Atividade de polimerase

Modificado de Balows A, et al (eds): Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice. New York, Springer-Verlag, 1988.

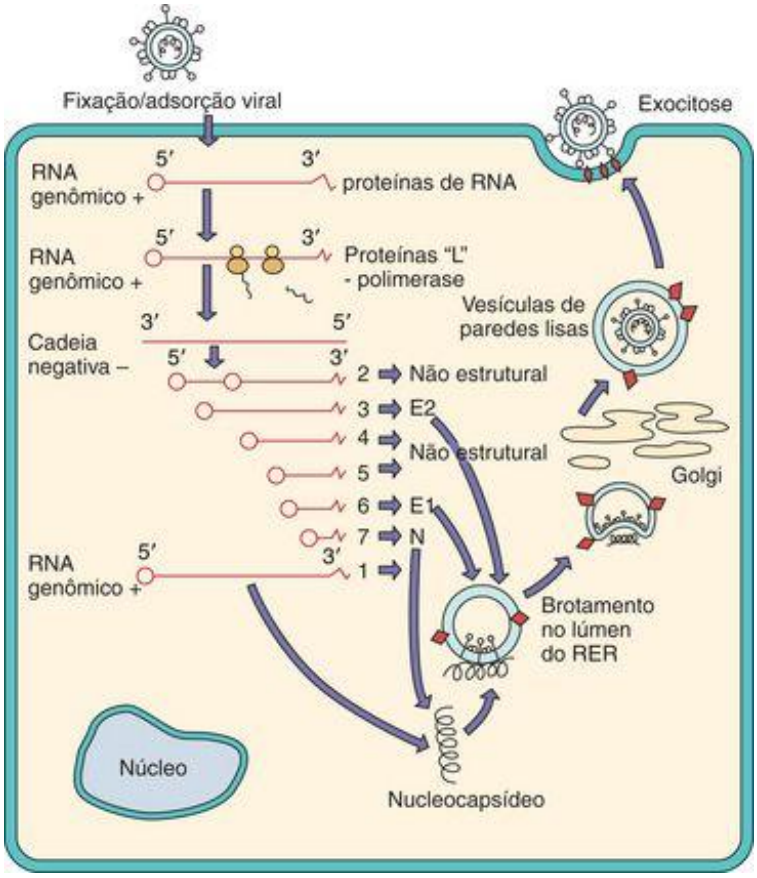


Figura 57-2 Replicação dos coronavírus humanos. A glicoproteína E2 interage com receptores nas células epiteliais, o vírus se funde ou sofre endocitose e o genoma é liberado no citoplasma. A síntese de proteína é dividida em fases precoce e tardia, semelhantes àquelas dos togavírus. O genoma se liga aos ribossomas e a RNA polimerase dependente de RNA é traduzida. Esta enzima gera um molde de RNA completo e de sentido negativo para a produção de novos genomas de vírions e 6 mRNAs individuais para outras proteínas de coronavírus. O genoma se associa às membranas do retículo endoplasmático rugoso (RER) através das proteínas dos vírions e brota no lúmen do RER. Vesículas que contêm vírus migram para a membrana celular e o vírus é liberado por exocitose.(

Redesenhado de Balows A, et al (eds): Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice. New York, Springer-Verlag. 1988.

Patogênese e Síndromes Clínicas

Coronavírus inoculados nos tratos respiratórios de voluntários humanos têm sido encontrados infectando células epiteliais. A infecção permanece localizada no trato respiratório superior porque a *temperatura ótima para o crescimento viral é de 33°C a 35°C* (Quadro 57-2). O vírus é provavelmente disseminado por aerossóis e em grandes perdigotos (p. ex., espirros). A maioria dos coronavírus humanos causa uma infecção do trato respiratório superior semelhante aos resfriados causados por rinovírus, mas com um período de incubação maior (média de 3 dias). A infecção pode exacerbar uma doença pulmonar crônica preexistente, como asma ou bronquite, e, em raras ocasiões, pode causar pneumonia.

Quadro 57-2 Mecanismos Patológicos de Coronavírus Humanos

Vírus infecta células epiteliais do trato respiratório.

Vírus se replica melhor com 33°C a 35°C; por isso prefere o trato respiratório superior.

Ocorre reinfecção na presença de anticorpos séricos.

A "coroa" de glicoproteína ajuda este vírus encapsulado a sobreviver no trato gastrointestinal.

A síndrome respiratória aguda grave é exacerbada pelas respostas inflamatórias.

As infecções ocorrem principalmente em lactentes e crianças. As doenças por coronavírus aparecem esporadicamente ou em surtos no inverno e primavera. Usualmente, uma cepa predomina em um surto. Achados a partir de estudos sorológicos mostram que os coronavírus causam aproximadamente 10% a 15% das infecções do trato respiratório superior e pneumonia em humanos. Anticorpos para os coronavírus estão uniformemente presentes na vida adulta, mas as reinfecções são comuns, apesar dos anticorpos séricos preexistentes.

Partículas semelhantes aos coronavírus também têm sido vistas em micrografias eletrônicas de amostras de fezes diarreicas obtidas de adultos e crianças com gastroenterite e lactentes com enterocolite necrotizante neonatal.

SARS é uma forma de pneumonia atípica caracterizada por febre alta (< 38°C), calafrios, rigidez, cefaleia, tontura, mal-estar, mialgia, tosse ou dificuldade respiratória e uma história de exposição a uma pessoa ou local associado com SARS dentro dos 10 dias precedentes. Até 20% dos pacientes também desenvolverão diarreia. A mortalidade chega a 10% das pessoas com indicação de infecção com SARS. Embora SARS-CoV seja mais provavelmente transmitido por gotículas respiratórias, também está presente no suor, urina e fezes.

Como já mencionado, o surto de SARS que começou em novembro de 2002 na Província de Guangdong, Sul da China, foi levada para Hong Kong por um médico que trabalhava no surto original e levado para o Vietnam, Toronto e outros lugares, por viajantes. O vírus mostrou ser um coronavírus pela sua morfologia no microscópio eletrônico e pela reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR). O vírus aparentemente passou para o homem a partir de animais criados para servirem de alimento (gatos-de-algália, guaxinins e texugos chineses). Um alerta global emitido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) determinou medidas de contenção para limitar a disseminação do vírus e controlou a epidemia em 8.000 indivíduos infectados, mas com cerca de 784 mortes. Restrições a viagens e o receio público resultaram na perda de centenas de milhões de dólares em viagens e outros negócios.

Diagnóstico Laboratorial

Exames de laboratório não são realizados rotineiramente para diagnosticar infecções por coronvírus exceto SARS. O método de escolha para coronavírus, incluindo SARS-CoV, é a detecção do RNA genômico viral em amostras respiratórias e de fezes por RT-PCR. O isolamento do coronavírus é difícil porque SARS-CoV requer condições severas do nível de biossegurança 3 (NBS-3). O exame de amostras suspeitas de conter SARS-CoV deve ser realizado com precauções NBS-2 apropriadas alcançáveis em muitos laboratórios de virologia. A análise por sorologia imunoenzimática (ELISA – *enzyme-linked immunosobent assay*) pode ser usada para avaliar soros de doentes agudos e convalescentes. A microscopia eletrônica também tem sido usada para detectar partículas semelhantes a coronavírus em amostras de fezes.

Tratamento, Prevenção e Controle

O controle da transmissão respiratória do resfriado comum seria difícil e provavelmente desnecessário devido a infecção apresentar sintomas brandos. O isolamento estrito de indivíduos infectados com SARS-CoV e a triagem para febre de viajantes provenientes de uma região com um surto de SARS são necessários para limitar a disseminação do vírus. Não há vacina ou tratamento antiviral disponível.

Norovírus

Os norovírus são membros da família dos calicivírus, que também inclui astrovírus e outros vírus redondos pequenos de gastroenterites. O vírus Norwalk, o protótipo dos Norovírus, foi descoberto no exame de microscopia eletrônica de amostras de fezes de adultos durante uma epidemia de gastroenterite aguda em Norwalk, Ohio. Muitos dos outros vírus nesta família tam bém carregam os nomes das localizações geográficas onde foram identificados (Quadro 57-3).

Quadro 57-3 Propriedades Características dos Norovírus

São vírus pequenos, com capsídeo e que podem ser distinguidos pela morfologia do **capsídeo**.

Vírus são resistentes à pressão ambiente: detergentes, secantes e ácidos.

Vírus são transmitidos pela via **fecal-oral** em água e alimentos contaminados.

Os vírus podem causar surtos de gastroenterite.

A doença regride após 48 horas, sem consequências graves.

Estrutura e Replicação

Os norovírus parecem e têm aproximadamente o mesmo tamanho dos picornavírus. Seu **genoma RNA sentido positivo** (aproximadamente 7.500 bases) tem uma proteína VPg (proteína viral ligada ao genoma) e uma sequência de poliadenosina 3′ terminal (cauda poli A) similar aos picornavírus. O genoma está contido em um **capsídeo nuclear** de 27nm que consiste em proteínas com 60.000Da. Os vírions Norwalk são redondos com um contorno irregular, enquanto outros calicivírions têm indentações em forma de cálice ou formato de uma estrela de seis pontas. Os vírions dos astrovírus têm forma de estrela de cinco ou seis pontas na superfície, mas não indentações. Anticorpos de pessoas soropositivas também podem ser usados para distinguir estes vírus.

Os calicivírus e astrovírus podem crescer em cultura celular, mas os vírus Norwalk não. A expressão das proteínas estruturais de genes de diferentes vírus Norwalk em células de cultura tissular produz partículas semelhantes ao vírus Norwalk. Estas partículas foram utilizadas para demonstrar que os vírus Norwalk se ligam ao carboidrato do antígeno do grupo sanguíneo A, B ou O na superfície celular. Os norovírus replicam como os picornavírus, exceto por um mRNA precoce e tardio similar aos togavírus e coronavírus. O mRNA precoce codifica uma poliproteína contendo a RNA polimerase e outras enzimas. O mRNA tardio codifica as proteínas do capsídeo.

Patogênese

Apenas uns poucos 10 vírions deverão iniciar uma doença em humanos. O dano à parede intestinal prejudica a absorção apropriada de água e nutrientes e causa uma diarreia aquosa. Embora não ocorram alterações histológicas na mucosa gástrica, pode haver retardo em seu esvaziamento, causando vômito. O exame de amostras de biópsia do jejuno de voluntários humanos infectados com norovírus revelou a existência de atrofia das vilosidades, formação de vacúolos citoplasmáticos e infiltrados de células mononucleares. A excreção viral pode continuar por 2 semanas após o encerramento dos sintomas.

Epidemiologia

Norwalk e os vírus relacionados causam tipicamente surtos de gastroenterite como resultado de uma fonte de contaminação comum (p. ex., água, moluscos, saladas, alimentos manipulados). Estes vírus são transmitidos principalmente por via fecal-oral. Surtos em países desenvolvidos podem ocorrer durante o ano e têm sido descritos em escolas, hotéis, hospitais, casas de repouso, restaurantes e cruzeiros marítimos. Surtos derivados de uma fonte comum geralmente podem ser rastreados até um indivíduo infectado e descuidado que manipulou alimentos. O CDC (*Center for Disease Control and Prevention*) estima que quase 50% (23 milhões de casos nos Estados Unidos por ano) dos surtos de gastroenterite de origem alimentar podem ser atribuídos aos norovírus, o que é um tributo à importância deste vírus. A imunidade é geralmente curta e pode não proteger. Setenta por cento das crianças nos Estados Unidos já têm anticorpos contra os norovírus aos 7 anos de idade.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 57-1; Quadro 57-4)

O vírus Norwalk e os vírus associados causam sintomas similares aos causados pelos rotavírus. A infecção causa o início agudo de **diarreia, náuseas, vômitos** e cólicas abdominais, especialmente em crianças (Fig. 57-3). Não ocorre sangue nas fezes. Pode ocorrer febre em até um terço dos pacientes. O período de incubação é geralmente de 24 a 48 horas e a doença regride dentro de 12 a 60 horas sem problemas.

Caso Clínico 57-1 Surto de Vírus Norwalk

Brummer-Korvenkontio M. et al. (Epidemiol Infect 129:335-360, 2002) descreveram um surto de gastroenterite em crianças que assistiram a um concerto. A infecção foi rastreada até a contaminação por um indivíduo de uma seção específica de assentos, banheiros e outras áreas. Assim, descobriram que um expectador do sexo masculino estava doente quando assistiu a uma apresentação prévia ao concerto do qual as crianças participariam vomitando 4 vezes no salão do concerto: em uma lixeira no corredor, no banheiro, no chão da saída de incêndio e em uma área acarpetada na passagem. Membros de sua família mostraram sintomas em 24 horas. O concerto infantil para várias escolas ocorreu no dia seguinte ao incidente com o homem infectado. Crianças que se sentaram na mesma seção do caso incidental e aquelas que atravessaram o carpete contaminado tiveram a incidência mais alta da doença, caracterizada por diarreia aquosa e vômitos por aproximadamente 2 dias. A análise por RT-PCR das amostras de fezes de duas crianças doentes detectaram RNA genômico do vírus Norwalk. O vômito infectado pode ter até 1 milhão de vírus por mL e apenas 10-100 vírus são necessários para transmitir a doença. O contato com sapatos, mãos, roupas ou aerossóis contaminados pode ter infectado as crianças. A natureza encapsidada do vírus Norwalk torna-o resistente aos produtos de limpeza de rotina e a desinfecção geralmente requer soluções frescas contendo preparados de hipoclorito ou vaporização.

Quadro 57-4 Resumos Clínicos

Coronavírus

Resfriado comum: Uma pessoa de 25 anos desenvolve coriza, tosse fraca, mal-estar e uma febrícula. Um colega de trabalho no escritório teve sintomas semelhantes há poucos dias.

SARS: Um homem de negócios de 45 anos retornou de uma viagem de 2 semanas à China. Cinco dias após voltar para casa nos Estados Unidos, desenvolveu uma febre de 38,6°C e tosse. Posteriormente teve dificuldades respiratórias.

Norovírus

Vírus Norwalk: No terceiro dia de um cruzeiro (período de incubação de 24 a 60 horas), um grupo de 45 passageiros de um navio teve diarreia aquosa, náuseas e vômitos por 12 a 60 horas, com esta duração variando de indivíduo para indivíduo.

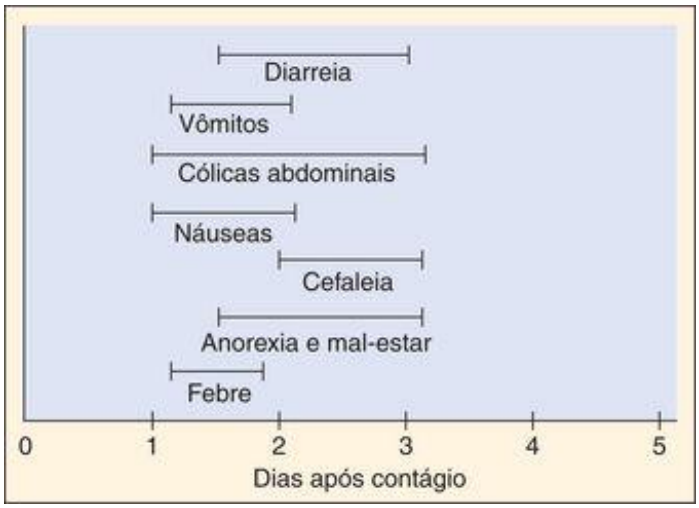


Figura 57-3 Resposta à ingestão do vírus Norwalk. Os sintomas variam em gravidade.

Diagnóstico Laboratorial

O uso de RT-PCR para a detecção do genoma de norovírus em amostras de fezes ou vômitos melhorou a velocidade e detecção do vírus durante os surtos. Pode ser usada a microscopia imunoeletrônica para concentrar e identificar o vírus nas fezes. A adição de um anticorpo direcionado contra um agente sob suspeita faz com que haja agregação do vírus, facilitando, seu reconhecimento. Exames por ELISA foram desenvolvidos para detectar o vírus e o antígeno viral. A sorologia pode ser usada para confirmar um diagnóstico. RIA (*radioimmunoassay*) ou ELISA pode detectar anticorpos contra o agente Norwalk. Anticorpos contra outros agentes semelhantes aos calicivírus são mais difíceis de detectar.

Tratamento, Prevenção, e Controle

Não há tratamento específico para a infecção por calicivírus ou outros vírus pequenos e redondos que causam gastroenterite. O salicilato de bismuto pode reduzir a gravidade dos sintomas gastrointestinais. Os surtos podem ser minimizados pelo cuidado no manuseio de alimentos e pela manutenção da pureza no suprimento de água. Mais resistente que os poliovírus ou os rotavírus, o vírus Norwalk é resistente ao calor (60°C), pH 3, detergentes e até os níveis de cloro na água potável.

Estudo de Caso e Questões

Vários adultos reclamaram de diarreia grave, náuseas, vômitos e febre baixa 2 dias após visitarem o Le Café Grease. Os sintomas eram muito graves para resultarem em intoxicação alimentar ou de uma gastroenterite rotineira, mas duraram apenas 24 horas.

1. Que características distinguem esta doença de uma infecção por rotavírus?

1. Gastroenterite por rotavírus geralmente ocorre em crianças e não adultos. Nesta descrição é provável que a infecção seja causada por um norovírus, como o vírus Norwalk.

2. Qual foi o meio de transmissão viral mais provável?

2. A transmissão desse vírus se dá por via fecal-oral e provavelmente ocorreu por ingestão de alimentos contaminados.

3. Quais características físicas do vírus permitiram que ele fosse transmitido por este meio?

3. Os norovírus são vírus que possuem capsídeo. O capsídeo viral é que possibilita a resistência à ação de ácidos, detergentes e ressecamento.

4. Que medidas de saúde pública poderiam ser seguidas para prevenir tais surtos?

4. Lavar as mãos após ir ao banheiro é a melhor maneira de limitar a disseminação viral.

Bibliografia

Balows A. et al: Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice. New York: Springer-Verlag, 1988.

Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. *N Engl J Med*. 1991;325:252-264.

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Christensen ML. Human viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev*. 1989;2:51-89.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal

Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.
Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
Meulen V, Siddell S, Wege H. Biochemistry and Biology of Coronaviruses. New York: Plenum, 1981.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.
Tan M. et al: Mutations within the P2 domain of Norovirus capsid affect binding to human histo-blood group antigens: Evidence for a binding pocket. *J Virol*. 2003;77:12562-12571.
Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.
Xi JN. et al: Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science*. 1990;250:1580-1583.

Sites

CDC Norovirus fact sheet (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/gastro/norovirus.htm.
Kamps BS, Hoffmann C. SARS reference (2003, on-line): Disponível em. www.sarsreference.com/sarsref/preface.htm.
National Institute of Allergy and Infectious Diseases research on SARS (on-line): Disponível em. www.niaid.nih.gov/factsheets/sars.htm.

58 Paramyxovírus

A família *Paramyxoviridae* inclui os seguintes gêneros: *Morbillivirus, Paramyxovirus* e *Pneumovirus* (Tab. 58-1). Entre os *morbilivirus* patógenos ao homem, podemos citar o vírus do **sarampo**; entre os *paramixovírus*, o vírus **parainfluenza** e o vírus da **caxumba**; e entre os *pneumovírus*, o **vírus sincicial respiratório (RSV)** e o **metapneumovírus** descoberto recentemente, relativamente comum. Seus vírions possuem morfologias e componentes proteicos similares e compartilham a capacidade de induzir a **fusão célula-célula** (formação de sincício e de células gigantes multinucleadas). Um novo grupo altamente patogênico dos paramixovírus, que inclui os vírus zoonóticos **Nipah** e **Hendra**, foi identificado em 1998 depois de um surto de encefalite grave na Malásia e Cingapura.

Tabela 58-1 Paramyxoviridae

Gênero	Patógeno Humano

Morbillivirus	Vírus do Sarampo
Paramyxovirus	Vírus Parainfluenza tipos 1 a 4
	Vírus da Caxumba
Pneumovirus	Vírus Sincicial Respiratório
	Metapneumovírus

Os paramixovírus causam algumas doenças bem conhecidas. O vírus do sarampo leva a uma infecção generalizada potencialmente grave caracterizada pelo exantema maculopapular. Os vírus parainfluenza causam infecções nos tratos respiratórios superior e inferior, inicialmente em crianças apresentando faringite, crupe viral, bronquite, bronquiolite e pneumonia. O vírus da caxumba causa uma infecção sistêmica com a parotidite como manifestação clínica predominante. O RSV causa infecções brandas no trato respiratório superior tanto em crianças como em adultos, sendo nos bebês causa de pneumonia grave com risco de vida.

Os vírus do sarampo e da caxumba possuem um **único sorotipo** e a proteção é fornecida pela administração de uma **vacina viva**. Nos Estados Unidos e outros países desenvolvidos, o sucesso nos programas de vacinação utilizando vacinas vivas de sarampo e caxumba tornaram essas doenças raras. Mais precisamente, tais programas levaram à eliminação virtual das sequelas graves do sarampo.

Estrutura e Replicação

Os paramixovírus possuem um ácido **ribonucleico (RNA) fita simples de sentido negativo** (de 5 a 8 × 10^6Da) em um nucleocapsídeo helicoidal envolvido por um **envelope** pleomórfico de aproximadamente 156 a 300nm (Fig. 58-1). Apresentam-se similares em diversos aspectos aos ortomixovírus, porém são maiores e não possuem o genoma segmentado dos vírus influenza (Quadro 58-1). Apesar da homologia significativa existente entre os genomas dos paramixovírus, a sequência das regiões codificantes de proteína diferem para cada gênero. Os produtos de gene do vírus do sarampo estão listados na Tabela 58-2.

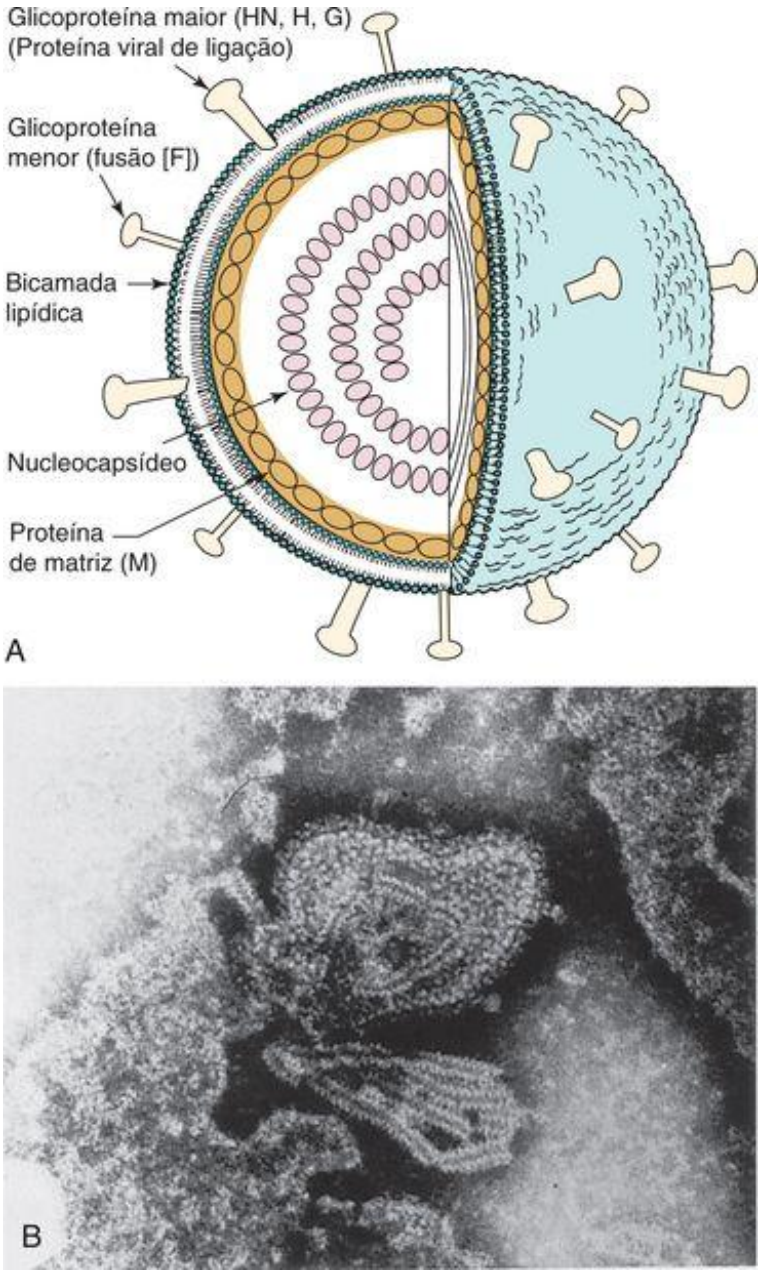


Figura 58-1 **A**, Modelo de paramixovírus. O nucleocapsídeo helicoidal – consistindo em RNA fita simples, sentido negativo e das proteínas P, nucleoproteína (NP) e proteína grande (L) – associado à proteína matriz (M) na superfície da membrana do envelope. O nucleocapsídeo contém atividade de RNA-transcriptase. O envelope contém a glicoproteína viral de ligação (hemaglutinina-neuraminidase [HN], hemaglutinina [H], ou proteína G [G]) e a proteína de fusão (F). **B**, Micrografia eletrônica de um paramixovírus mostrando o nucleocapsídeo helicoidal.

*(**A** Adaptado de Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: Review of Medical Microbiology, 17th ed. Norwalk, Conn, Appleton & Lange, 1987; **B** Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)*

Quadro 58-1 Propriedades Características únicas da família *Paramyxoviridae*

O vírion completo consiste de um genoma RNA negativo em um nucleocapsídeo helicoidal envolto por um envelope contendo as proteínas virais de ligação (hemaglutinina-neuramnidase [HN], nos vírus parainfluenza e vírus da caxumba; hemaglutinina [H], no vírus do sarampo; e glicoproteína [G], no vírus sincicial respiratório [RSV]) e uma glicoproteína de fusão (F).

Os três gêneros podem ser caracterizados pelas atividades da proteína viral de ligação: a HN dos vírus parainfluenza e caxumba possuem hemaglutinina e neuraminidase e a proteína H do vírus de sarampo possui atividade hemaglutinina, porém a proteína G dos RSV não possui essas atividades.

O vírus tem sua replicação no citoplasma

O vírus penetra na célula através de fusão com a membrana plasmática e é liberado por brotamento pela membrana plasmática.

O vírus induz à fusão célula-célula, formando as células gigantes multinucleadas.

Os paramixovírus são transmitidos em secreções respiratórias e infectam o trato respiratório.

A imunidade celular é responsável por muitos dos sintomas, embora seja essencial no controle da infecção.

Tabela 58-2 Proteínas Codificadas pelo Vírus do Sarampo

Produtos de Gene*	Localização no Vírion	Função
Nucleoproteína (NP)	Proteína interna principal	Proteger o RNA viral
Fosfoproteína	Associada à nucleoproteína	Possível componente do complexo de

polimerase (P)	Associada à nucleoproteína	transcrição
Matriz (M)	Envelope viral	Montagem dos vírions
Proteína de fusão (F)	Glicoproteína transmembrana do envelope	Promove a fusão celular, hemólise e entrada do vírus
Hemaglutinina (H)	Glicoproteína transmembrana do envelope	Proteína de ligação do vírus
Proteína grande (L)	Associada à nucleoproteína	Polimerase

***** *Em ordem de transcrição*.

Modificado de Fields BN: Virology. New York, Raven, 1985.

O nucleocapsídeo consiste de um RNA fita simples, sentido negativo, associado a uma nucleoproteína (**NP**), uma fosfoproteína polimerase (**P**) e uma proteína grande (**L**). A proteína L é a RNA-polimerase, a proteína P facilita a síntese de RNA, e a proteína NP ajuda a manter a estrutura genômica. O nucleocapsídeo se associa à proteína matriz (**M**) revestindo o interior do envelope viral. O envelope contém duas glicoproteínas, uma proteína de fusão (**F**) que promove a fusão dos vírus e membranas celulares do hospedeiro, e uma proteína viral de ligação (hemaglutinina-neuraminidase [**HN**], hemaglutinina [**H**] ou proteína **G**) (Quadro 58-1). A fim de expressar sua atividade de fusão de membranas, a proteína F deve ser ativada por clivagem proteolítica, gerando os glicopeptídeos F_1 e F_2 que são unidos por uma ligação dissulfureto.

A replicação dos paramixovírus inicia-se pela ligação da proteína HN, H ou G do envelope viral ao ácido siálico dos glicolipídeos da superfície celular. O vírus do sarampo pode se ligar à CD46 (proteína cofator de membrana, MCP) presente na maioria dos tipos celulares e também a CD150 SLAM (molécula sinalizadora da ativação de linfócitos) a qual é expressa em células T e B ativadas. A CD46 protege a célula do sistema complemento através de atividade regulatória da ativação deste sistema, sendo também o receptor para o herpesvírus humano tipo 6 e alguns tipos de adenovírus. A SLAM regula as respostas TH1 e TH2 e durante uma infecção pelo vírus do sarampo essa regulação pode apresentar-se alterada. A proteína F promove a fusão do envelope e membrana plasmática. Os paramixovírus também são capazes de induzir a fusão célula-célula, criando células gigantes multinucleadas (sincício).

A replicação do genoma ocorre de forma similar a de outros vírus RNA de fita negativa (p. ex., rabdovírus). A RNA polimerase é carreada para o interior da célula como parte do nucleocapsídeo. A transcrição, síntese de proteínas e replicação do genoma ocorre no citoplasma da célula hospedeira. O genoma é transcrito em RNAs mensageiros (mRNAs) individuais e em uma fita de RNA completa de sentido positivo. Os novos genomas se associam às proteínas L, N e NP para formar os nucleocapsídeos, que junto às proteínas M e em associação com a membrana plasmática formam glicoproteínas virais. As glicoproteínas são sintetizadas e processadas como glicoproteínas celulares. Os vírions maduros brotam da membrana plasmática da célula hospedeira e são liberados da célula. A replicação dos paramixovírus está representada pelo ciclo infeccioso do RSV mostrado na Figura 58-2.

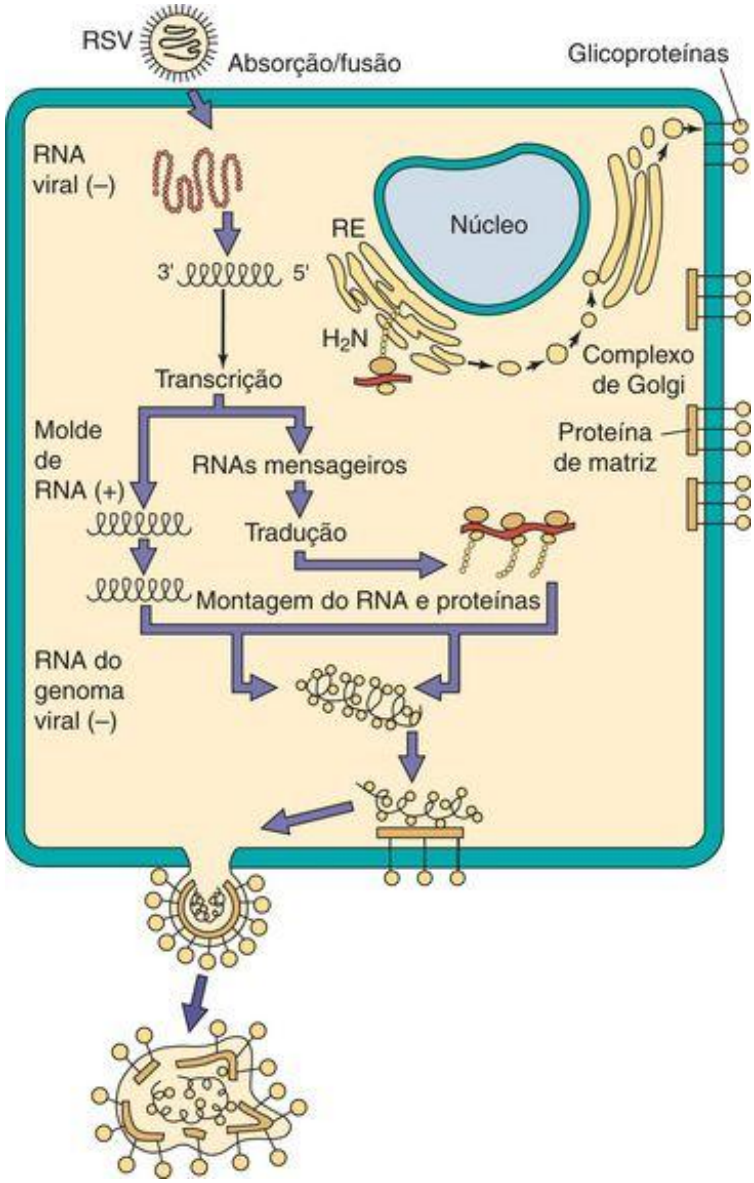


Figura 58-2 Replicação dos paramixovírus. O vírus se liga a glicolipídeos ou proteínas e ocorre a fusão na superfície da célula. Os RNAs mensageiros individuais para cada proteína e um molde completo são transcritos do genoma. A replicação ocorre no citoplasma. O nucleocapsídeo se associa à matriz e a gliproteínas modificadas da membrana plasmática e é liberado da célula por brotamento. (–), sentido negativo; (+) sentido positivo; RE, retículo endoplasmático; RSV, vírus sincicial respiratório.

(Adaptado de Balows A, et al: Laboratory diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practice. New York, Springer-Verlag, 1988.)

Vírus do Sarampo

O sarampo é um dos cinco exantemas clássicos da infância, juntamente com a rubéola, o exantema súbito, o eritema infeccioso e a catapora. Historicamente o sarampo foi uma das infecções virais mais comuns e a mais temida, pois havia a possibilidade de sequelas graves. Antes de 1960, mais de 90% da população abaixo de 20 anos já havia sido afetada com exantema, febre alta, tosse, conjuntivite e coriza como manifestações do sarampo. Desde o início da utilização da vacina viva em 1993, menos de 1.000 casos foram notificados nos Estados Unidos. O sarampo ainda é a mais proeminente causa de doença (45 milhões de casos ao ano) e morte (1 a 2 milhões por ano) no mundo inteiro em populações não vacinadas.

Patogênese e Imunidade

O sarampo é conhecido pela sua propensão em produzir fusão celular, levando à formação de células gigantes (Quadro 58-2). Como resultado, o vírus é capaz de atravessar diretamente célula a célula e escapar da ação dos anticorpos. As inclusões ocorrem geralmente no citoplasma e são compostas de partículas virais incompletas. A infecção normalmente leva à lise celular, porém as infecções persistentes sem a ocorrência de lise podem ser descritas em alguns tipos celulares (p. ex., células do cérebro humano).

Quadro 58-2 Mecanismos Patológicos do Vírus do Sarampo

O vírus infecta as células epiteliais do trato respiratório.

O vírus se dissemina de forma sistêmica nos linfócitos e por **viremia**.

O vírus se replica nas células da conjuntiva, no trato respiratório, trato urinário, sistema linfático, vasos sanguíneos e sistema nervoso central.

O exantema é causado pela resposta imune das células T às células epiteliais que revestem os capilares infectadas pelo vírus.

A **Imunidade Celular** é essencial no controle da infecção.

As sequelas no sistema nervoso central podem ocorrer em consequência de uma imuno-patogênese (encefalite pós-infecciosa por sarampo) ou no desenvolvimento de mutações no vírus (panencefalite esclerosante subaguda).

[*]

[*] *Em ordem de transcrição*.

O sarampo é **altamente contagioso** e é transmitido de pessoa a pessoa através de **gotículas respiratórias** (Fig. 58-3). A replicação do vírus no trato respiratório precede a sua propagaç ão no sistema linfático e viremia associada às células. A ampla disseminação do vírus causa infecção da conjuntiva, do trato respiratório, do trato urinário, de capilares sanguíneos, do sistema linfático e do sistema nervoso central.

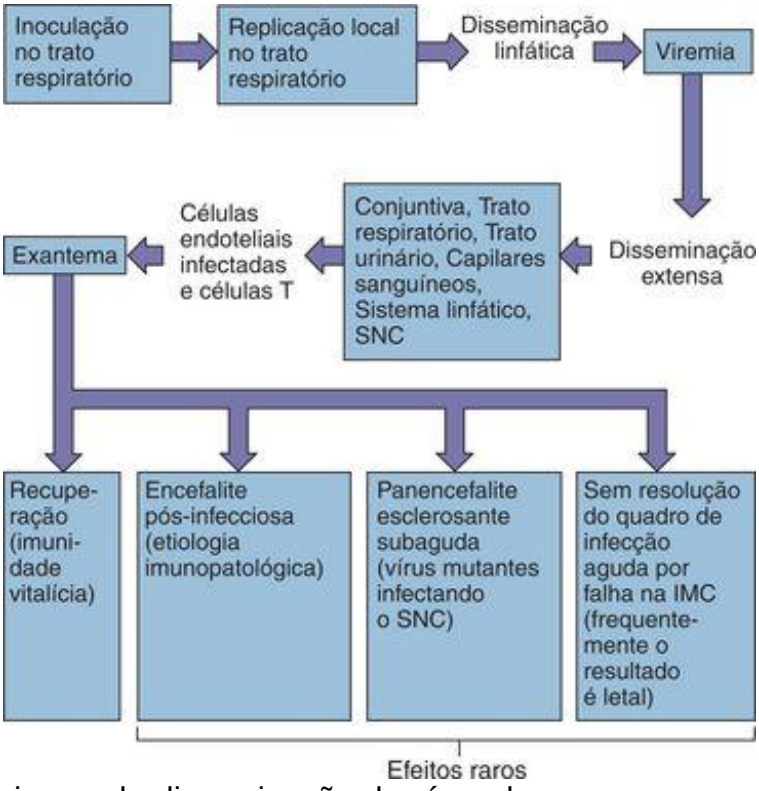


Figura 58-3 Mecanismos de disseminação do vírus do sarampo no corpo e a patogênese do sarampo. IMC, imunidade mediada por células; SNC, sistema nervoso central.

O característico exantema ***maculopapular*** *de sarampo é causado pelas células T do sistema imune que foram direcionadas às células endoteliais infectadas pelo sarampo e que revestem os capilares sanguíneos*. A recuperação sucede o aparecimento do exantema na maioria dos pacientes, que posteriormente desenvolvem **imunidade vitalícia** ao vírus. O tempo de duração da infecção por sarampo é mostrado na Figura 58-4.

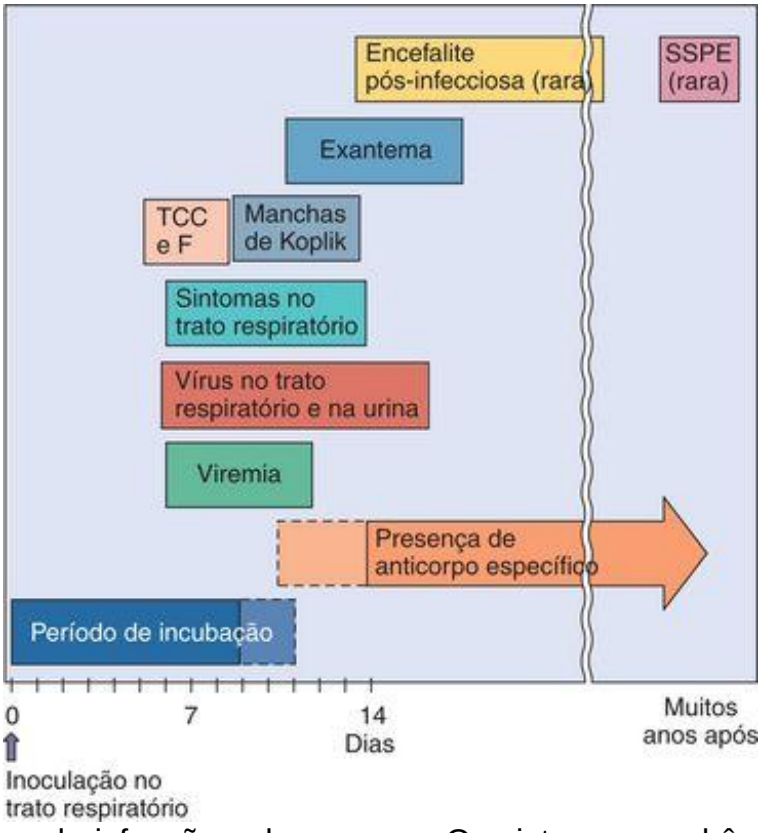


Figura 58-4 O curso da infecção pelo sarampo. Os sintomas prodrômicos característicos são: tosse, conjuntivite, coriza e fotofobia (TCC e F); acompanhados pelo aparecimento das manchas de Koplik e exantema. SSPE, panencefalite esclerosante subaguda.

O sarampo pode levar à encefalite de três maneiras: (1) infecção direta dos neurônios; (2) uma encefalite pós-infecção, na qual se acredita que seja mediada pelo sistema imune; e (3) uma panencefalite esclerosante subaguda (*subacute sclerosing panencephalitis* –; SSPE) causada por uma variante defeituosa do sarampo que foi gerada na fase aguda da doença. O vírus da SSPE age como um vírus lento e causa sintomas e efeitos citopatológicos em neurônios muitos anos após a fase aguda da doença.

A imunidade celular é responsável pela maioria dos sintomas, mas também é essencial no controle da infecção do sarampo. Crianças deficientes em células T que foram infectadas com o sarampo produzem de forma atípica uma **pneumonia por células gigantes sem exantema**. No período de incubação, o sarampo causa diminuição dos eosinófilos e linfócitos, incluindo células B e T, e uma queda na sua resposta à ativação. O vírus deprime a resposta imune através: (1) da infecção direta de monócitos e células T e B; e (2) promovendo uma troca na produção de interferon gama associado a TH1 e citocinas IL12 pela produção de citocinas associadas à TH2, especialmente interleucinas 4 (IL4), IL5, IL10 e IL13. Essas citocinas reduzem a capacidade do hospedeiro em gerar uma resposta protetora do sistema imunecelular do tipo DTH. Os imunossupressores permanecem em todo o curso da infecção e, após semanas, adquire-se proteção por toda a vida contra uma reinfecção.

Epidemiologia

O desenvolvimento de programas de vacinação eficazes tornou o sarampo uma doença rara nos Estados Unidos. Em áreas onde não existe programa de vacinação, as epidemias tendem a ocorrer em um ciclo de 1 a 3 anos, quando um número de pessoas susceptíveis é acumulado. Muitos desses casos ocorrem em crianças na idade pré-escolar que não foram vacinadas e vivem em grandes áreas urbanas. A incidência da infecção tem picos nos meses de inverno e primavera. O sarampo ainda é comum em pessoas que vivem nos países em desenvolvimento; representa a principal causa de morte em crianças de 1 a 5 anos de idade em muitos países. Pacientes imunocomprometidos e desnutridos com sarampo podem não conseguir superar a infecção que pode resultar em morte.

O sarampo, que é disseminado em secreções respiratórias antes e após o início dos sintomas característicos, representa uma das infecções mais contagiosas já conhecidas (Quadro 58-3). Em domicílio familiar, cerca de 85% das pessoas suscetíveis expostas são infectadas, e 95% dessas desenvolvem a doença clínica.

Quadro 58-3 Epidemiologia do Sarampo

Doença e Fatores Virais

O vírus apresenta um vírion grande e envelopado que pode ser facilmente inativado através de ressecamento e acidez.

O período de contágio precede os sintomas.

A infecção é limitada a humanos.

Existe somente um único sorotipo.

A imunidade adquirida é vitalícia.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis.

Quem Está sob Risco?

Pessoas não vacinadas

Pessoas imunocomprometidas apresentam evolução para quadros mais graves.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo.

O vírus é endêmico do outono até a primavera, possivelmente por causa das aglomerações em ambientes fechados nessa época.

Modos de Controle

Vacina viva e atenuada (as variantes Schwartz ou Moraten da vacina original Edmonston B) pode ser administrada.

Imunoglobulina pode ser administrada após exposição ao vírus.

O vírus do sarampo possui um único sorotipo, infectando somente humanos, e geralmente a infecção se manifesta através dos sintomas. Essas características facilitaram o desenvolvimento de um programa de vacina eficaz. Uma vez que a vacinação foi introduzida, a incidência anual do sarampo foi reduzida dramaticamente nos Estados Unidos, de 300 a 1,3/100.000 (estatísticas americanas de 1981 a 1988). Tal mudança representou uma redução de 99,5% da incidência de infecção em relação a anos de pré-vacinação, de 1955 a 1962.

Apesar da eficácia demonstrada pelos programas de vacinação, a população ainda não vacinada (crianças abaixo de 2 anos de idade) e a falta de adesão de alguns à vacinação, dá continuidade à existência de indivíduos suscetíveis. O vírus pode surgir de uma comunidade ou pode ser importado pela imigração de regiões do mundo onde não existe programa de vacinação. Os surtos de sarampo ocorrem com certa frequência nos Estados Unidos e Inglaterra. Um surto de sarampo em uma creche americana (dez crianças com idade abaixo da permitida para vacina e dois adultos) foi oriundo de uma criança das Filipinas.

Síndrome Clínica

O sarampo é uma doença febril grave (Tab. 58-3). O período de incubação dura de 7 a 13 dias, e o pródomo inicia por **febre alta, tosse, coriza, conjuntivite** e **fotofobia**. Essa fase da doença é a mais infecciosa.

Tabela 58-3 Consequências clínicas da infecção pelo vírus do Sarampo

Enfermidade	Sintomas
Sarampo	Exantema maculopapular característico, tosse, conjuntivite, coriza, fotofobia, manchas de Koplik *Complicações*: Otite média, crupe, broncopneumonia e encefalite.
Sarampo atípico	Exantema mais intenso (mais proeminente nas áreas distais); possível ocorrência de vesículas, petéquias, púrpura ou urticária.
Panencefalite esclerosante subaguda	Manifestações no sistema nervoso central (p. ex., alterações de personalidade, comportamento e memória; contrações musculares mioclônicas; espamos e cegueira)

Após 2 dias do início da doença, lesões na membrana da mucosa típicas e conhecidas

como **manchas de Koplik** (Fig. 58-5) aparecem. Essas manchas são observadas geralmente na mucosa bucal próximo aos molares, podendo ainda aparecer em outras membranas de mucosa, como a conjuntiva e a vagina. *As lesões, que persistem de 24 a 48 horas, são geralmente pequenas (1 a 2mm) e são melhores descritas como grãos de sal cercados por um halo vermelho*. Essa aparência característica juntamente com os outros sinais da doença estabelece um diagnóstico seguro de sarampo.

Figura 58-5 Manchas de Koplik na boca e exantema. As manchas de Koplik normalmente precedem ao exantema de sarampo e ainda podem ser observadas 1 a 2 dias após o aparecimento do exantema.

(Cortesia de Dr Jl Pugh, St Albans; from Emond RTD, Rowland HAK: A Color Atlas of Infectious Diseases, 3rd ed. London, Mosby, 1995.)

Dentro de 12 a 24 horas do aparecimento das manchas de Koplik, o **exantema** do sarampo começa atrás das orelhas e se espalha por todo o corpo. O **exantema é maculopapular**, geralmente de grande extensão e frequentemente as lesões se tornam confluentes. As lesões levam de 1 a 2 dias para cobrir o corpo e desaparecem da mesma forma que apareceram. A febre se apresenta mais alta no dia do aparecimento das lesões deixando o paciente mais abatido (Fig. 58-6).

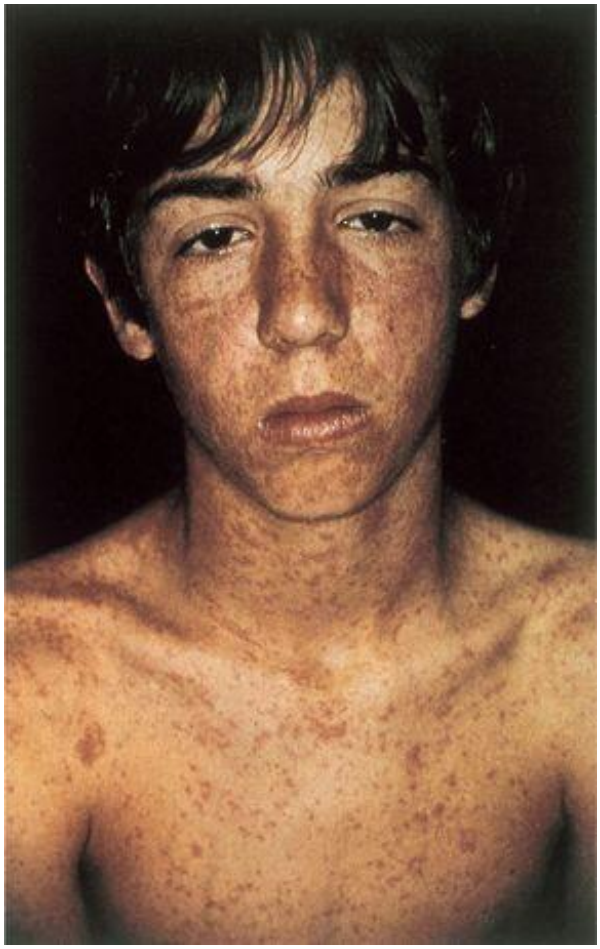


Figura 58-6 Exantema no sarampo.

(De Habif TP: Clinical Dermatology: Color Guide to Diagnosis and Therapy. St Louis, Mosby, 1985.)

A **pneumonia**, que pode ser uma séria complicação, representa 60% das causas de óbito por sarampo. Assim como a incidência de outras complicações associadas ao sarampo, a mortalidade associada à pneumonia é alta nos casos de desnutrição e nas faixas etárias extremas. A **superinfecção bacteriana** é comum em pacientes com pneumonia causada pelo vírus do sarampo.

Uma complicação mais indesejada do sarampo é a **encefalite**, que ocorre em menos de 0,5% dos infectados, porém com taxa de óbito de 15%. A encefalite raramente surge na fase aguda da doença, mas normalmente começa 7 a 10 dias após o início da enfermidade. A **encefalite pós-infecciosa** é causada por reações imunopatogênicas, sendo associada à desmielinização dos neurônios e se apresentando mais frequentemente em crianças mais velhas e em adultos.

O **sarampo atípico** ocorre em pessoas que receberam a antiga vacina de sarampo inativada e foram subsequentemente expostas ao tipo selvagem do vírus. Em situações raras pode ocorrer também em pessoas vacinadas com o vírus atenuado. Uma sensibilização anterior sem proteção suficiente pode ampliar a resposta imunopatológica na exposição ao vírus selvagem. A doença começa abruptamente e é a forma mais extrema de apresentação do sarampo.

A **panencefalite esclerosante subaguda** é extremamente grave, uma sequela neurológica tardia do sarampo que aflige aproximadamente sete em cada milhão de pacientes. A incidência de SSPE tem diminuído de forma marcante como resultado dos programas de vacinação do sarampo.

A doença ocorre quando um vírus do sarampo defeituoso persiste no cérebro e atua como vírus lento. O vírus faz sua replicação e disseminação diretamente célula a célula, mas não é liberado. A SSPE é mais prevalente em crianças quer foram inicialmente infectadas antes dos 2 anos de idade e surge aproximadamente 7 anos após o diagnóstico clínico do sarampo. O paciente apresenta alterações na personalidade, no comportamento e na memória, acompanhado de contração muscular mioclônica, cegueira e espasmos. Níveis altos

de anticorpos de sarampo podem ser encontrados no sangue e no fluido cerebroespinhal de pacientes com SSPE, diferentemente do que ocorre em pacientes com as demais apresentações de sarampo.

Uma criança imunocomprometida e desnutrida apresenta alto risco de desenvolver sarampo agudo (Caso Clínico 58-1) . **Pneumonia por células gigantes sem exantema** ocorre em crianças com deficiência de imunidade de célula T. A superinfecção bacteriana aguda e pneumonia ocorrem em crianças desnutridas com até 25% de mortalidade.

Caso Clínico 58-1 Sarampo em uma Criança Imunocomprometida

A ausência de uma resposta imune celular permite que a infecção por sarampo em indivíduos imunocomprometidos resulte em sérias complicações. Em um caso relatado por Pullan et al. (Br. Med J 1:1562-1565, 1976), uma criança que estava sob tratamento de leucemia linfoblástica aguda (LLA) com quimioterapia recebeu imunoglobulina após 3 dias de exposição ao vírus do sarampo. Apesar da terapia com IgG, 23 dias após a exposição a criança desenvolveu um exantema extenso que se tornou hemorrágico. A criança teve febre de 39,5°C e broncopneumonia. O vírus foi coletado a partir de secreções nasofaríngeas e células gigantes (sincícios) foram identificadas através da imuno histoquímica que demonstrou a presença de antígenos virais do sarampo nessas secreções. A quimioterapia foi interrompida e ela recebeu várias doses massivas de imunoglobulina. Ela apresentou um quando de melhora 1 mês após o início do aparecimento do exantema.

Em outro caso, durante os 2,5 anos em que um menino esteve sob tratamento para LLA ele sofreu de infecções graves por HSV ao redor da boca e herpes zóster no tronco. No terceiro ano de terapia ele foi exposto ao vírus do sarampo através de sua irmã e recebeu IgG. Após 19 dias desenvolveu sintomas respiratórios brandos, sem exantema. Após 29 dias se recusou a ir para a escola e teve um mau comportamento; seu comportamento foi progressivamente sendo alterado. Após 9 semanas ele desenvolveu uma convulsão motora, aumento de sonolência, dificuldade de fala e confusão que progrediu ao coma e óbito após 8 dias do início das convulsões. A sorologia indicou ausência de anticorpos contra o sarampo. A autópsia indicou a presença de CMV nos pulmões e ausência do vírus do sarampo. O cérebro mostrou degeneração extensa, mas nenhum vírus foi isolado. Os cortes cerebrais indicavam grandes corpos de inclusão intranucleares e citoplasmáticos com estruturas tubulares que pareciam nucleocapsídeos de sarampo no citoplasma. A imunofluorescência com anticorpos de indivíduos com panencefalite esclerosante subaguda (SSPE) ou anticorpos anti-sarampo indicou a presença de antígenos virais de sarampo. Esses casos ilustram a patologia exacerbada que o vírus do sarampo pode causar na ausência de uma resposta competente por células T. A ausência de imunidade permitiu a progressão do vírus até o cérebro, onde ele ou um variante (SSPE) foi responsável pela patologia que resultou na encefalite.

Diagnóstico Laboratorial

As manifestações clínicas do sarampo são normalmente muito características e raramente se faz necessário a realização de testes laboratoriais para estabelecer um diagnóstico. O vírus do sarampo é de difícil isolamento e cultura, apesar de crescer bem em células primárias de origem humana e símia. As secreções do trato respiratório, urina, sangue e tecido cerebral são as espécimes recomendadas. É melhor que sejam coletados espécimes sanguíneos e respiratórios durante o pródomo e até 1 a 2 dias depois do surgimento do exantema.

O antígeno de sarampo pode ser detectado em células da faringe ou em sedimentos da urina utilizando imunofluorescência; o genoma do sarampo pode ser identificado através da reação em cadeia da polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) em quaisquer dos espécimes acima citados. Os efeitos citopatológicos característicos, incluindo as células gigantes multinucleadas apresentando corpos de inclusão no citoplasma, podem ser visualizados através da coloração das células do trato superior respiratório e sedimentos da urina corados com Giemsa.

Os anticorpos, especialmente a imunoglobulina M (IgM), podem ser detectados quando o exantema está presente. A infecção por sarampo pode ser confirmada quando se observa a soroconversão ou pelo aumento de até quatro vezes do título de anticorpos específicos para sarampo obtidos do soro entre a fase aguda e a fase convalescente.

Tratamento, Prevenção e Controle

Como especificado anteriormente, uma vacina viva e atenuada de sarampo em uso nos Estados Unidos desde 1963 tem sido responsável por uma redução significativa na incidência de sarampo. Os protótipos atenuados Schwartz ou Moraten da vacina original Edmonston B estão sendo utilizados atualmente. A vacina viva e atenuada é aplicada em todas as crianças aos 2 anos de idade, em combinação com a caxumba e rubéola (**vacina MMR**) e as vacinas de varicela (Quadro 58-4). Embora a imunização na primeira infância seja bem-sucedida em mais de 95% das vacinas, a revacinação antes do período escolar primário e secundário é exigida em muitos estados americanos. Como observado anteriormente, a vacina morta de sarampo que foi introduzida em 1963 não teve efeito protetor; seu uso foi subsequentemente descontinuado, pois os receptores desta vacina corriam risco de apresentar a forma mais grave e atípica de infecção por sarampo. Visto que o vírus é estritamente humano possuindo um único sorotipo, o sarampo é um candidato excelente para erradicação, porém é impedido pelas dificuldades na distribuição da vacina em regiões onde não há condições apropriadas de refrigeração (p. ex., África) e dificuldades na própria rede de distribuição.

Quadro 58-4 Vacina Sarampo-Caxumba-Rubéola (MMR)[*]

Composição: vírus vivo e atenuado

Sarampo: variantes Schwartz ou Moraten da cepa original Edmonston B

Caxumba: variante Jeryl Lynn

Rubéola: variante RA/27-3

Esquema de vacinação: entre 15 a 24 meses e reforço aos 4 a 6 anos de idade ou antes da escola secundária (12 anos de idade).

Eficiência: 95% de imunização vitalícia em uma única dose

[*] *Dados de atualização da imunização em adultos, Morb Mortal Wkly Rep 40(RR-12), 1991*.

Os hospitais em áreas endêmicas de sarampo podem vacinar ou verificar a imunidade de seus empregados a fim de diminuir o risco de transmissão nosocomial. Aos indivíduos suscetíveis que foram expostos e são imunocomprometidos deve ser aplicado imunoglobulina para diminuir os riscos e a severidade da doença. Esse produto se torna mais eficiente se aplicado dentro de 6 dias após a exposição. Não existe tratamento antiviral específico disponível para o sarampo.

Vírus Parainfluenza

Os vírus parainfluenza, que foram descobertos no final da década de 1950, são vírus respiratórios que normalmente causam **sintomas brandos como os do resfriado**, porém também causam **doença grave do trato respiratório**. Quatro tipos sorológicos dentro do gênero parainfluenza são patógenos ao homem. Os tipos 1, 2 e 3 estão em segundo lugar, perdendo somente para o RSV como principal causa de infecção grave do trato respiratório inferior em bebês e crianças. Esses vírus estão especialmente associados à **laringotraqueobronquite** aguda (**crupe**). O tipo 4 causa infecção benigna no trato superior respiratório em crianças e adultos.

Patogênese e Imunidade

Os vírus parainfluenza infectam as células epiteliais do trato respiratório superior (Quadro 58-5). O parainfluenza se replica mais rapidamente do que os vírus de sarampo e caxumba e pode causar a formação de células gigantes e lise celular. Ao contrário dos vírus de sarampo e caxumba, os parainfluenza raramente causam viremia. O vírus geralmente se aloja no trato respiratório superior, causando somente sintomas comuns do resfriado. Em aproximadamente 25% dos casos o vírus se propaga até o trato respiratório inferior e em 2% a 3%, a doença assume a forma mais grave de laringotraqueobronquite.

Quadro 58-5 Mecanismos Patológicos do Vírus Parainfluenza

Existem quatro sorotipos do vírus.

A infecção é **limitada ao trato respiratório**; a doença no trato respiratório superior é mais comum, porém a infecção no trato respiratório inferior pode desenvolver enfermidades importantes.

O vírus parainfluenza não causa viremia ou disseminação sistêmica.

Entre as doenças temos o **resfriado, bronquite** (inflamação dos brônquios) e **crupe** (laringotraqueobronquite).

A infecção induz a imunidade protetora de curta duração

A reposta imunocelular causa tanto dano celular como confere proteção. A resposta por IgA é protetora porém fugaz. O vírus parainfluenza consegue manipular a imunidade celular a fim de limitar o desenvolvimento da memória imunológica. A existência de múltiplos sorotipos e a curta duração da imunidade após uma infecção natural tornam a reinfecção muito comum, porém mais branda, sugerindo no mínimo uma imunidade parcial.

Epidemiologia

Os parainfluenza são ubíquos e sua infecção é bastante comum (Quadro 58-6). O vírus é transmitido no contato pessoa a pessoa através de gotículas respiratórias. As infecções primárias normalmente ocorrem em bebês e crianças menores de 5 anos de idade. As reinfecções ocorrem por toda a vida, o que indica imunidade de curta duração. As infecções por parainfluenza 1 e 2, os principais responsáveis pelo crupe, tendem a ocorrer no outono, enquanto as infecções com o parainfluenza 3 ocorrem ao longo do ano. Todos esses vírus se propagam rapidamente em hospitais e podem causar surtos em enfermarias e unidades pediátricas.

Quadro 58-6 Epidemiologia nas Infecções do Vírus Parainfluenza

Fatores Virais e da Doença

O vírion possui um grande envelope que é facilmente inativado através do ressecamento e acidez.

O período de contágio precede o aparecimento de sintomas e pode ocorrer na ausência de sintomas.

A infecção é limitada a humanos

A reinfecção pode ocorrer vários anos depois.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis

Quem Está sob Risco?

Crianças: risco de doença branda ou crupe

Adultos: risco de reinfecção com sintomas brandos.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é ubíquo e distribuído em todo o mundo.

A incidência é sazonal.

Modo de Controle

Não existe forma de controle da infecção.

Síndrome Clínica

Os vírus parainfluenza 1, 2 e 3 podem causar síndrome no trato respiratório variando entre um **resfriado com infecção do trato respiratório superior** (coriza, faringite, bronquite, chiado e febre) até uma **bronquiolite** e **pneumonia**. Crianças maiores e adultos geralmente têm infecções mais brandas do que aquelas observadas em crianças pequenas, apesar da pneumonia ocorrer mais frequentemente em idosos.

A infecção pelo vírus parainfluenza pode ser mais severa em crianças do que em adultos, causando bronquiolite, pneumonia e mais particularmente o crupe (laringotraqueobronquite). O **crupe** traz como consequência um edema subglótico com possível obstrução da via respiratória. Sintomas como rouquidão, “tosse de cachorro”, taquipneia, taquicardia e retração suprasternal são desenvolvidos em pacientes infectado após 2 a 6 dias de período de incubação. A maioria das crianças se recupera dentro de 48 horas. O principal diagnóstico diferencial é a epiglotite causada pelo *Haemophilus influezae*.

Diagnóstico Laboratorial

O vírus parainfluenza é isolado a partir de lavado nasal e secreções respiratórias e cresce bem em culturas celulares primárias de rim de macaco. Como em outros paramixovírus, os vírus se tornam instáveis durante o transporte ao laboratório. A presença de células infectadas nos aspirados ou em cultura celular é indicada pela observação de sincícios e confirmada por imunofluorescência. Assim como a hemaglutinina do vírus influenza, a hemaglutinina do vírus parainfluenza promove a hemadsorção e hemaglutinação. O sorotipo pode ser determinado através do uso de anticorpos específicos que bloqueiam a hemadsorção ou hemaglutinação (inibição da hemaglutinação). As técnicas rápidas de RT-PCR estão se tornando os métodos de escolha para detectar e identificar os vírus parainfluenza em secreções respiratórias.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento do crupe consiste na administração de nebulização fria ou quente e o monitoramento cuidadoso da via aérea superior. A intubação pode ser necessária em ocasiões raras. Não existe um antiviral específico disponível.

A vacinação com a vacina de vírus atenuados não é eficaz, possivelmente por não ser capaz de induzir anticorpos secretórios locais e uma imunidade celular adequada.

Vírus da Caxumba

O vírus da caxumba causa uma **parotidite** aguda e benigna (inflamação dolorosa nas glândulas salivares). A caxumba é rara em países que utilizam a vacina viva, que é administrada com as vacinas de sarampo e rubéola.

O vírus da caxumba foi isolado em ovos embrionados em 1945 e em cultura celular em 1955. O vírus se encontra estreitamente relacionado com o vírus parainfluenza 2, porém não há evidências de imunidade cruzada com os vírus parainfluenza.

Patogênese e Imunidade

O vírus da caxumba, com somente um único sorotipo conhecido, causa infecção lítica nas células (Quadro 58-7). O vírus principia a infecção nas células epiteliais do trato respiratório superior, infectando a glândula parótida tanto via ducto de Stensen ou através de viremia. O vírus se propaga pela viremia por todo o corpo até os testículos, ovários, pâncreas, tireoide e outros órgãos. A infecção no sistema nervoso central, especialmente nas meninges, ocorre em 50% dos infectados (Fig. 58-7). As respostas inflamatórias são as principais responsáveis pelos sintomas. O tempo de duração da infecção em humanos é mostrado na Figura 58-8. A imunidade adquirida é vitalícia.

Quadro 58-7 Mecanismos Patológicos do Vírus da Caxumba

O vírus infecta as células epiteliais do trato respiratório.

O vírus se dissemina de forma sistêmica por viremia.

Infecções da glândula parótida, testículos e sistema nervoso central podem ocorrer.

O principal sintoma é o aumento das glândulas parótidas como resultado de um processo inflamatório.

A imunidade celular é essencial no controle da infecção e é responsável por alguns dos sintomas. A resposta por anticorpo não é suficiente por causa da habilidade do vírus em se disseminar de célula para célula.

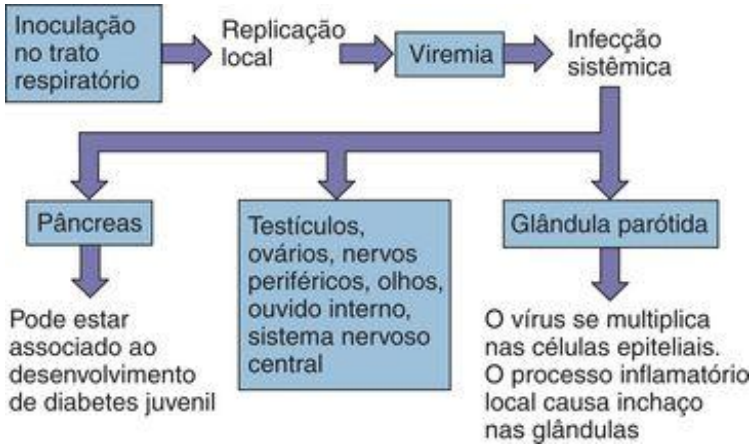


Figura 58-7 Mecanismo de disseminação do vírus da caxumba no corpo.

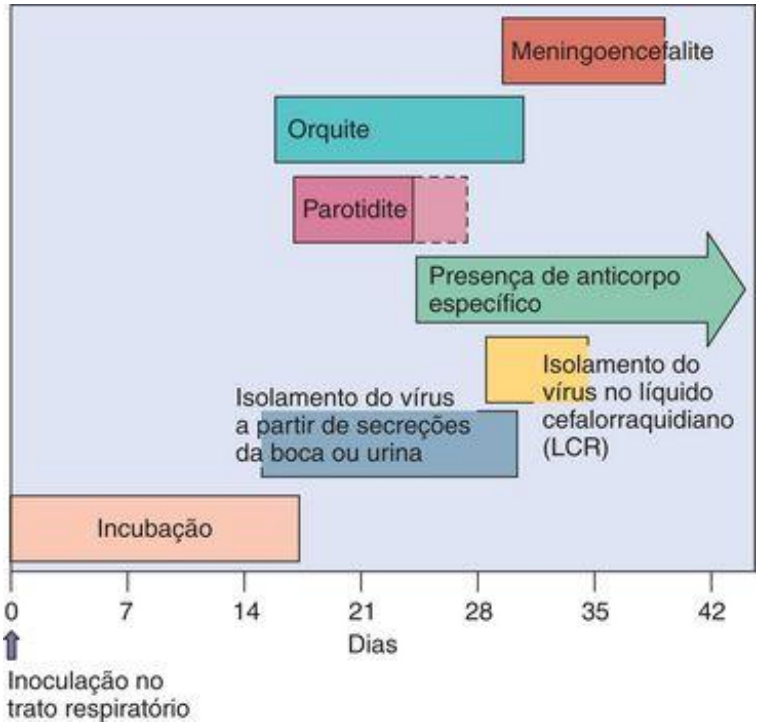


Figura 58-8 O curso da infecção pelo vírus da caxumba.

Epidemiologia

A caxumba, como o sarampo, é uma doença bastante contagiosa com um único sorotipo e infectando somente humanos (Quadro 58-8). Na ausência de programas de vacinação, a infecção ocorre em 90% das pessoas até a idade de 15 anos. O vírus é disseminado no contato pessoa a pessoa através de gotículas respiratórias. O vírus é liberado em secreções respiratórias de pacientes assintomáticos e durante o período de incubação de 7 dias antes de a doença clínica aparecer, portanto é praticamente impossível o controle da disseminação do vírus. Morar ou trabalhar em lugares aglomerados favorece a disseminação do vírus e a incidência de infecção é maior no inverno e primavera.

Quadro 58-8 Epidemiologia do Vírus da Caxumba

Doença e Fatores Virais

O vírion possui um envelope grande que é facilmente inativado por ressecamento e acidez.

O período de contágio precede o aparecimento dos sintomas.

Pode ocorrer a eliminação assintomática do vírus.

A infecção é limitada a humanos.

Existe somente um único sorotipo.

A imunidade adquirida é vitalícia.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis.

Quem Está sob Risco?

Pessoas não vacinadas

Pessoas imunocomprometidas apresentam evolução para quadros mais graves.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo.

O vírus é endêmico no final do inverno até o início da primavera.

Modo de Controle

Vacina viva e atenuada (variante Jeryl Lynn) componente da vacina MMR.

Síndrome Clínica

A infecção por caxumba é frequentemente assintomática. A doença clínica se manifesta como uma parotidite quase sempre bilateral acompanhada de febre. Os primeiros sintomas são repentinos. No exame oral se observa vermelhidão e inchaço do óstio do ducto de Stensen (parótida). A inflamação de outras glândulas (epididimorquite, ooforite, mastite, pancreatite e tiroidite) e meningoencefalite podem ocorrer alguns dias depois do início dos sintomas da infecção viral, mas também podem ocorrer na ausência de parotidite. O processo inflamatório resultante de orquite pelo vírus da caxumba pode levar à esterilidade. O vírus da caxumba atinge o sistema nervoso central em aproximadamente 50% dos pacientes; 10% dos afetados podem apresentar uma meningite branda em 5 a cada 1.000 casos de encefalite.

Diagnóstico Laboratorial

O vírus pode ser colhido na saliva, urina, faringe, secreções do ducto de Stensem e líquido cefalorraquidiano. O vírus está presente na saliva por cerca de 5 dias após o início dos sintomas e na urina por até 2 semanas. O vírus da caxumba cresce bem em células de rim de macaco, levando à formação de células gigantes multinucleadas. A hemadsorção de eritrócitos de cobaias também ocorre em células infectadas pelos vírus devido à hemaglutinina viral.

O diagnóstico clínico pode ser confirmado através de testes sorológicos. Um aumento de até quatro vezes no nível de anticorpo específico ou na detecção de anticorpo IgM específico para caxumba indica uma infecção ativa. Os ensaios imunoenzimáticos, testes de imunofluorescência e inibição da hemaglutinação podem ser usados a fim de detectar o vírus, o antígeno ou o anticorpo da caxumba.

Tratamento, Prevenção e Controle

As vacinas fornecem a única maneira eficaz de prevenção da caxumba. Desde a introdução da vacina viva e atenuada (vacina Jeryl Lynn) nos Estados Unidos em 1967 e sua administração como parte da vacina MMR, a incidência anual da infecção diminuiu de 76 para 2 em cada 100.000. Agentes antivirais não estão disponíveis.

Vírus Sincicial Respiratório

O RSV, que foi primeiramente isolado de um chimpanzé em 1956, é um membro do gênero *Pneumovirus*. Diferente dos outros paramixovírus, o RSV não apresenta as atividades de hemaglutinina e neuraminidase. Representa a causa mais comum de **infecção aguda fatal do trato respiratório** em bebês e crianças. Infecta praticamente todas as pessoas até os 2 anos de idade e as reinfecções ocorrem por toda a vida, mesmo entre os idosos.

Patogênese e Imunidade

O RSV produz uma infecção que está localizada no trato respiratório (Quadro 58-9). Como o nome sugere, o RSV leva à formação de sincícios. O efeito patológico do RSV é causado pela invasão direta do vírus no epitélio respiratório, acompanhada do dano celular provocado pela resposta imune. A necrose dos brônquios e bronquíolos leva à formação de um tampão mucoso, fibrina e material necrótico dentro das pequenas vias aéreas. As vias aéreas estreitas dos bebês ficam rapidamente obstruídas por esses tampões. A imunidade natural não previne uma reinfecção e vacinação com a vacina contendo vírus atenuados parece agravar o quadro das doenças subsequentes.

Quadro 58-9 Mecanismos Patológicos do Vírus Sincicial Respiratório

O vírus causa uma infecção localizada no trato respiratório.

O vírus não causa viremia ou disseminação sistêmica.

A pneumonia resulta da disseminação citopatológica do vírus (incluindo a formação de sincícios).

A bronquiolite está mais relacionada à resposta imune do hospedeiro.

As vias aéreas mais estreitas dos bebês são facilmente obstruídas pelos efeitos patológicos da infecção do vírus.

O anticorpo materno não protege o bebê da infecção.

A infecção natural não previne uma possível reinfecção.

A vacinação inapropriada tende a agravar o quadro da doença.

Epidemiologia

RSV é bastante prevalente em crianças pequenas; praticamente todas as crianças já foram infectadas até os 2 anos de idade (Quadro 58-10), com taxas anuais de infecção de até 64 milhões e mortalidade de até 160.000. De 25% até 33% desses casos envolvem o trato respiratório inferior e 1% apresenta quadro clínico grave com hospitalização (95.000 crianças ao ano nos Estados Unidos).

Quadro 58-10 Epidemiologia do Vírus Sincicial Respiratório

Doença e Fatores Virais

O vírion possui um grande envelope que é facilmente inativado por ressecamento e acidez.

O período de contágio precede o aparecimento dos sintomas e pode ocorrer mesmo na ausência de sintomas.

A infecção é limitada a humanos.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis.

Quem Está sob Risco?

Bebês: infecção do trato respiratório inferior (bronquiolite e pneumonia)

Crianças: risco pode variar desde uma doença branda até pneumonia.

Adultos: risco de reinfecção com sintomas brandos

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é ubíquo e encontrado em todo o mundo.

A incidência do vírus é sazonal.

Modos de Controle

A imunoglobulina se encontra disponível para bebês de alto risco.

A ribavirina aerossol se encontra disponível para bebês com complicações graves.

As infecções por RSV quase sempre acontecem no inverno. Ao contrário de influenza que pode ocasionalmente pular um ano, a epidemia por RSV ocorre anualmente.

O vírus é altamente contagioso, com um período de incubação de 4 a 5 dias. A introdução do vírus em berçários, especialmente em unidades de tratamento intensivo, pode ser devastador. Praticamente todos os bebês são infectados e a infecção está associada à morbidade alta e ocasionalmente leva ao óbito. O vírus é transmitido através das mãos, fômites e algumas vezes pelas vias respiratórias.

Como citado anteriormente, o RSV infecta todas as crianças até a idade de 4 anos, principalmente nos centros urbanos. Os surtos também podem ocorrer na população idosa (p. ex., em asilos ou casas de repouso). O vírus é eliminado nas secreções respiratórias por muitos dias, especialmente pelas crianças.

Síndrome Clínica (Quadro 58-11)

O RSV pode causar qualquer doença no trato respiratório, desde um **resfriado comum** até uma **pneumonia** (Tab. 58-4). A infecção no trato respiratório superior com proeminente rinorreia (corrimento nasal) é muito comum em crianças e adultos. Um quadro mais grave da doença no trato respiratório inferior, a **bronquiolite**, pode ocorrer em bebês. Em consequência da inflamação nos bronquíolos, há o bloqueio aéreo e diminuição da ventilação. Clinicamente o paciente apresenta febre baixa, taquipneia, taquicardia e sibilos expiratórios nos pulmões. A bronquiolite é autolimitada, porém deve ser observada com atenção em bebês. Pode ser fatal em bebês prematuros, pessoas com histórico de doença pulmonar e imunocomprometidos.

Quadro 58-11 Resumos Clínicos

Sarampo: Uma mulher de 18 anos de idade ficou em casa por 10 dias após uma viagem ao Haiti por apresentar febre, tosse, corrimento nasal e discreto eritema nos olhos. Este quadro evoluiu para olhos bastante avermelhados e exantema na face, tronco e extremidade. Também apresenta muitas lesões esbranquiçadas de 1mm no interior da boca. Ela nunca foi vacinada contra o sarampo por ser portadora de uma alergia a ovo.

Caxumba: Um homem de 30 anos de idade retornando de uma viagem à Rússia apresentou dores de cabeça por 1 a 2 dias e diminuição do apetite, seguido de inchaço em ambos os lados abaixo da mandíbula. O inchaço se estendeu da parte inferior da mandíbula até a parte posterior do ouvido. Após 5 dias do aparecimento do inchaço na mandíbula, o paciente começo

Crupe: Uma criança de 2 anos de idade com diminuição do apetite apresenta garganta inflamada, febre, rouquidão e “tosse de cachorro”. Um som de alta frequência (estridor) é ouvido durante a inspiração. O alargamento nas narinas indica dificuldade em respirar.

Tabela 58-4 Consequências Clínicas da Infecção pelo Vírus Sincicial Respiratório

Enfermidade	Grupo Etário Afetado
Bronquiolite, pneumonia ou ambos	Febre, tosse, dispneia e cianose em crianças menores de 1 ano
Rinite febril e faringite	Crianças
Resfriado	Crianças e adultos

Diagnóstico Laboratorial

O RSV é de difícil isolamento em cultura celular. A presença do genoma viral em células infectadas e lavados nasais pode ser detectada através das técnicas de RT-PCR. Os testes de imunofluorescência e testes imunoenzimáticos estão comercialmente disponíveis para a detecção do antígeno viral. A constatação de soroconversão ou o aumento do título de anticorpo em quatro vezes ou mais pode confirmar o diagnóstico para fins epidemiológicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Em crianças imunocompetentes, o tratamento é de suporte, podendo consistir em administração de oxigênio, fluidos intravenosos e nebulização fria. A **ribavirina**, um análogo de guanosina, é aprovada no tratamento de pacientes com predisposição para desenvolver um quadro mais grave (p. ex., bebês prematuros ou imunocomprometidos) e é administrada por inalação (nebulização).

A **imunização passiva** com imunoglobulina anti-RSV se encontra disponível para bebês prematuros. Crianças infectadas devem ser isoladas. As medidas de controle da infecção são necessárias para a equipe hospitalar que cuida das crianças infectadas a fim de evitar a transmissão do vírus para pacientes não infectados. Tais medidas incluem a lavagem de mãos e o uso de jaleco, óculos e máscaras.

Não existe vacina disponível para a profilaxia do RSV. Indivíduos que receberam uma vacina anteriormente disponível contendo RSV inativado desenvolveram um quadro mais grave da doença quando foram subsequentemente expostos ao vírus vivo. Acredita-se que o desenvolvimento desse quadro seja o resultado de uma resposta imune exacerbada no momento da exposição ao vírus selvagem.

Metapneumovírus Humano

O metapneumovírus humano foi reconhecido recentemente com um membro da família pneumovírus. A utilização de RT-PCR continua sendo um recurso para detecção dos pneumovírus e diferenciação de outros vírus respiratórios. A sua identidade era desconhecida até recentemente, pela dificuldade de crescimento em cultura celular. O vírus é ubíquo e quase todas as crianças até 5 anos de idade já tiveram uma infecção pelo vírus e são soropositivas.

Como o RSV, as infecções pelo metapneumovírus humano podem ser desde assintomáticas, passando por um resfriado comum ou até uma bronquiolite aguda e pneumonia. Crianças soronegativas, idosos e indivíduos imunocomprometidos estão com risco de adquirir a doença. Provavelmente os metapneumovírus humanos são responsáveis por cerca de 15% do resfriados em crianças, especialmente resfriados acompanhados de complicações como a otite média. Os sintomas da doença normalmente incluem tosse, garganta inflamada, corrimento nasal e febre alta. Aproximadamente 10% dos pacientes com metapneumovírus também apresentam chiado, dispneia, pneumonia, bronquite ou bronquiolite. Assim como os outros agentes virais responsáveis pelo resfriado, a identificação laboratorial do vírus não é feita rotineiramente, porém pode ser realizada através da RT-PCR. O acompanhamento cuidadoso (suporte) é a única terapia disponível nessas infecções.

Vírus Nipah e Hendra

Um paramixovírus recente, o vírus Nipah, foi isolado de pacientes após um surto de encefalite aguda na Malásia e Cingapura em 1998. O vírus Nipah está estreitamente relacionado ao vírus Hendra, descoberto em 1994 na Austrália, do que a qualquer outro paramixovírus. Ambos os vírus possuem uma grande variedade de hospedeiros, incluindo suínos, humanos, caninos, equinos, felinos e outros mamíferos. Para o vírus Nipah o reservatório é um morcego que se alimenta de frutas (raposa voadora). O vírus pode ser obtido a partir da fruta contaminada por morcegos infectados ou a partir de suínos infectados com disseminação do vírus ao homem. O homem é um hospedeiro acidental para esses vírus, mas o desenvolvimento da infecção humana é grave. Os sintomas da doença incluem sintomas parecidos com a gripe, convulsões e o coma. Entre os 269 casos que ocorreram em 1999, 108 foram fatais. Outra epidemia em Bangladesh em 2004 obteve uma taxa de mortalidade maior.

Estudo de Casos e Questões

Um estudante universitário de 18 anos de idade se queixou de tosse, corrimento nasal e conjuntivite. O médico que o atendeu no centro de saúde observou pequenas lesões esbranquiçadas no interior da boca do paciente. No dia seguinte, lesões avermelhadas confluentes cobriam seu rosto e pescoço.

1. Quais as características clínicas deste caso que representariam um diagnóstico de sarampo?

1. Tosse, conjuntivite, coriza, erupção cutânea e manchas de Koplik (lesões brancas na boca) são características de sarampo. Fotofobia também pode estar presente.

2. Existem testes rápidos de laboratório disponíveis para confirmar o diagnóstico? Se sim, quais são esses testes?

2. O diagnóstico geralmente é feito com base nos sinais da doença. Os testes laboratoriais que podem confirmar o diagnóstico incluem PCR (após transcrição reversa) para detecção do genoma viral ou imunofluorescência para detecção de antígenos virais nas células presentes em secreções do trato respiratório, urina ou sangue.

3. Existe algum tratamento para este paciente?

3. Não existem medicamentos antivirais disponíveis para o sarampo, mas imunoglobulina pode limitar a severidade da doença.

4. Quando este paciente apresentou a forma contagiosa da doença?

4. O paciente apresentou a forma contagiosa cerca de 7 dias antes e 3-4 dias após o aparecimento dos sinais da doença.

5. Porque essa doença não é comum nos Estados Unidos?

5. Esta é uma doença que está se tornando rara devido a um programa de imunização efetivo.

6. Descreva as possíveis razões que tornam essa pessoa suscetível ao sarampo com 18 anos de idade.

6. O paciente pode ter tido uma resposta imunológica insuficiente para impedir a propagação do vírus do sarampo e início da doença. Isso pode ocorrer se o indivíduo não foi imunizado ou não recebeu a dose de reforço da vacina quando adolescente. Na ausência de doença natural, as nossas respostas imunológicas (inclusive aqueles estabelecidos pela imunização) podem cair abaixo do limiar de proteção.

Uma criança de 13 meses de idade apresentava corrimento nasal, tosse branda e febre baixa por muitos dias. A tosse piorou e soava como latido de cachorro. A criança também apresentava chiado quando estava agitada. A criança parecia bem, exceto pela tosse. Uma radiografia lateral do pescoço mostrou um estreitamento subglótico.

1. Quais os nomes específico e comum desses sintomas?

1. Esta doença é chamada de laringotraqueobronquite (ou crupe) e é causada por parainfluenza vírus.

2. Quais outros agentes poderiam causar um quadro clínico similar (diagnóstico diferencial)?

2 .*Haemophilus influenzae pode* causar uma epiglotite que teria sinais clínicos semelhantes. Ainda vírus sincicial respiratório, metapneumovírus e influenza podem causar uma doença semelhante a crupe, chamada *crupe-like*.

3. Existem testes rápidos de laboratório disponíveis para confirmar o diagnóstico? Se sim, quais são esses testes?

3. O vírus pode ser identificado a partir de lavados nasais submetidos ao cultivo celular. Na cultura celular o vírus provoca o aparecimento de células gigantes multinucleadas (sincícios). Também estas secreções nasais podem ser submetidas à RT-PCR para detectar e identificar o vírus.

4. Existe algum tratamento para esta criança?

4. Não existe medicamento antiviral para esta doença, mas nebulização fria ou quente pode ajudar a abrir as vias aéreas.

5. Quando a criança apresentou a forma contagiosa da doença e como o vírus foi transmitido?

5. A criança está contagiosa durante o período sintomático. Este vírus é transmitido por via respiratória.

Bibliografia

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Centers for Disease Control and Prevention. Public-sector vaccination efforts in response to the resurgence of measles among preschoolaged children: United States, 1989–1991. *Morb Mortal Wkly Rep*. 1992;41:522-525.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.

Galinski MS. Paramyxoviridae: Transcription and replication. *Adv Virus Res*. 1991;40:129-163.

Griffin DE, Oldstone MB, editors. History and Basic Biology Series: Current Topics in Microbiology and Immunology, 329. New York: Springer-Verlag, 2009.

Griffin DE, Oldstone MB, editors. Pathogenesis and Control Series: Current Topics in Microbiology and Immunology, 330. New York: Springer-Verlag, 2009.

Hart CA, Broadhead RL. Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases. St Louis: Mosby, 1992.

Hinman AR. Potential candidates for eradication. *Rev Infect Dis*. 1982;4:933-939.

Gershon. et al: Krugman's Infectious Diseases of Children, 11th ed. St Louis: Mosby, 2004.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Lennette EH. Laboratory Diagnosis of Viral Infections, 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1999.

Meulen Meulen V, Billeter MA: Measles virus. In Curr Top Microbiol Immunol, Vol. 191: Berlin, Springer-Verlag, pp 1-196.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.

Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

Sites

Burnett M, Krusinski P. Measles, Rubeola (2007, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/derm/topic259.htm#section~AuthorsandEditors.

Demirci CS, Abuhammour W. Mumps (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/ped/topic1503.htm.

Fennelly, Fennelly GJ. Measles (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/ped/topic1388.htm.

Krilov, Krilov LR. Respiratory Syncytial Virus Infection (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/ped/topic2706.htm.

59 Ortomixovírus

Os vírus influenza A, B e C são os únicos membros da família *Ortomyxoviridae* e somente os vírus A e B provocam doença humana significante. Os ortomixovírus são **envelopados e possuem um genoma RNA segmentado em sentido negativo**. O genoma segmentado desses vírus facilita o desenvolvimento de novas cepas através da mutação e reagrupamento dos segmentos genéticos entre as diferentes cepas de vírus humanos e animais (influenza A). Esta instabilidade genética é responsável pelas **epidemias anuais (mutação: desvio ou *drift*)** e pelas **pandemias periódicas (reagrupamento: deslocamento ou *shift*)** da infecção pelo influenza em todo o mundo.

A gripe é uma das infecções virais mais prevalentes e importantes. Existem até descrições d e **epidemias (disseminação local)** de gripe que ocorreram em tempos antigos. Provavelmente a **pandemia (mundial)** de gripe mais famosa tenha sido a gripe espanhola que varreu o mundo entre 1918 e 1919, matando 20 a 40 milhões de pessoas. De fato, mais pessoas morreram de gripe durante aquele período do que nas batalhas da Primeira Guerra Mundial. Pandemias provocadas por novos vírus influenza ocorreram em 1918, 1947, 1957, 1968 e 1977, mas, felizmente, nenhuma ocorreu desde então. Novas cepas de vírus foram detectadas desde a última pandemia, incluindo um surto de gripe aviária primeiramente observado em Hong Kong em 1997, que provocou alguma doença e fatalidade humana. Felizmente, a profilaxia sob a forma de vacinas e drogas antivirais está atualmente disponível para as pessoas com risco de resultados graves.

Os vírus influenza provocam sintomas respiratórios e os clássicos sintomas gripais de febre, mal-estar, cefaleia e mialgias (dores corporais). O termo **gripe**, no entanto, tem sido erroneamente empregado para fazer referência a muitas outras infecções respiratórias e virais (p. ex., “gripe intestinal”).

Estrutura e Replicação

Os vírions influenza são pleomórficos, de aspecto esférico ou tubular (Quadro 59-1 e Fig. 59-1), variando em diâmetro de 80 a 120nm. O envelope contém duas glicoproteínas, a **hemaglutinina (HA)** e a **neuraminidase (NA)**, e a **proteína de membrana (M_2)**, sendo internamente revestidos pela proteína de **matriz (M_1)**. O genoma dos vírus influenza A e B consiste em **oito segmentos nucleocapsídicos helicoidais diferentes**, cada um deles contendo um RNA em sentido contrário associado à **nucleoproteína (NP)** e à **transcriptase (componentes RNA polimerase: PB1, PB2, PA)** (Tab. 59-1). O influenza C só possui sete segmentos genômicos.

Quadro 59-1 Propriedades Características dos Vírus Influenza A e B

O vírion envelopado possui um genoma de **oito segmentos de nucleocapsídeo RNA em sentido negativo**.

A glicoproteína **hemaglutinina** é a proteína de ligação e de fusão viral; ela evoca respostas de anticorpos neutralizantes, protetores.

O influenza transcreve e replica o seu genoma no núcleo da célula-alvo, mas é montado e brota da membrana plasmática.

As drogas antivirais **amantadina** e **rimantadina** inibem uma etapa de perda do revestimento e visam a proteína M_2 (membrana) *apenas* no influenza A.

As drogas antivirais **zanamivir** e **oseltamivir** inibem a proteína NA do influenza A e B.

O genoma segmentado promove a **diversidade genética** provocada por **mutação** e **reagrupamento** dos segmentos infectantes com duas cepas diferentes.

O influenza A infecta seres humanos, mamíferos e aves (zoonose)

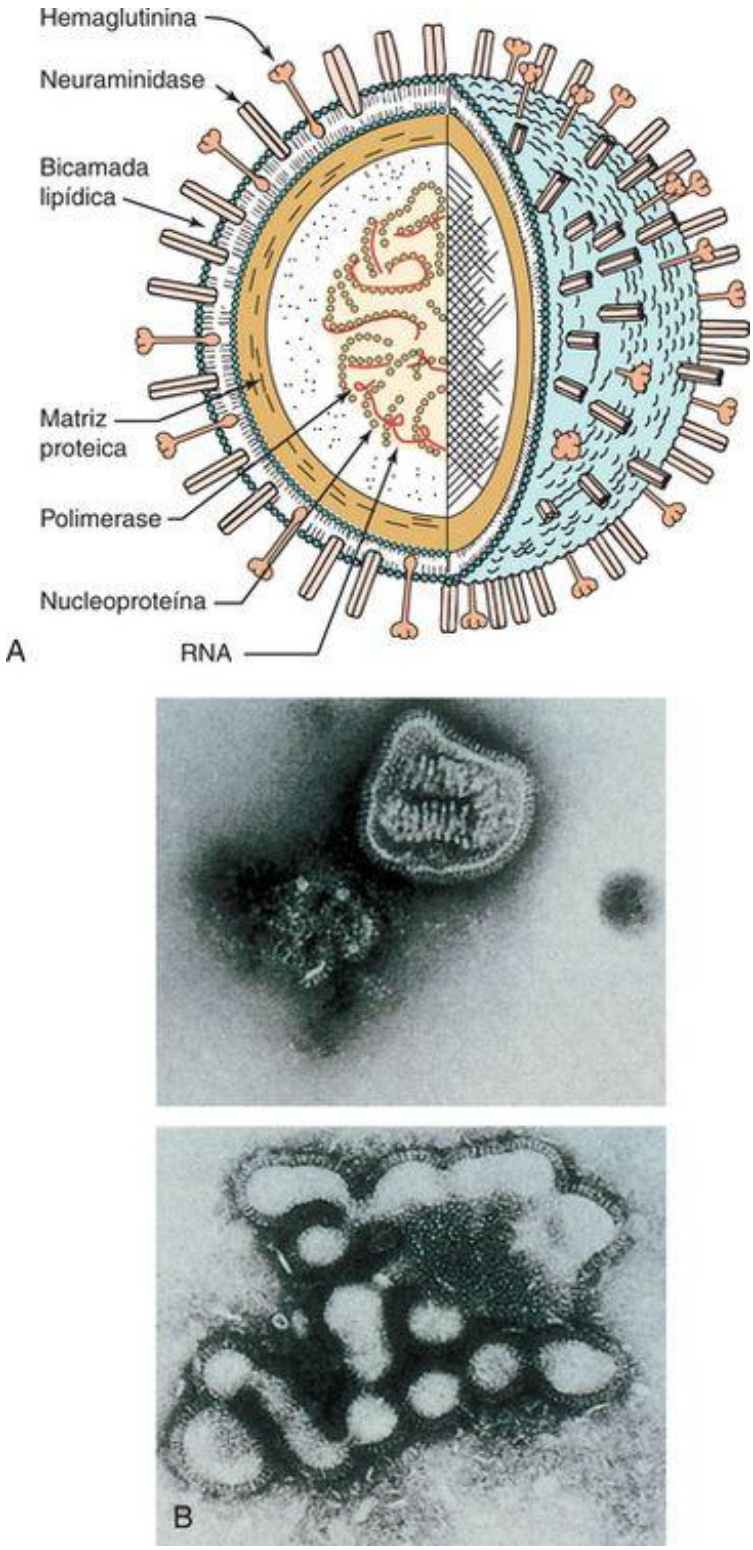


Figura 59-1 **A**, Modelo do vírus influenza A. **B**, Microfotografias eletrônicas do vírus influenza A.

*(**A** de Kaplan MM, Webster RG: The epidemiology of influenza. Sci Am 237:88-106, 1977; **B** de Balows A, et al (eds): Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Pratice, vol 2. Heidelberg, Alemanha, Springer-Verlag, 1988.)*

Tabela 59-1 Produtos dos Segmentos Gênicos do Influenza

Segmento*	Proteína	Função
1	PB2	Componente da polimerase
2	PB1	Componente da polimerase
3	PA	Componente da polimerase
4	HA	Hemaglutinina, proteína de ligação viral, proteína de fusão, alvo do anticorpo neutralizante
5	NP	Nucleocapsídeo
6	NA	Neuramindase (cliva o ácido siálico e promove a liberação viral)
7†	M_1	Proteína da matriz: proteína estrutural viral (interage com o nucleocapsídeo e com o envelope, promove a montagem)
	M_2	Proteína de membrana (forma o canal da membrana a é o alvo da amantadina, facilita a perda do revestimento e a produção de HA)
8	NS_1	Proteína não estrutural (inibe a tradução de mRNA celular)
	NS_2	Proteína não estrutural (promove a exportação do nucleocapsídeo do núcleo)

* *Listado em ordem decrescente de tamanho*.

† *Codifica dois RNAs mensageiros*.

Os segmentos genômicos no vírus influenza A variam de 890 a 2.340 bases. Todas as proteínas são codificadas em segmentos separados, com exceção das proteínas não estruturais (NS_1 e NS_2) e as proteínas M_1 e M_2, que são cada uma transcrita a partir de segmento.

A **HA** forma um trímero em forma de tridente; cada unidade é ativada por uma protease e clivada em duas subunidades mantidas juntas por uma ponte dissulfeto (Cap. 4, Fig. 4-8). A HA possui várias funções. É a proteína de ligação viral, que se vincula ao ácido siálico nos receptores de superfície das células epiteliais, promove a fusão do envelope à membrana celular; hemaglutina (liga e agrega) hemácias humanas, de galinha e de cobaia, e que evoca a resposta protetiva de anticorpos neutralizantes. As alterações derivadas de mutações na HA são responsáveis pelas alterações menores (“desvio”) e maiores (“deslocamento”) na antigenicidade. *As alterações só ocorrem com o vírus influenza A, e as diferentes HAs são designadas H1, H2 e assim por diante*.

A glicoproteína **NA** forma um tetrâmero e possui atividade enzimática. A NA cliva o ácido siálico em glicoproteínas, incluindo o receptor celular. A clivagem do ácido siálico em proteínas do vírion impede o agrupamento e facilita a liberação do vírus pelas células infectadas, tornando a NA um alvo para dois fármacos antivirais, o **zanamivir (Relenza®)** e o **oseltamivir (Tamiflu®)**. A NA do vírus influenza A também sofre alterações antigênicas e as principais diferenças adquirem as designações N1, N2 e assim por diante.

As proteínas **M_1**, **M_2** e **NP** são tipo-específicas sendo usadas para diferenciar os vírus influenza A, B e C. As proteínas M_1 revestem o interior do vírion e promovem a montagem. A proteína M_2 forma um canal de próton na membrana e promove a perda dos revestimentos e a liberação viral. A M_2 do influenza A é o alvo das drogas antivirais **amantadina** e **rimantadina**.

A replicação viral inicia com a ligação da HA a estruturas siálicas específicas das glicoproteínas da superfície celular (Fig. 59-2). O vírus é, então, internalizado dentro de uma vesícula revestida e transferido para um endossomo. A acidificação do endossomo faz com que a HA se dobre e exponha as regiões hidrofóbicas promotoras de fusão da proteína. O envelope viral se funde com a membrana do endossomo. O canal de prótons formado pela proteína M_2 promove a acidificação dos conteúdos do envelope quebrando a interação entre

a proteína M_1 e a NP, permitindo a perda dos revestimentos e a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma.

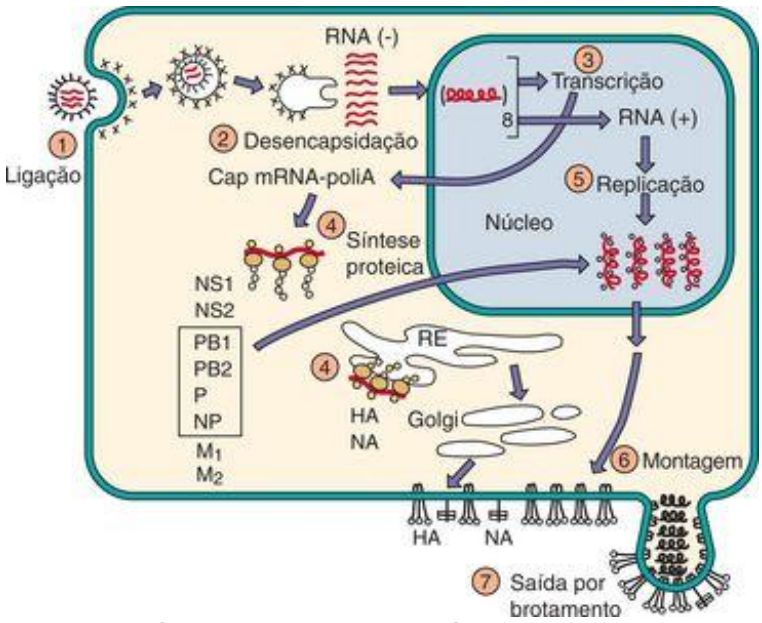


Figura 59-2 Replicação do vírus influenza A. Após a ligação *(1)* aos receptores contendo ácido siálico, o influenza é endocitosado e se funde *(2)* com a membrana da vesícula. Ao contrário da maioria dos outros vírus RNA, a transcrição *(3)* e a replicação *(5)* do genoma ocorrem no núcleo. As proteínas virais são sintetizadas *(4)*, fragmentos helicoidais de nucleocapsídeos se formam e se associam *(6)* com as membranas revestidas de proteína M1 contendo M2 e as glicoproteínas HA e NA. O vírus brota *(7)* da membrana plasmática com oito a 11 segmentos de nucleocapsídeos. (–) sentido negativo; (+) sentido positivo; RE, retículo endoplasmático.

Ao contrário da maioria dos vírus RNA, o nucleocapsídeo do influenza se desloca para o núcleo onde é transcrito em ácido ribonucleico mensageiro (mRNA). A transcriptase (PA, PB1 e PB2) utiliza o mRNA celular do hospedeiro como *primer* (iniciador) para a síntese de mRNA viral. Fazendo isso, ela se apodera da região *cap* metilada do RNA, a sequência necessária para uma ligação eficiente com os ribossomos. Todos os segmentos genômicos são transcritos em mRNA 5-*cap*, 3-poliadenilado (Poli A) para proteínas individuais, exceto os segmentos para as proteínas M e NS, que são, cada uma, diferenciadamente combinadas (utilizando enzimas celulares) para produzir 2 mRNAs diferentes. Os mRNAs são traduzidos em proteínas no citoplasma. As glicoproteínas HA e a NA são processadas pelo retículo endoplasmático e pelo aparelho de Golgi. A proteína M_2 se insere nas membranas celulares. O seu canal de prótons impede a acidificação do Golgi ou de outras vesículas, prevenindo o dobramento induzido pela acidificação e a inativação da HA no interior da célula. A HA e a NA são, então, transportadas para a superfície celular.

Moldes de RNA em sentido positivo são produzidos e o genoma RNA em sentido positivo é replicado no núcleo. Os segmentos genômicos se associam com a polimerase e com as proteínas NP para formar os nucleocapsídeos e a proteína NS_2 facilita o transporte dos ribonucleocapsídeos no citoplasma, onde interagem com a proteína M_1 revestindo seções da membrana plasmática contendo M_2, HA e NA. Os segmentos genômicos são envelopados de modo aleatório, com 8 a 11 segmentos por vírion. Este processo produz um pequeno número de vírions com o conjunto completo de 8 segmentos genômicos e numerosas partículas defectivas. As partículas são antigênicas e também podem provocar interferência, o que pode limitar a progressão da infecção. Os vírus brotam seletivamente da superfície apical da célula como resultado da inserção preferencial da HA nessa membrana. O vírus é liberado em aproximadamente 8 horas após a infecção.

Patogênese e Imunidade

O influenza inicialmente estabelece uma infecção local do trato respiratório superior (Quadro 59-2). Para fazer isso, o vírus tem como primeiro alvo as células secretoras de muco, as células ciliadas e outras células epiteliais, infectando-as e matando-as o que provoca a perda desse sistema de defesa primário. A NA facilita o desenvolvimento da infecção através da clivagem dos resíduos do ácido siálico do muco, proporcionando acesso ao tecido. A liberação preferencial do vírus na superfície apical das células epiteliais e no pulmão promove a disseminação célula a célula e a transmissão a outros hospedeiros. Se o vírus se disseminar para o trato respiratório inferior, a infecção pode provocar uma severa descamação do epitélio brônquico ou alveolar até uma camada basal de uma única célula ou até a membrana basal.

Quadro 59-2 Mecanismos Patológicos dos Vírus Influenza A e B

Os vírus podem estabelecer a infecção nos tratos respiratórios superior e inferior.

Os sintomas sistêmicos são provocados pela resposta ao vírus através do interferon e das linfocinas. Os sintomas locais resultam da lesão das células epiteliais, incluindo as células ciliadas e as células mucossecretoras.

O interferon e as respostas imune mediadas por células (células NK [*natural killer*] e T) são importantes para a resolução imune e para a imunopatogênese.

As pessoas infectadas estão predispostas à superinfecção bacteriana devido à perda das barreiras naturais e à exposição dos sítios de ligação nas células epiteliais.

O anticorpo é importante para a futura proteção contra infecção e é específico para epitopos definidos nas proteínas HA e NA.

A HA e a NA do vírus influenza A podem sofrer alterações antigênicas **maiores (reagrupamento: deslocamento ou *shift*)** e **menores (mutação: desvio ou *drift*)** a fim de assegurar a presença de pessoas sem exposição prévia, suscetíveis.

O vírus influenza B só sofre alterações antigênicas menores.

Além de comprometer as defesas naturais do trato respiratório, a infecção pelo influenza promove a adesão bacteriana às células epiteliais. A pneumonia pode resultar de uma patogênese viral ou por uma infecção bacteriana secundária. O influenza também pode provocar uma viremia transitória ou de baixa intensidade, mas raramente envolve outros tecidos que não o pulmão.

Histologicamente, a infecção pelo influenza leva a uma resposta celular inflamatória da membrana mucosa, que consiste, primariamente, em monócitos e linfócitos e em alguns neutrófilos. O edema submucoso está presente. O tecido pulmonar pode revelar doença da membrana hialina, enfisema alveolar e necrose das paredes alveolares (Fig. 59-3).

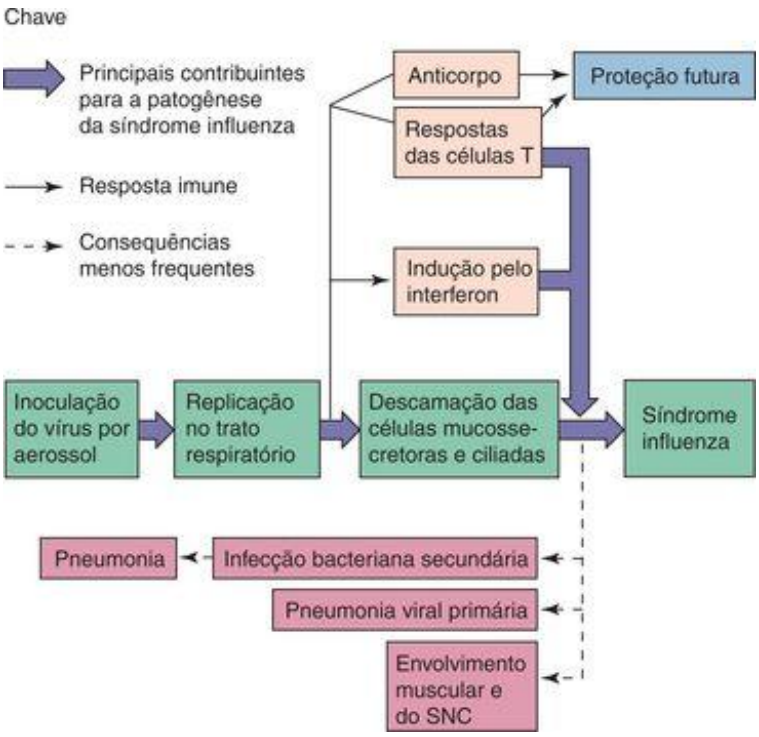


Figura 59-3 Patogênese do vírus influenza A. Os sintomas da gripe são causados pelos efeitos patológicos e imunopatológicos, mas a infecção pode promover infecção bacteriana secundária, SNC, sistema nervoso central.

As respostas através de interferon e citocina têm seu pico quase ao mesmo tempo que o vírus na cavidade nasal é eliminado, sendo concomitantes com a fase febril da doença. As respostas das células T são importantes para uma recuperação efetiva e para a imunopatogênese. Todavia, a infecção pelo influenza deprime a função dos macrófagos e das células T, dificultando a resolução imune. Curiosamente, a recuperação frequentemente precede a detecção dos anticorpos no soro ou nas secreções.

A proteção contra a reinfecção está primariamente associada ao desenvolvimento de anticorpos para a HA, mas anticorpos para a NA também são protetores. A resposta dos anticorpos é específica para cada cepa de influenza, mas a resposta imune mediada por células é mais geral, sendo capaz de reagir às cepas de influenza do mesmo tipo (vírus influenza A e B). Os alvos antigênicos para as respostas das células T incluem peptídeos da HA, mas também as proteínas do nucleocapsídeo (NP, PB2) e proteína M_1. As proteínas NP, PB2 e M_1 diferem consideravelmente entre os influenza A e B, mas não entre as cepas desses vírus; consequentemente a memória das células T pode fornecer proteção futura contra a infecção por diferentes cepas, tanto do influenza A quanto do B.

Os sintomas e o curso temporal da doença são determinados pelas respostas do interferon e das células T e pela extensão da perda de tecido epitelial. A gripe normalmente é uma doença autolimitada que raramente envolve órgãos outros que não os pulmões. *Muitos dos sintomas clássicos da "gripe"*; (*p. ex.*, *febre, mal-estar, cefaleia e mialgia) estão associados à indução pelo interferon*. A reparação dos tecidos comprometidos é iniciada em 3 a 5 dias após o início dos sintomas, mas pode levar até 1 mês ou mais, especialmente em idosos. O curso temporal da infecção pelo vírus influenza está ilustrado na Figura 59-4.

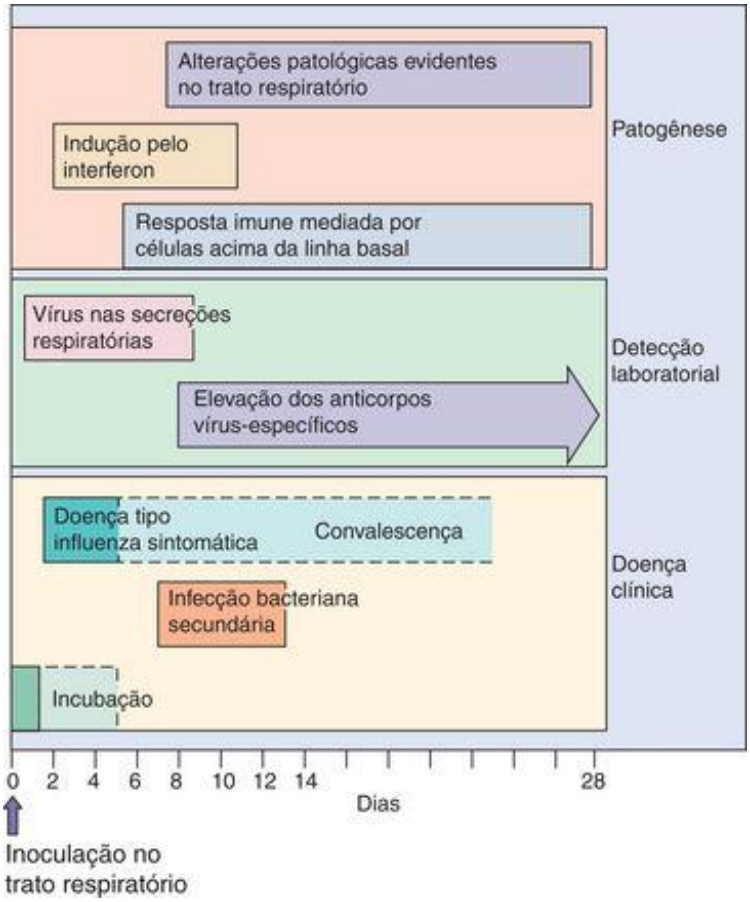


Figura 59-4 Evolução temporal da infecção pelo vírus influenza A. A clássica "síndrome da gripe" ocorre precocemente. Posteriormente, a pneumonia pode resultar da patogênese bacteriana, patogênese viral, ou imunopatogênese.

Epidemiologia

As cepas do vírus influenza A são classificadas segundo as seguintes quatro características:

1. Tipo (A, B e C)
2. Local de isolamento original
3. Data do isolamento original
4. Antígeno (HA e NA)

Por exemplo, uma cepa atual de vírus influenza pode ser designada A/Bangkok/1/79 (H3N2), significando que é um vírus influenza A que foi primeiramente isolado em Bangkok em janeiro de 1979 e que contém antígenos HA (H3) e NA (N2).

Cepas de influenza B são designadas por (1) tipo, (2) geografia e (3) data de isolamento (p.ex., B/Cingapura/3/64), mas sem a menção específica aos antígenos HA e NA, porque o influenza B não sofre *shift* (deslocamento) antigênico ou pandemias como o influenza A.

Novas cepas influenza A são geradas através de mutações e recombinações/reagrupamentos. A diversidade genética do influenza A é fomentada pela sua estrutura genômica segmentada e pela sua capacidade de infectar e de se replicar em seres humanos e em muitas espécies animais **(zoonose)**, incluindo aves e porcos. Os vírus híbridos são criados pela coinfecção de uma célula por diferentes cepas de vírus influenza A, permitindo que segmentos genômicos se associem aleatoriamente a novos vírions. Uma permuta nas glicoproteínas HA pode gerar um novo vírus que pode infectar uma população humana sem imunidade por exposição prévia. Por exemplo, um vírus H5N1 de patos e um vírus H3N2 humano infectaram porcos, foram isoladas quimeras dos porcos e os vírus resultantes foram capazes de infectar seres humanos (Fig. 59-5). Postula-se que este tipo de reagrupamento constitua a fonte das cepas patogênicas hu manas. Por causa da sua elevada densidade populacional e proximidade entre pessoas, porcos, galinhas e patos, se acredita que a China seja o terreno de procriação para novas quimeras virais e a fonte para muitas das cepas pandêmicas de influenza.

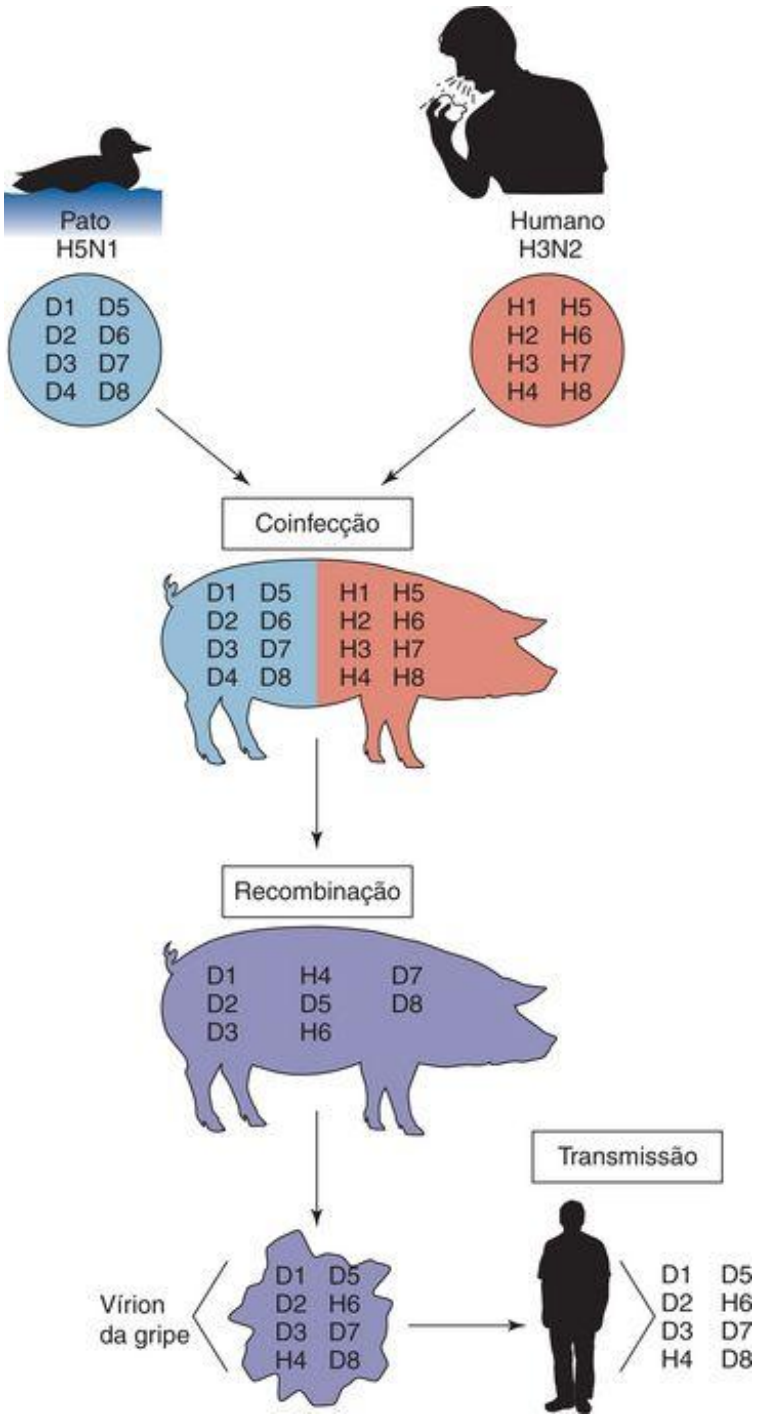


Figura 59-5 Exemplo de recombinação de fragmentos genômicos do vírus influenza A. Diagrama da origem de novos vírus humanos, com um *shift* (deslocamento) de H5N2 para H5N1. Porcos foram infectados com um vírus influenza de patos e um outro conjunto de porcos foi infectado com vírus influenza humano. Em algum momento, um porco sofreu uma infecção mista por ambos os vírus. O vírus resultante criado pela recombinação dos segmentos dos genes virais pode ser transmitido e infectar seres humanos.

Em 1997, uma cepa do vírus influenza aviário altamente patogênica (HPAIV) (H5N1) foi isolada em pelo menos 18 pessoas e provocou 6 mortes em Hong Kong (Caso Clínico 59-1). Aves aquáticas selvagens se tornaram o reservatório para esse vírus e o disseminaram ao redor do mundo. Surtos de infecção em aves domésticas e casos humanos isolados continuam a ser relatados na África, Europa e Ásia. Embora relativamente poucas pessoas tenham sido infectadas, este vírus H5N1 é incomum porque não é uma quimera, é muito virulento e pode passar diretamente das aves para os seres humanos. Um tropismo pela porção inferior do pulmão exige a inalação de grandes quantidades de vírus e o vírus e tecido-alvo tornam a infecção humana muito letal. A gripe aviária é transmitida pelas fezes das aves, não por transmissão inter-humana. Os surtos de gripe aviária exigem a destruição de todos os

pássaros potencialmente infectados, como os 1,6 milhão de frangos em Hong Kong, a fim de destruir a potencial fonte do vírus. Preocupações de que uma quimera com o vírus influenza humano possa gerar uma pandemia lideraram a iniciativa internacional pelo desenvolvimento e armazenamento de vacinas.

Caso Clínico 59-1 H5N1 Gripe Aviária

O primeiro caso de gripe aviária H5N1 foi descrito por Ku e Chan (*J Paediatr Chid Health* 35:207208, 1999). Depois de um menino chinês de 3 anos ter desenvolvido febre de 40°C e dor abdominal, foram lhe administrados antibióticos e aspirina. No 3° dia, ele foi hospitalizado com dor de garganta e o seu raios X demonstrou inflamação brônquica. Os exames de sangue demonstraram um desvio para a esquerda com 9% de bastões. No 6° dia, o menino ainda estava febril e plenamente consciente, mas no 7° dia, a sua febre aumentou, ele estava hiperventilando e os seus níveis de oxigênio sanguíneo reduziram. A radiologia indicou pneumonia grave. O paciente foi entubado. No 8° dia, o menino recebeu o diagnóstico de sepse fulminante e síndrome da angústia respiratória aguda (SARA). O tratamento da SARA e outras tentativas de melhorar a captação de oxigênio foram mal sucedidas. Ele foi tratado empiricamente para sepse, para infecção pelo vírus herpes simples (HSV) (aciclovir), para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (vancomicina) e para infecção fúngica (anfotericina B), mas a sua condição se deteriorou ainda mais, com coagulação intravascular disseminada (CID) e falência hepática e renal. Ele faleceu no 11° dia. Os resultados laboratoriais indicaram anticorpos para influenza A elevados no 8° dia e o influenza A foi isolado de uma amostra traqueal colhida no 9° dia. O isolado foi enviado para o CDC (Centers for Disease Control and Prevention) nos EUA e para outros locais onde foi classificado como gripe aviária H5N1 e nomeado *A/Hong Kong/156/97*. A criança pode ter contraído o vírus brincando com patinhos ou pintos no seu jardim de infância. Embora o vírus H5N1 ainda tenha dificuldade para infectar seres humanos, este caso demonstra a velocidade e a gravidade das manifestações respiratórias e sistêmicas da doença provocada pelo influenza aviário H5N1.

As **alterações antigênicas menores**, resultantes da mutação dos genes HA e NA, são denominadas **desvio antigênico (*drift*)**. A cada 2 a 3 anos ocorrem surtos locais de infecção por influenza A e B. As **alterações antigênicas maiores (deslocamento ou *shift* antigênico)** resultam do reagrupamento dos genomas entre as diferentes cepas, incluindo as cepas animais. *Este processo só ocorre com o vírus influenza A*. Estas alterações frequentemente são associadas com a ocorrência de pandemias.

Os deslocamentos antigênicos raramente ocorrem, mas podem ser devastadores (Tab. 59-2). Por exemplo, o vírus influenza A prevalente em 1947 era o subtipo H1N1. Em 1957, houve um deslocamento em ambos os antígenos, resultando no subtipo H2N2. O H3N2 surgiu em 1968 e o H1N1 reapareceu em 1977. O ressurgimento do H1N1 pôs a população com menos de 30 anos em risco para a doença. A exposição anterior e uma resposta imunológica humoral protegeram os membros da população com mais de 30 anos. *Ao contrário do influenza A, o influenza B é um vírus predominantemente humano e não sofre deslocamento antigênico*.

Tabela 59-2 Pandemias de Gripe Resultantes de Deslocamento Antigênico

Ano da Pandemia	Subtipo de Influenza A
1918	$H_{SW}N1$; provavelmente uma cepa de gripe suína
1947	H1N1
1957	H2N2; cepa de gripe asiática
1968	H3N2; cepa de gripe de Hong Kong
1977	H1N1

A mudança da natureza antigênica do influenza assegura uma grande proporção de pessoas sem exposição prévia, suscetível (especialmente crianças) na população (Quadro 59-3). Um surto de gripe pode ser rapidamente detectado a partir do aumento da ausência às escolas e ao trabalho e pelo alto número de procura aos setores de emergência. Os surtos de influenza ocorrem anualmente nos climas temperados, durante o inverno. Felizmente, o vírus influenza só permanece em uma comunidade por um curto período (4 a 6 semanas).

Quadro 59-3 Epidemiologia dos Vírus Influenza A e B

Doença/Fatores Virais

O vírus possui um grande vírion envelopado que é facilmente inativado pelo ressecamento, ácidos e detergentes.

O genoma segmentado facilita as principais alterações genéticas, especialmente nas proteínas HA e NA.

O influenza A infecta muitas espécies de vertebrados, incluindo outros mamíferos e aves.

A coinfecção com cepas animais e humanas de influenza pode gerar cepas de vírus muito diferentes através de rearranjo genético.

A transmissão do vírus frequentemente precede os sintomas.

Transmissão

O vírus se dissemina através da inalação de pequenas gotículas de aerossol expelidas durante a fala, respiração e tosse.

O vírus gosta de atmosferas frias, menos úmidas (p. ex., período de aquecimento no inverno).

O vírus é extensamente disseminado pelas crianças em idade escolar.

Quem Está sob Risco?

Pessoas soronegativas.

Adultos: síndrome clássica da gripe.

Crianças: de infecções assintomáticas até graves do trato respiratório.

Grupos de alto risco: pessoas idosas e imunocomprometidas, pessoas em asilos ou com problemas cardíacos ou respiratórios subjacentes (incluindo os que sofrem de asma e os fumantes).

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Existe uma ocorrência mundial. As epidemias são locais; as pandemias são mundiais.

A doença é mais comum no inverno.

Modos de Controle

Amantadina, rimantadina, zanamivir e oseltamivir foram aprovados para a profilaxia ou tratamento precoce.

Vacinas mortas e vivas contêm as cepas anuais previstas para os vírus influenza A e B.

A infecção pelo influenza se dissemina rapidamente através de pequenas gotículas carregadas pelo ar expelidas durante a conversa, respiração e tosse. O vírus também pode sobreviver nas superfícies das bancadas por até um dia.

A população mais suscetível é a infantil e as crianças em idade escolar estão mais propensas a disseminar a infecção. O contágio precede os sintomas e perdura por um longo período, especialmente nas crianças. As crianças, as pessoas imunossuprimidas (incluindo as mulheres grávidas), os idosos e as pessoas com distúrbios cardíacos ou pulmonares (incluindo os fumantes) apresentam risco mais elevado de doença grave, pneumonia, ou outras complicações da infecção. Mais de 90% dos óbitos ocorrem em pacientes com mais de 65 anos.

Uma extensa vigilância dos surtos de influenza A e B é conduzida a fim de verificar novas cepas que devem ser incor poradas em novas vacinas. A prevalência de cepas particulares de vírus influenza A ou B varia a cada ano e reflete a falta de exposição da população àquela cepa naquele momento. A vigilância também se estende às populações animais devido à possível presença de cepas recombinantes de influenza A que provocam pandemias humanas.

Síndromes Clínicas (Quadro 59-4)

Dependendo do grau de imunidade da cepa de vírus infectante e de outros fatores, a infecção pode variar de assintomática a grave. Os pacientes com doença cardiorrespiratória subjacente, aqueles com deficiência imune (mesmo aquela associada a gravidez), idosos e os fumantes são propensos a apresentarem um caso grave.

Quadro 59-4 Resumos Clínicos

Influenza A: Uma mulher de 70 anos de idade apresentou uma febre de início rápido com cefaleia, mialgia, dores de garganta e tosse não produtiva. A doença progrediu para pneumonia com envolvimento bacteriano. Não há uma história de imunização recente com a vacina para o influenza A. Seu marido está sendo tratado com amantadina ou com um inibidor da neuraminidase.

Após um período de incubação de 1 a 4 dias, a "síndrome gripal" começa com um curto pródromo de mal-estar e cefaleia que dura algumas horas. O pródromo é seguido pelo início agudo de febre, calafrios, mialgias severas, perda do apetite, fraqueza e fadiga, dor de garganta e, geralmente, uma tosse não produtiva ("tosse seca"). A febre persiste por 3 a 8 dias e, a menos que alguma complicação ocorra, a recuperação é completa dentro de 7 a 10 dias. A gripe em crianças pequenas (com menos de 3 anos) se assemelha a outras infecções graves do trato respiratório, provocando bronquiolite, laringite, otite média, vômitos e dor abdominal, raramente acompanhadas por convulsões febris (Tab. 59-3). As complicações da gripe incluem pneumonia bacteriana, miosite e síndrome de Reye. O sistema nervoso central também pode estar envolvido. A doença pelo influenza B é semelhante àquela causada pelo influenza A.

Tabela 59-3 Doenças Associadas à Infecção pelo Vírus Influenza

Distúrbio	Sintomas
Infecção aguda pelo influenza em adultos	Febre, mal-estar, mialgia, dor de garganta e tosse não reprodutiva
Infecção aguda pelo influenza em crianças	A doença aguda é semelhante àquela dos adultos, mas com febre mais alta, sintomas do trato gastrointestinal (dor abdominal, vômitos), otite média, miosite e laringite mais frequente
Complicações da Infecção pelo vírus influenza	Pneumonia viral primária Pneumonia bacteriana secundária Miosite e envolvimento cardíaco Síndromes neurológicas: Síndrome de Guillian-Barré Encefalopatia Encefalite Síndrome de Reye

A gripe pode provocar diretamente a pneumonia, mas ela mais comumente promove uma superinfecção bacteriana secundária que leva à bronquite ou à pneumonia. A lesão tecidual provocada pela infecção progressiva dos alvéolos pelo vírus influenza pode ser extensa, levando à hipóxia e à pneumonia bilateral. A infecção bacteriana secundária geralmente envolve *Streptococcus pneumoniae, Hemophilus influenzae*, ou *Staphylococcus aureus*. Nessas infecções, normalmente é produzido catarro e este se torna purulento.

Embora a infecção geralmente esteja limitada ao pulmão, algumas cepas de influenza podem se disseminar para outros locais em algumas pessoas. Por exemplo, a miosite (inflamação do músculo) pode ocorrer em crianças. A encefalopatia, apesar de rara, pode acompanhar uma enfermidade aguda pelo influenza, podendo ser fatal. A encefalite pós-influenza ocorre em 2 a 3 semanas após a recuperação da gripe. Ela está associada à evidência de inflamação, mas raramente é fatal.

A síndrome de Reye é uma encefalite aguda que afeta as crianças e que ocorre após uma diversidade de infecções virais febris agudas, incluindo varicela e influenzas A e B. As crianças que recebem salicilatos (aspirina) apresentam maior risco para esta síndrome. Além da encefalopatia, a disfunção hepática está presente. A taxa de mortalidade pode ser de até 40%.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de influenza normalmente se baseia nos sintomas característicos, na estação do ano e na presença do vírus na comunidade. Os métodos laboratoriais que diferenciam o influenza de outros vírus respiratórios e identifica o seu tipo e cepa confirmam o diagnóstico (Tab. 59-4).

Tabela 59-4 Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo Vírus Influenza

Exame	Detecta
Cultura celular em células primárias de rim de macaco ou da linhagem MDCK (*Madin-Darby canine kidney*)	Presença do vírus; efeitos citopatológicos limitados
Hemadsorção a células infectadas	Presença da proteína HA na superfície celular
Hemaglutinação	Presença do vírus em secreções
Inibição da hemaglutinação	Tipo e cepa de vírus influenza ou especificidade do anticorpo
Inibição da hemadsorção por anticorpos	Identificação do tipo e da cepa do influenza
Imunofluorescência, ELISA	Antígenos do vírus influenza nas secreções respiratórias ou em cultura de tecidos
Sorologia: inibição da hemaglutinação, hemadsorção, ELISA, imunofluorescência, fixação do complemento	Soro-epidemiologia
Genômica: RT-PCR	Identificação do tipo e da cepa do influenza

ELISA, ensaio imunoabsorvente ligado à enzima.

Os vírus influenza são obtidos a partir das secreções respiratórias. O vírus geralmente é isolado nas culturas primárias de células de rins de macacos ou da linhagem celular MDCK (*Madin-Darby canine kidney*). Os efeitos citopatológicos inespecíficos frequentemente são difíceis de distinguir, mas podem ser observados dentro de 2 dias (média de 4 dias). Antes que os efeitos citoplasmáticos se desenvolvam, a adição de eritrócitos de cobaia pode revelar **hemadsorção** (a aderência desses eritrócitos às células infectadas que expressam HA). (Cap. 50, Fig. 50-5). A adição de meio contendo vírus influenza aos eritrócitos promove a formação de um agregado semelhante a gel devido à **hemaglutinação**. A hemaglutinação e a hemadsorção não são específicas para os vírus influenza; o parainfluenza e outros vírus

também exibem essas propriedades.

Técnicas mais rápidas detectam e identificam o genoma do influenza ou os antígenos do vírus. Os ensaios rápidos para antígenos (menos de 30 min) podem detectar e distinguir o influenza A do influenza B. A reação em cadeia da polimerase após a uso da transcriptase reversa (RT-PCR), usando *primers* genéricos para influenza, pode ser empregada para detectar e distinguir o influenza A do B e *primers* mais específicos podem ser usados para distinguir as diferentes cepas, como a H5N1. O imunoensaio enzimático ou a imunofluorescência podem ser usadas para detectar o antígeno viral nas células esfoliadas, nas secreções respiratórias ou na cultura de células e são ensaios mais sensíveis. A imunofluorescência ou a inibição da hemadsorção ou da hemaglutinação (inibição da hemaglutinação [IH]) com anticorpos específicos (Cap. 50) também pode detectar e distinguir diferentes cepas de influenza. Os estudos laboratoriais são primariamente usados para propósitos epidemiológicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Centenas de milhões de dólares são gastos com paracetamol, anti-histamíncos e medicamentos semelhantes para aliviar os sintomas da gripe. A droga antiviral **amantadina** e o seu análogo **rimantadina** inibem a etapa de perda do revestimento do vírus influenza A, mas não afetam os vírus influenza B e C. O alvo para a sua ação é a proteína M_2. O **zanamivir** e o **oseltamivir** inibem tanto o influenza A quanto o B como inibidores da neuraminidase. Sem a neuraminidase, a hemaglutinina do vírus se liga ao ácido siálico em outras partículas virais formando aglomerados, impedindo a liberação do vírus. O zanamivir é inalado, enquanto o oseltamivir é ingerido por via oral como um comprimido. Esses medicamentos são eficazes para a profilaxia e tratamento durante as primeiras 24 a 48 horas após o início da doença pelo influenza A. O tratamento não pode impedir os estágios imunopatogênicos posteriores da doença induzidos pelo hospedeiro.

A disseminação aérea da gripe é de limitação quase impossível. O melhor modo de controlar o vírus é através da imunização. A imunização natural, que resulta de uma exposição anterior, é protetora por longos períodos. Uma vacina de vírus mortos representando as "cepas do ano" e a profilaxia com drogas antivirais podem prevenir a infecção.

A vacina para a gripe é uma mistura de extratos de proteínas HA e NA purificadas de três diferentes cepas de vírus. As vacinas são preparadas a partir de vírus desenvolvidos em ovos embrionados e, então, quimicamente inativados. Preparações de vírions mortos (inativados pela formalina) também foram usadas. Idealmente, a vacina incorpora antígenos de cepas de influenza A e B que serão prevalentes na comunidade durante o próximo inverno. Por exemplo, a vacina trivalente usada para a temporada 2006-2007 incluía antígenos tipo–A/Nova Caledônia/20/1999 (H1N1), tipo–A/Winscosin/67/2005 (H3N2) e tipo B–/Malásia/2506/2004. A vacinação é rotineiramente recomendada para pessoas com mais de 50 anos, profissionais de saúde, mulheres grávidas que estarão no 2° ou 3° trimestre durante a temporada de gripe, pessoas que vivem em asilos, pessoas com doença cardiopulmonar crônica e outros com alto risco. A partir de 2008, todas as crianças com 5 a 18 anos também devem ser vacinadas. As pessoas com alergia a ovo não devem ser vacinadas.

Uma vacina viva também está disponível para a administração como *spray* nasal. A vacina trivalente consiste em reagrupamentos de segmentos de genes HA e NA das diferentes cepas de influenza, com um vírus doador principal que está adaptado ao frio para um ótimo crescimento a 25°C. Esta vacina produzirá uma proteção mais natural, incluindo a mediada por células, por anticorpos e pelo anticorpo secretório nas mucosas, a imunoglobulina A (IgA). Atualmente, a vacina é recomendada para pessoas com idades de 5 a 50 anos.

Estudo de Caso e Questões

Em dezembro, um homem de 22 anos de idade subitamente experimentou cefaleia, mialgia, mal-estar, tosse seca e febre. Ele basicamente se sentiu muito mal. Após cerca de 2 dias, ele apresentou dor de garganta, a sua tosse havia piorado, ele passou a se sentir nauseado e começou a vomitar. Vários dos seus familiares experimentaram sintomas similares durante as 2 semanas anteriores.

1. Além do influenza, que outros agentes poderiam provocar sintomas semelhantes (diagnóstico diferencial)?

1. Sintomas semelhantes podem ser causados por vírus parainfluenza, metapneumovírus, vírus sincicial respiratório ou por adenovírus.

2. Como o diagnóstico de gripe poderia ser confirmado?

2. O diagnóstico pode ser confirmado por reação de hemaglutinação e confirmado pela inibição da hemaglutinação quando se utiliza anticorpos específicos contra vírus influenza. Ainda pode-se submeter às amostras clínicas (em geral secreção de nasofaringe) a RT-PCR para detecção do genoma viral.

3. A amantadina é eficaz contra o influenza. Qual é o seu mecanismo de ação? Ela será eficaz nesse paciente? E nos familiares e contatos não infectados?

3. Amantadina e rimantidina inibem o desnudamento do vírus por bloqueio da proteína M2 que age formando um canal na vesícula de captação endossomal. O bloqueio de M2 impede o fluxo de prótons através do canal e a dissociação subsequente do nucleocapsídeo. Terapia antigripal com a amantadina ou a inibidores da neuraminidase é eficaz antes da infecção ou durante suas primeiras 48 horas quando a replicação viral está ocorrendo, mas antes da lesão tecidual extensa causada pelo vírus e pela resposta imune do hospedeiro a sua presença. Os contatos da pessoa gripada podem tomar amantadina como uma droga profilática.

4. Quando o paciente se tornou contagioso e como o vírus é transmitido?

4. O paciente estava em fase contagiosa aproximadamente 1 dia antes e até 5 dias após o início dos sinais da infecção. O vírus é transmitido por via respiratória.

5. Que membros da família estavam em maior risco para uma doença grave e por quê?

5. Os membros muito jovens e muito velhos da família estão em maior risco. Os jovens podem não ter imunidade prévia e os idosos podem ter deficiências em seu sistema imune. Ainda os indivíduos mais idosos também têm dificuldade em reparar os danos causados pelo vírus influenza ou por uma superinfecção bacteriana do pulmão (pneumonia), que muitas vezes acompanha a infecção por influenza.

6. Por que o influenza é tão difícil de controlar, mesmo quando existe um programa nacional de vacinação?

6. Os vírus influenza sofrem mutação (*drift*) produzindo novas cepas virais. Ainda, o influenza A pode sofrer rearranjo dos seus segmentos do genoma com cepas que infectam animais (especialmente aves) criando novos vírus (*shift*). Ambos os processos, *drift* e *shift*, podem criar novos sorotipos do vírus. A composição da vacina contra a gripe é reavaliada anualmente na tentativa de se acrescentar proteção às novas cepas virais geradas.

Bibliografia

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester, England: Wiley, 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006.

Cox NJ, Subbarao K. Global epidemiology of influenza: Past and present. *Annu Rev Med*. 2000;51:407-421.

Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.
Helenius A. Unpacking the incoming influenza virus. *Cell*. 1992;69:577-578.
Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
Laver WG, Bischofberger N, Webster RG. Disarming flu viruses. *Sci Am*. 1999;280:78-87.
Laver WG, Bischofberger N, Webster RG. The origin and control of pandemic influenza. *Perspect Biol Med*. 2000;43:173-192.
Poland GA, Jacobson RM, Targonski PV. Avian and pandemic influenza: An overview. *Vaccine*. 2007;25:3057-3061.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.
Webster RG. Predictions for future human influenza pandemics. *J Infect Dis*. 1997;176(suppl 1):S14-S19.
Webster RG. et al: Evolution and ecology of influenza viruses. *Microbiol Rev*. 1992;56:152-179.
Webster RG, Govorkova EA. H5N1 Influenza, Continuing Evolution and Spread. *N Engl J Med*. 2006;355:2174-2177.
Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed. Boston: McGraw-Hill, 2002.

Sites

CDC information CDC information about influenza (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/flu/.
Derlet et al., Derlet R, Nguyen HH, Lawrence R. Influenza (2007, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic1170.htm.
IFPMA IFPMA Influenza Vaccine Supply International Task Force, Influenza fact sheets (on-line): Disponível em. http://www.ifpma.org/Influenza/index.aspx?1.
National National Institute of Allergy and Infectious Disease, Influenza fact sheet disponível on-line em. www.niaid.nih.gov/publications/flu.htm.
Webster, Webster RG. Influenza, an emerging disease Centers for Disease Control, (1998, on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no3/webster.htm.

60 Rabdovírus, Filovírus e Bornavírus

Rabdovírus

Os membros da família *Rhabdoviridae* (da palavra grega **rhabdos**, que significa “bastão”) incluem patógenos para uma variedade de mamíferos, peixes, aves e vegetais. A família contém *Vesiculovirus* (vírus da estomatite vesicular [VSVs]); *Lyssavirus* (vírus da raiva e semelhantes ao da raiva), um gênero sem denominação que constitui o grupo dos rabdovírus de plantas; e outros rabdovírus não agrupados de mamíferos, aves, peixes e artrópodes.

O **vírus da raiva** é o patógeno mais importante dos rabdovírus. Até que Louis Pasteur desenvolvesse a vacina com o vírus rábico inativado, a mordida de um cão “louco” sempre levava aos sintomas característicos da **hidrofobia** e à morte certa.

Fisiologia, Estrutura e Replicação

Os rabdovírus são vírus simples que codificam apenas cinco proteínas e aparecem como **vírions envelopados em forma de bala**, com um diâmetro de 50 a 95nm e comprimento de 130 a 380nm (Quadro 60-1, Fig. 60-1). Espículas compostas de um trímero da glicoproteína (G) cobrem a superfície do vírus. A proteína de ligação viral, proteína G, induz anticorpos neutralizantes. A proteína G do vírus da estomatite vesicular é uma glicoproteína simples com glicano N-ligado. Esta proteína G é usada como protótipo para estudar processamento de glicoproteínas eucarióticas.

Quadro 60-1 Propriedades Características Exclusivas dos Rabdovírus

Vírus em forma de projétil, envelopado, de RNA negativo fita simples que codifica cinco proteínas.

Protótipo da replicação dos vírus envelopados de RNA fita simples negativo.

Replicação no citoplasma.

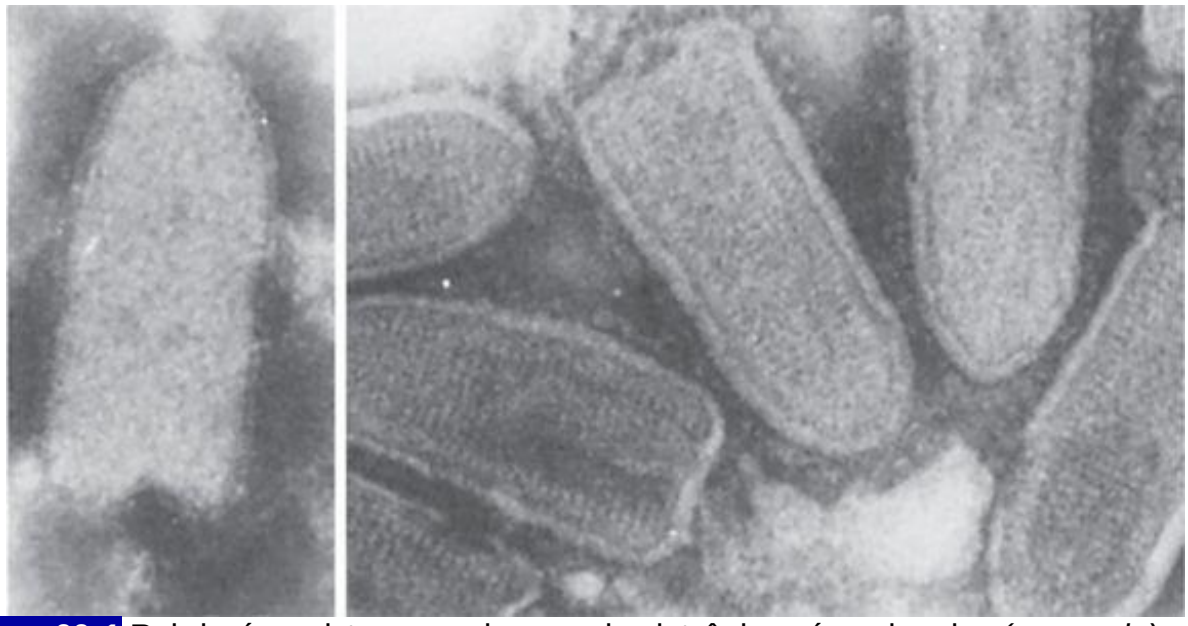


Figura 60-1 Rabdovírus vistos por microscopia eletrônica: vírus da raiva *(esquerda)* e vírus da estomatite vesicular *(direita)*.

(De Fields BN: Virology New York, Raven, 1985.)

Dentro do envelope, o **nucleocapsídeo helicoidal** está enrolado simetricamente numa estrutura cilíndrica, conferindo-lhe uma aparência de estrias (Fig. 60-1). O nucleocapsídeo é composto de uma molécula de **RNA** (ácido ribonucleico) **fita simples, de sentido negativo**, com aproximadamente 12.000 bases e as proteínas nucleoproteína (N), grande (L) e não estrutural (NS). A proteína de matriz (M) se situa entre o envoltório e o nucleocapsídeo. A proteína N é a principal proteína estrutural do vírus. Ela protege o RNA da digestão por ribonuclease e mantém o RNA em uma configuração apropriada para transcrição. As proteínas L e NS constituem a RNA polimerase RNA-dependente.

O ciclo replicativo do VSV é o protótipo para rabdovírus e outros vírus de RNA fita simples negativo (Cap. 4, Fig. 4-14). A proteína G viral se fixa à célula hospedeira e é internalizada por endocitose. O vírus da raiva se liga ao receptor nicotínico de acetilcolina (AChR) ou à molécula de adesão da célula neural (NCAM). O envelope viral então se funde à membrana do endossomo com a acidificação da vesícula. Esta decapsidação permite que o nucleocapsídeo

seja liberado para dentro do citoplasma, onde tem lugar a replicação.

A RNA polimerase RNA-dependente, associada ao nucleocapsídeo, transcreve o RNA genômico viral, produzindo cinco RNAs mensageiros (mRNAs) individuais. Estes mRNAs são então traduzidos para gerar as cinco proteínas virais. O RNA genômico viral também é transcrito para um molde de RNA de sentido positivo e de comprimento completo, que é usado para gerar novos genomas. A proteína G é sintetizada por ribossomos ligados à membrana, processada pelo aparelho de Golgi e encaminhada à superfície celular em vesículas da membrana. A proteína M se associa às membranas modificadas por proteína G.

A montagem do vírion ocorre em duas fases: (1) montagem do nucleocapsídeo no citoplasma; (2) envelopamento e liberação na membrana plasmática celular. O genoma se associa à proteína N e, a seguir, às proteínas L e NS, que compõem a polimerase, para formar o nucleocapsídeo. A associação do nucleocapsídeo à proteína M na membrana plasmática o induz ao enrolamento, para dar sua forma condensada e de bala característica do vírion. O vírus então brota através da membrana plasmática e é liberado quando o nucleocapsídeo inteiro está envelopado. Morte e lise celular ocorrem após a infecção pela maioria dos rabdovírus, com a importante exceção do vírus da raiva, que produz pouco dano celular discernível.

Patogênese e Imunidade

Só a patogênese da infecção pelo vírus da raiva é discutida aqui (Quadro 60-2). A infecção da raiva geralmente resulta da mordida de um animal raivoso. A infecção rábica do animal causa secreção do vírus na sua saliva e promove comportamento agressivo (cão "louco"), que promove a transmissão do vírus. O vírus também pode ser transmitido através da inalação de vírus aerossolisado (encontrado em cavernas de morcegos), em transplante de tecido infectado (p. ex., córnea) e pela inoculação através de membranas mucosas intactas.

Quadro 60-2 Mecanismos Patológicos do Vírus Rábico

A raiva é geralmente transmitida na saliva e é adquirida pela mordida de um animal raivoso.

O vírus da raiva **não é muito citolítico** e parece se manter associado à célula.

O vírus se replica no músculo no local da mordida, com sintomas mínimos ou sem sintomas (**fase de incubação**).

A extensão da fase de incubação é determinada pela dose infectante e pela proximidade do local de infecção ao sistema nervoso central (SNC) e cérebro.

Depois de semanas a meses, o vírus infecta os nervos periféricos e sobe pelo SNC até o cérebro (**fase prodrômica**).

A infecção do cérebro causa sintomas clássicos, coma e morte (**fase neurológica**).

Durante a fase neurológica, o vírus se dissemina pelas glândulas, pele e outras partes do corpo, inclusive as glândulas salivares, de onde é transmitido.

A infecção pela raiva não induz uma resposta de anticorpos até as fases tardias da doença, quando o vírus se disseminou do SNC para outros locais.

Anticorpos podem bloquear a progressão do vírus e a doença.

O longo período de incubação permite imunização ativa bem como tratamento pós-exposição.

O vírus pode infectar diretamente as terminações nervosas, se ligando aos receptores nicotínicos de acetilcolina ou de gangliosídeos nos neurônios ou no músculo no local da inoculação. O vírus permanece no local durante dias a meses (Fig. 60-2) antes de progredir para o sistema nervoso central (SNC). O vírus da raiva viaja por transporte axoplasmático retrógrado para os gânglios das raízes dorsais e para a medula espinhal. Caso o vírus ganhe acesso à medula espinhal, o cérebro será rapidamente infectado. As áreas afetadas são o hipocampo, o tronco cerebral, as células ganglionares dos núcleos pontinos e as células de Purkinje do cerebelo. O vírus então se dissemina do SNC, pelos neurônios aferentes, para locais altamente inervados, como a pele da cabeça e do pescoço, **glândulas salivares**, retina, córnea, mucosa nasal, medula adrenal, parênquima renal e células acinosas pancreáticas. Depois que o vírus invade o cérebro e a medula espinhal, se desenvolve uma encefalite e os neurônios degeneram. Apesar do extenso envolvimento do SNC e prejuízo da sua função, pouca alteração histopatológica pode ser observada no tecido afetado, a não ser a presença dos corpúsculos de Negri (ver seção sobre Diagnóstico Laboratorial).

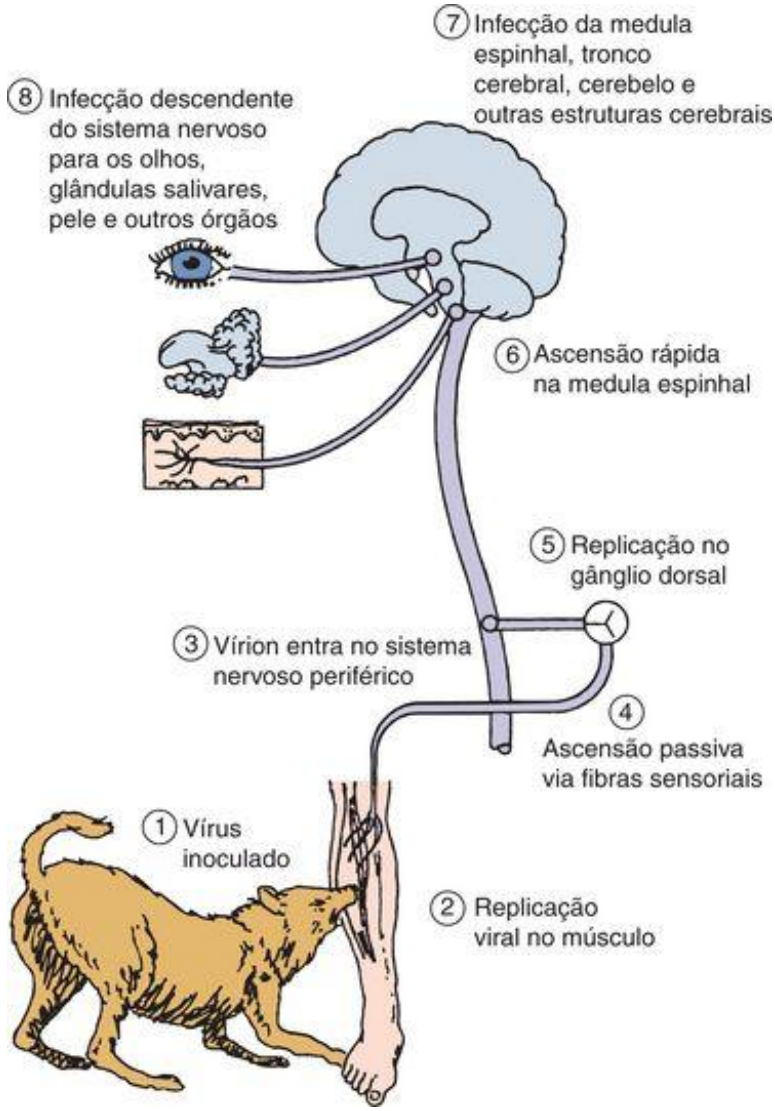


Figura 60-2 Patogênese da infecção pelo vírus da raiva. As etapas numeradas descrevem a sequência de eventos.

(Redesenhado de Belshe RB: Textbook of Human Virology, 2nd ed. st Louis, Mosby, 1991.)

A raiva é fatal desde que a doença clínica seja aparente. A extensão do período de incubação é determinada pela: (1) concentração do vírus no inóculo; (2) proximidade da ferida com o cérebro; (3) gravidade da ferida; (4) idade do hospedeiro; (5) pelo estado imune do hospedeiro.

Em contraste com outras síndromes de encefalite viral, a raiva raramente causa lesões inflamatórias. Anticorpos neutralizantes não são aparentes até depois que a doença clínica esteja bem estabelecida. Pouco antígeno é liberado, e a infecção provavelmente permanece oculta à resposta imune. Imunidade celular parece desempenhar pouco ou nenhum papel na proteção contra a infecção pelo vírus da raiva.

Anticorpos podem bloquear a disseminação do vírus no SNC e no cérebro, se administrados ou gerados durante o período de incubação. O período de incubação é geralmente longo o suficiente para permitir a geração de uma resposta terapêutica por anticorpos protetores, após imunização ativa com a vacina de vírus rábico inativado.

Epidemiologia

A raiva é a **infecção zoonótica clássica**, disseminada de animais a humanos (Quadro 60-3). Ela é mundialmente endêmica em uma variedade de animais, exceto na Austrália. A raiva é mantida e disseminada em duas formas. Na raiva urbana, os cães são o principal transmissor e, na raiva silvestre (das florestas) onde muitas espécies de vida selvagem, podem servir como transmissores. Nos Estados Unidos, a raiva prevalece em gatos, porque não são vacinados. Aerossóis contendo vírus, mordidas e arranhões de morcegos infectados também disseminam a doença. O principal reservatório da raiva na maior parte do mundo é o cão. Na América Latina e Ásia, esta característica é um problema, por causa da existência de muitos cães abandonados não vacinados, além da ausência de programas de controle da raiva. Esses dois fatores são responsáveis por milhares de casos de raiva em cães a cada ano nestas regiões. Embora raro, existem casos de transmissão de raiva via transplantes de córnea e de órgãos.

Quadro 60-3 Epidemiologia do Vírus da Raiva

Doença/Fatores Virais

O comportamento agressivo nos animais induzido pelo vírus promove sua disseminação.

Doença tem longo período assintomático de incubação.

Transmissão

Zoonose:

Reservatório: animais silvestres.

Vetor: animais silvestres e cães e gatos não vacinados.

Fonte de vírus:

Principal: saliva na mordida de animal raivoso.

Secundária: aerossóis em cavernas de morcegos contendo morcegos raivosos.

Quem Está sob Risco?

Veterinários e manipuladores de animais

Pessoa mordida por um animal raivoso.

Habitantes de países sem programa de vacinação de animais de estimação.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Vírus é encontrado mundialmente, exceto em algumas nações localizadas em ilhas. Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Programa de vacinação está disponível para animais de estimação.

Vacinação está disponível para pessoa sob risco.

Programas de vacinação foram implementados para controlar a raiva em mamíferos silvestres.

Em virtude do excelente programa de vacinação nos Estados Unidos, a raiva silvestre é responsável pela maioria dos casos em animais neste país. As estatísticas de raiva animal são coletadas pelo CDC (*Centers for Dísease Control and Prevention*), que, em 1999, registraram mais de 8.000 casos documentados de raiva em guaxinins, gambás, morcegos e animais em fazendas, além de cães e gatos (Fig. 60-3). Texugos e raposas também são portadores importantes de raiva na Europa Ocidental. Na América do Sul, morcegos-vampiros transmitem raiva ao gado, resultando em perdas de milhões de dólares a cada ano.

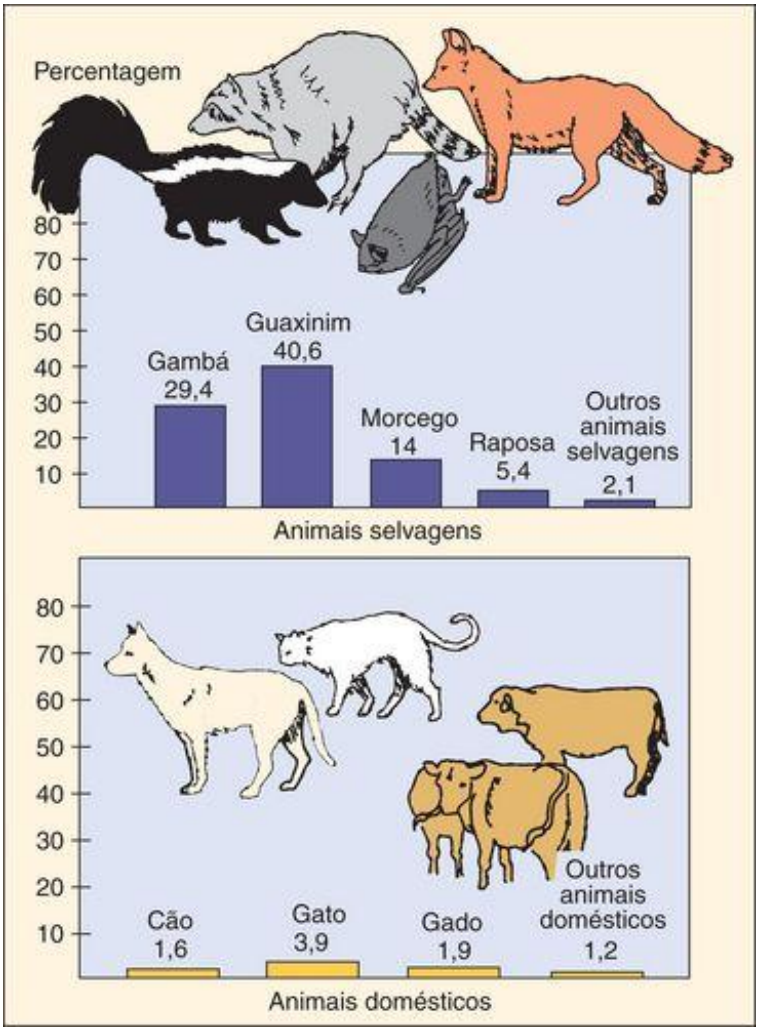


Figura 60-3 Distribuição da raiva animal nos Estados Unidos, 1999. As percentagens são relativas ao número total de casos de raiva animal.

(Dados dKrebs JW, et al: J AmVet Med Assoc 217:1799-1811, 2000.)

A distribuição da raiva humana se assemelha à distribuição de casos animais em cada país. Estima-se que a raiva seja responsável por 40.000 a 70.000 mortes por ano em todo o

mundo, com pelo menos 25.000 na Índia, onde o vírus é transmitido por cães em 96% dos casos. Na América Latina, os casos de raiva humana resultam principalmente do contato com cães raivosos em áreas urbanas. Na Indonésia, um surto de raiva com mais de 200 casos em humanos, em 1999, levou à matança de mais de 40.000 cães nas ilhas. A incidência de raiva humana nos Estados Unidos é aproximadamente um caso por ano, devido, em grande parte, aos programas efetivos de vacinação canina e limitado contato humano com guaxinins, gambás e morcegos. Desde 1990, os casos humanos de raiva nos Estados Unidos foram causados principalmente por variantes do vírus de morcegos. A Organização Mundial da Saúde estima que 10 milhões de pessoas por ano recebam tratamento depois de exposição a animais suspeitos de estarem com raiva.

Síndromes Clínicas (Quadro 60-4)

A raiva é virtualmente sempre fatal, a não ser quando tratada por vacinação. Depois de um longo período de incubação, mas altamente variável, segue a fase prodrômica da raiva (Tab. 60-1). O paciente tem sintomas como febre, mal-estar, cefaleia, dor ou parestesia (prurido) no local da mordida, sintomas gastrointestinais, fadiga e anorexia. O período prodrômico geralmente dura 2 a 10 dias depois do qual aparecem os sintomas neurológicos específicos da raiva. **Hidrofobia** (medo de água), o sintoma mais característico da raiva, ocorre em 20% a 50% dos pacientes. Ela é desencadeada pela dor associada às tentativas do paciente ingerir água. Convulsões focais e generalizadas, desorientação e alucinações também são comuns durante a fase neurológica. De 15% a 60% dos pacientes exibem paralisia como única manifestação da raiva. A paralisia pode levar à insuficiência respiratória.

Quadro 60-4 Resumos Clínicos

Raiva: Uma menina de 3 anos de idade encontrou um morcego voando em seu quarto. O morcego aparentemente estava ali toda a noite. Não havia evidência de mordida ou contato, e o morcego foi apanhado e solto. Três semanas depois, a criança desenvolveu uma mudança de comportamento, se tornando irritável e agitada. Este estado rapidamente progrediu à confusão, agitação incontrolável e incapacidade de manejar suas secreções. Posteriormente, se tornou comatosa e morreu de parada respiratória.

Tabela 60-1 Progressão da Doença Rábica

Tabela 60-1. Progressão da Doença Rábica

Fase da Doença	Sintomas	Tempo (Dias)	Status Viral	Status Imunológico
Fase de incubação	Assintomático	60-365 após a mordida	Baixo título, vírus no músculo	-
Fase prodrômica	Febre, náusea, vômito, perda de apetite, cefaleia, letargia, dor no local da mordida	2-10	Baixo título, vírus no SNC e cérebro	-
Fase neurológica	Hidrofobia, espasmos faríngeos, hiperatividade, ansiedade, depressão Sintomas do SNC: perda de coordenação, paralisia, confusão, delírio	2-7	Alto título, vírus no cérebro e outros locais	Anticorpo detectável no soro e SNC
Coma	Coma, hipotensão, hipoventilação, infecções secundárias, parada cardíaca	0-14	Alto título, vírus no cérebro e outros locais	-
Morte	-	-	-	-

SNC, sistema nervoso central.

O paciente entra em estado de coma depois da fase neurológica, que dura 2 a 10 dias. Esta fase quase universalmente leva à morte por complicações neurológicas e pulmonares.

Diagnóstico Laboratorial

A ocorrência de sintomas neurológicos em uma pessoa mordida por um animal geralmente estabelece o diagnóstico de raiva. Infelizmente, *evidência de infecção, incluindo sintomas e detecção de anticorpo, não ocorre até que seja demasiado tarde para intervenção*. Testes laboratoriais geralmente são realizados para confirmar o diagnóstico e determinar se um indivíduo ou animal suspeito está raivoso (autópsia).

O diagnóstico de raiva é feito através da detecção de antígeno viral no SNC ou pele, isolamento do vírus, detecção do genoma e achados sorológicos. O achado diagnóstico característico tem sido a detecção de inclusões intracitoplasmáticas, que consistem em agregados de nucleocapsídeos virais (**corpúsculos de Negri**) em neurônios afetados (Cap. 50, Fig. 50-3). Embora o seu achado seja diagnóstico de raiva, os corpúsculos de Negri são vistos em apenas 70% a 90% do tecido cerebral de humanos infectados.

A detecção de antígeno utilizando imunofluorescência direta ou a detecção do genoma utilizando a reação em cadeia da polimerase após o uso da transcriptase reversa (RT-PCR) são ensaios relativamente rápidos e sensíveis, sendo os métodos preferidos para diagnosticar raiva. Amostras de saliva são fáceis de testar, mas soro, líquido cefalorraquidiano, material de biópsia de pele da nuca, material cerebral de biópsia ou autópsia e esfregaços de impressão de células epiteliais da córnea também podem ser examinados.

O vírus da raiva também pode ser cultivado em cultura de células ou em camundongos lactentes inoculados intracerebralmente, mas requer procedimentos especiais de isolamento laboratorial e não é rotineiramente realizado. Culturas de células inoculadas ou tecidos cerebrais são subsequentemente examinados por imunofluorescência direta.

Os títulos de anticorpos rábicos no soro e líquido cefalorraquidiano são geralmente medidos por ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA) ou um teste rápido de inibição de foco fluorescente. Entretanto, anticorpos não são usualmente detectáveis até a doença tardia.

Tratamento e Profilaxia

A raiva clínica é quase sempre fatal se não for tratada. Aparecendo os sintomas, pouco tratamento de suporte pode ser dado.

A profilaxia pós-exposição é a única esperança para prevenir a doença clínica na pessoa afetada. Embora casos humanos de raiva sejam raros, aproximadamente 20.000 pessoas recebem profilaxia contra raiva a cada ano só nos Estados Unidos. A profilaxia deve ser iniciada em qualquer pessoa exposta por mordida, contaminação de uma ferida aberta ou membrana mucosa à saliva ou tecido cerebral de um animal suspeito de estar infectado com o vírus, a não ser que o animal seja testado e demonstrado não estar raivoso.

A primeira medida protetora é o tratamento local da ferida. A ferida deve ser lavada imediatamente com água e sabão ou outra substância que inative o vírus. O Comitê de Peritos em Raiva da Organização Mundial de Saúde também recomenda instilação de soro antirrábico em torno da ferida.

Em seguida, a imunização por vacina, combinada com administração de uma dose de imunoglobulina rábica humana (HRIG – *human rabies immunoglobulin*) ou soro antirrábico equino, é recomendada. Imunização passiva com HRIG fornece anticorpos, até que o paciente produza anticorpos em resposta à vacina. Uma série de cinco doses da vacina é então administrada no período de um mês. A evolução lenta da doença permite que a imunidade ativa seja gerada a tempo de fornecer proteção.

A vacina contra a raiva é de vírus morto preparada através da inativação química de células diploides humanas (HDCV – *human diploid cell vaccine*) ou células do pulmão do feto de macaco Rhesus, infectadas com o vírus rábico. Estas vacinas causam menos reações negativas que as mais antigas (Semple e Fermi), que eram preparadas em cérebro de animais adultos ou lactentes. A HDCV é administrada por via intramuscular no dia da exposição e a seguir nos dias 3, 7, 14 e 28, ou por via intradérmica, com uma dose menor de vacina em múltiplos locais nos dias 0, 3, 7, 28 e 90. Existe um caso onde foi relatado o sucesso em parar a progressão da doença com o uso de ribavirina.

A vacinação de pré-exposição deve ser realizada nos trabalhadores que cuidam de animais, técnicos e auxiliares de laboratório que manipulam tecido potencialmente infectado e pessoas viajando para áreas onde a raiva é endêmica. A HDCV, administrada por via intramuscular ou intradérmica, em três doses, é recomendada e fornece 2 anos de proteção.

Ultimamente, a prevenção da raiva humana depende do controle efetivo em animais domésticos e selvagens. Seu controle em animais domésticos depende da remoção de animais extraviados e indesejados e da vacinação de todos os cães e gatos. Uma variedade de vacinas orais atenuadas também foi usada com sucesso para imunizar raposas. Uma vacina viva de vírus vacínia recombinante, expressando a proteína G do vírus rábico, está em uso nos Estados Unidos. Esta vacina, que é injetada em iscas e lançada de paraquedas dentro da floresta, imuniza com sucesso guaxinins, raposas e outros animais. A injeção acidental de uma mulher com esta vacina viva de vírus vacínia recombinante resultou em imunização contra ambas as viroses, varíola e raiva (consulte as referências).

Filovírus

Os vírus **Marburg** e **Ebola** (Fig. 60-4) foram classificados como membros da família *Rhabdoviridae*, mas agora são classificados como **filoviroses** (***Filoviridae***). Eles são **vírus filamentosos, envelopados, com RNA de fita negativa**. Estes agentes causam **febres hemorrágicas graves ou fatais** e são **endêmicos na África**. A atenção sobre o vírus Ebola aumentou depois que surtos da doença no Zaire, em 1995, no Gabão, em 1996, e depois do lançamento do filme *Epidemia*, baseado no livro de Robin Cook, e no livro *The Hot Zone*, de Richard Preston.

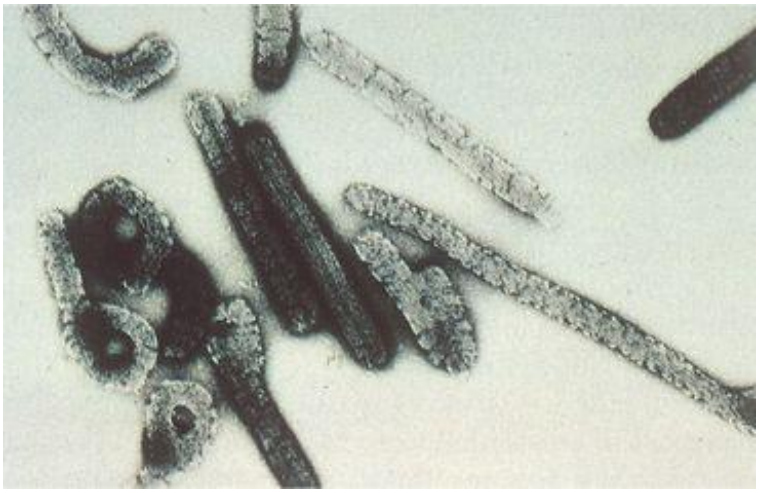


Figura 60-4 Micrografia eletrônica do vírus Ebola.

(Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)

Estrutura e Replicação

Os filovírus possuem genoma de RNA fita simples ($4{,}5 \times 10^6$ Da) que codifica sete proteínas. Os vírions formam filamentos envelopados, com um diâmetro de 80nm, mas também podem assumir outras formas. Eles variam, em comprimento, de 800 nm até 1.400nm. O nucleocapsídeo é helicoidal e encerrado em um envelope que contém uma glicoproteína. O vírus se replica no citoplasma como os rabdovírus.

Patogênese

Os filovírus se replicam eficientemente, produzindo grandes quantidades de vírus em monócitos, macrófagos, células dendríticas e outras células. A replicação em monócitos provoca uma tempestade de citocinas pró-inflamatórias semelhante à septicemia. A citopatogênese viral causa extensa necrose tecidual nas células parenquimatosas do fígado, baço, dos linfonodos e pulmões. A destruição das células endoteliais levando à lesão vascular pode ser atribuída às glicoproteínas do Ebola. Cepas com mutações no gene destas glicoproteinas não apresentam o componente hemorrágico da doença. A hemorragia generalizada que ocorre nos pacientes afetados causa edema e choque hipovolêmico. O vírus também pode escapar das respostas inatas e imunes do hospedeiro. Uma forma solúvel da glicoproteína é liberada, podendo inibir a ativação de neutrófilos e bloquear a ação de anticorpos.

Epidemiologia

A infecção pelo vírus Marburg foi detectada pela primeira vez em trabalhadores de laboratório em Marburg, Alemanha, que tinham foram expostos a tecidos de macacos verdes africanos aparentemente saudáveis. Casos raros de infecção pelo vírus Marburg foram vistos no Zimbábue e Quênia.

O vírus Ebola recebeu o nome do rio na República Democrática do Congo (antigo Zaire), onde foi descoberto. Surtos de doença pelo vírus Ebola ocorreram na República Democrática do Congo e Sudão. Durante um surto, o vírus Ebola é tão letal que elimina a população suscetível antes que possa ser extensamente disseminado. Entretanto, nas áreas rurais da África central, até 18% da população têm anticorpos contra este vírus, indicando que ocorrem infecções subclínicas.

Esses vírus podem ser endêmicos em morcegos ou macacos selvagens, e podem ser disseminados a humanos e entre humanos. O contato com o reservatório animal ou direto com sangue ou secreções infectadas pode disseminar a doença. Esses vírus foram transmitidos por injeção acidental e através do uso de seringas contaminadas. Os profissionais de saúde que cuidam dos doentes e os manipuladores de macacos podem estar em risco.

Os vírus Marburg e Ebola são as causas mais graves de febres hemorrágicas virais (Caso Clínico 60-1). A doença usualmente começa com sintomas semelhantes à gripe, como cefaleia e mialgia. Náusea, vômito e diarreia ocorrem dentro de poucos dias; um exantema também pode se desenvolver. Subsequentemente, hemorragia em múltiplos locais (especialmente o trato gastrointestinal) e morte ocorrem em até 90% dos pacientes com doença clinicamente evidente. O surto de 1995, em Kikwit, Congo, matou 260 pessoas.

Caso Clínico 60-1 Ebola

Emond et al. descreveram o caso de infecção por Ebola (Br Med J 2:541 − 544, 1977). Após 6 dias de um acidente com perfuração de agulha ao manipular o fígado de animal infectado com o vírus Ebola, um cientista se queixou de dor abdominal e náusea. Ele foi transferido para uma unidade de doença infecciosa da alta segurança e colocado em um quarto de isolamento. Na admissão (1° dia), apresentava fatiga, anorexia, náusea, dor abdominal e febre de 38°C. Interferon foi administrado duas vezes em um dia, e parecia estar fazendo efeito, porém na manhã seguinte sua febre retornou (39°C). Foi dado soro de convalescente, inativado pelo calor, sem efeito imediato. No 4° dia, suou profusamente, e sua temperatura voltou ao normal, mas teve um exantema novo em seu tórax. Ao meio-dia do dia 4, apresentou calafrio súbito e violento, febre de 40°C, náusea, vômito e diarreia. Estes sintomas continuaram por 3 dias, com propagação do exantema através de seu corpo. No 6° dia, mais soro de convalescente e tratamento de reidratação foram administrados. O paciente fez uma recuperação lenta durante as 10 semanas seguintes. O vírus, como detectado pela microscopia de eletrônica e pela inoculação de cobaias, estava presente em seu sangue no primeiro dia dos sintomas. (A análise seria executada atualmente por RT-PCR, com menos risco ao pessoal do laboratório). O anticorpo foi detectado no 3° dia. Os títulos virais caíram 1.000 vezes após o tratamento com interferon e foram indetectáveis no 9° dia. O tratamento do paciente e a manipulação das amostras foram executados sob as condições as mais estritas de isolamento, disponíveis naquele tempo. Embora o cientista tenha tomado as precauções e embebido suas mãos em hipoclorito assim que possível, seu destino já estava selado. Felizmente, a terapia com interferon e o soro de convalescente estavam disponíveis para limitar a extensão da progressão da doença. Na ausência destes recursos, o cientista morreria de uma doença hemorrágica de progressão rápida.

Diagnóstico Laboratorial

Todos os espécimes de pacientes com suspeita de infecção por filovírus devem ser manejados com extremo cuidado para prevenir infecção acidental. O manejo destes vírus exige procedimentos de **isolamento nível 4**, que não estão rotineiramente disponíveis. O vírus Marburg pode crescer rapidamente em cultura de tecido (células Vero), mas a inoculação em animais (p. ex., cobaia) pode ser necessária para recuperar o vírus Ebola.

As células infectadas possuem grandes corpos de inclusão citoplasmática eosinofílicos. Antígenos virais podem ser detectados em tecido por análise de imunofluorescência direta, e em fluidos por ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA). Amplificação do genoma viral em secreções por RT-PCR pode ser usada para confirmar o diagnóstico e minimizar a manipulação de amostras.

Imunoglobulinas IgG e IgM contra os antígenos dos filovírus podem ser detectadas por imunofluorescência ou ELISA.

Tratamento, Prevenção e Controle

Terapias com soro imune e interferon foram experimentadas em pacientes infectados por filovírus. Pacientes infectados devem ser postos em quarentena e os animais contaminados devem ser sacrificados. O manejo dos vírus ou materiais contaminados exige procedimentos de isolamento muito rigorosos (nível 4).

Vírus da Doença de Borna

O vírus da doença de Borna (BDV) é o único membro de uma família recentemente descrita de vírus envelopado e de RNA fita negativa. O BDV foi inicialmente associado à infecção de cavalos na Alemanha. O vírus despertou considerável interesse recentemente, em virtude da sua associação específica a doenças neuropsiquiátricas, como esquizofrenia.

Estrutura e Replicação

O genoma com 8.910 nucleotídeos do BDV codifica cinco proteínas detectáveis, incluindo uma polimerase (L), nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M) e glicoproteína de envelope (G). Diferente da maioria dos vírus de fita negativa, o BDV se replica no núcleo. Embora seja semelhante aos ortomixovírus, o BDV difere porque o seu genoma não é segmentado. Também incomum para um vírus de RNA, um dos RNAs de fita positiva transcrito a partir do genoma é processado para remover íntrons e produzir três mRNAs para três proteínas diferentes.

Patogênese

O BDV é altamente neurotrópico e capaz de se disseminar por todo o SNC. O BDV também infecta as células parenquimatosas de diferentes órgãos e células mononucleares do sangue periférico. O vírus não é muito citolítico, e estabelece uma infecção persistente no indivíduo infectado. A resposta imune por células T é importante para controlar as infecções por BDV, mas também contribui para lesão tecidual que leva à doença.

Doença

Embora haja uma compreensão limitada da doença por BDV em humanos, a infecção de animais pode resultar em perdas sutis de aprendizado e memória e em meningoencefalite imunomediada fatal. Muitos dos resultados da infecção por BDV, em animais de laboratório se assemelham a doenças neuropsiquiátricas humanas, incluindo depressão, transtorno bipolar, esquizofrenia e autismo. A presença de anticorpos contra o vírus e/ou células mononucleares do sangue periférico infectadas em números mais altos que o nível basal, em pacientes com esquizofrenia, autismo e outras doenças neuropsiquiátricas, sugere que o BDV causa ou exacerba estas doenças mentais.

Epidemiologia

O BDV é uma zoonose capaz de infectar muitas espécies diferentes de mamíferos, incluindo cavalos, carneiros e humanos. A maioria dos surtos do vírus ocorreu na Europa Central, mas o vírus também foi detectado na América do Norte e Ásia. Nem o reservatório nem o modo de transmissão do BDV são conhecidos. Níveis mais altos de infecção em humanos estão presentes onde foram observados surtos em cavalos.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção pode ser detectada por análise direta do genoma e mRNA virais em células mononucleares do sangue periférico, utilizando RT-PCR. Análise sorológica de anticorpos contra as proteínas virais continua a ser usada para identificar uma associação do BDV a doenças humanas.

Tratamento

Tal como muitos outros vírus de RNA, o BDV é sensível ao tratamento com ribavirina. Esse tratamento pode ser uma abordagem razoável para alguns transtornos psiconeurológicos, se o BDV for demonstrado como cofator.

Estudo de Caso e Questões

Um menino de 11 anos de idade foi levado a um hospital na Califórnia após uma queda; suas contusões foram tratadas, e ele foi liberado. No dia seguinte, se recusou a beber seu remédio com água e se tornou mais ansioso. Nessa noite, começou a se agitar e ter alucinações; também estava salivando e tinha dificuldade para respirar. Dois dias depois, teve uma febre de 40,8°C e sofreu dois episódios de parada cardíaca. Embora houvesse suspeita de raiva, não foram obtidos dados suficientes para provar a infecção mesmo com uso de tomografia computadorizada do cérebro e análise do líquido cefalorraquidiano. Uma biópsia de pele da nuca foi negativa para o antígeno viral no 3° dia, mas foi positiva para raiva no 7° dia. O estado do paciente continuou a se deteriorar, e ele morreu 11 dias depois. Quando os pais foram questionados, falaram que o menino tinha sido mordido no dedo por um cão 6 meses antes, durante uma viagem à Índia.

1. Que características clínicas deste caso sugeriam raiva?

Raiva é sugerida pelo fato de o garoto se recusar a beber água (hidrofobia), alucinações, ansiedade, salivação, dificuldade de respirar e febre.

2. Por que a raiva tem um período de incubação tão longo?

2. Raiva tem um longo período de incubação porque não é causada por um vírus de ação muito citolítica. Também este vírus fica relativamente oculto ao sistema imune por estar dentro da célula neuronal. Os sinais característicos da doença ocorrem somente quando o vírus chega ao cérebro e começa sua replicação causando os danos.

3. Que tratamento deveria ter sido dado imediatamente depois da mordida do cão? Que tratamento deveria ser dado tão logo houvesse suspeita de raiva?

3. Imediatamente após a mordida de cão, a criança deveria ter recebido imunoglobulina específica antirraiva o mais próximo possível do local do ferimento. A imunização com a vacina antirrábica inativada também deveria ter sido iniciada o mais rapidamente possível.

4. Como os aspectos clínicos da raiva diferem dos de outras doenças neurológicas virais?

4. Ao contrário de outras doenças neurológicas virais, infecção rábica é indetectável até atingir o cérebro (muito tarde para o tratamento) e, então, infecta as glândulas salivares tornando doloroso o ato de engolir.

Bibliografia

Anderson LJ. et al: Human rabies in the United States, 1960–1979: Epidemiology, diagnosis, and prevention. *Ann Intern Med*. 1984;100:728-735.
Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed. St Louis: Mosby, 2004.
Fishbein DB. Rabies. *Infect Dis Clin North Am*. 1991;5:53-71.
Flint SJ. et al: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2003.
Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
Plotkin SA. Rabies: State of the art clinical article. *Clin Infect Dis*. 2000;30:4-12.
Rabies vaccine. A new rabies vaccine for use in humans. *Morb Mortal Wkly Rep*. 1988;37(14):217-223. absorbed:
Rupprecht CE. et al: Human infection due to recombinant vaccinia-rabies glycoprotein virus. *N Engl J Med*. 2001;345(8):582-586.
Steele JH. Rabies in the Americas and remarks on the global aspects. *Rev Infect Dis*. 1988;10(Suppl 4):S585-S597.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed. San Diego: Academic, 2007.
Warrell DA, Warrell MJ. Human rabies and its prevention: An overview. *Rev Infect Dis*. 1988;10(Suppl 4):S726-S731.
Winkler WG, Bogel K. Control of rabies in wildlife. *Sci Am*. 1992;266:86-92.
Wunner WH. et al: The molecular biology of rabies viruses. *Rev Infect Dis*. 1988;10(Suppl 4):S771-S784.

Filovírus

Groseth A, Feldmann H, Strong JE. The ecology of Ebola virus. *Trends Microbiol*. 2007;15:408-416.
Klenk HD. Marburg and Ebola Viruses. Curr Top Microbiol Immunol. Berlin, New York: Springer-Verlag. 1999;235.
Preston R. The Hot Zone. New York: Random House, 1994.
Sodhi A. Ebola virus disease. *Postgrad Med*. 1996;99:75-76.

Bornavírus

Jordan I, Lipkin WI. Borna disease virus. *Rev Med Virol*. 2001;11:37-57.
Richt JA. et al: Borna disease virus infection in animals and humans. http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/richt.htm. Emerg Infect Dis. 1997;3;3. (online): Disponível em

Sites

CDC Ebola information (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/ebola.htm.
CDC rabies CDC rabies virus information (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/rabies/.
Gompf, Gompf SJ. et al: Rabies (on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic1374.htm.
Hatalski et al., Hatalski CG, Lewis AJ, Lipkin WI. Borna Disease. Emer Infect Dis 3(2), (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no2/hatalski.htm.
King JW, Markanday A. Ebola virus (on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic626.htm.
Merlin M, Bertolini J. Rabies (on-line): Disponível em. http://www.emedicine.-com/emerg/topic493.htm.
Richt JA. et al: Borna Disease Virus Infection in Animals and Humans. http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/richt.htm. Emerg Infect Dis. 1997:3;3. (on-line):

Disponível em

61 Reovírus

Os ***Reoviridae*** consistem em ortoreovírus, rotavírus, orbivírus e coltivírus (Tab. 61-1). O nome reovírus foi proposto em 1959 por Albert Sabin para um grupo de vírus respiratórios e entéricos que não estavam associados a nenhuma doença conhecida (***respiratória, entérica, ó*;rfão = etiologia desconhecida**). Os *Reoviridae* são vírus não envelopados com **capsídeos com dupla camada de proteínas** contendo **10 a 12 segmentos de genomas de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia dupla**. Os vírus são estáveis em uma ampla variação de pH e temperatura e nos aerossóis transmitidos pelo ar. Os orbivírus e coltivírus são disseminados pelos artrópodes e são arbovírus.

Tabela 61-1 *Reoviridae* Responsáveis por Doença Humana

Vírus	Doença
Ortoreovírus*	Doença leve do trato respiratório superior, doença do trato gastrointestinal, atresia biliar
Orbivírus/Coltivírus	Doença febril com cefaleia e mialgia (zoonoses)
Rotavírus	Doença do trato gastrointestinal, doença do trato respiratório (?)

* *Reovírus é o nome comum para a família Reoviridae e para o gênero específico Ortoreovírus.*

O s **ortoreovírus**, também conhecidos como **reovírus mamíferos** ou simplesmente reovírus, foram isolados primeiramente nos anos 1950 em fezes de crianças. Eles são o protótipo desta família de vírus e a base molecular de sua patogênese tem sido estudada extensivamente. Em geral, estes vírus causam infecções assintomáticas em humanos.

Rotavírus causam a **gastroenterite infantil humana**, uma doença muito comum. Na verdade, os rotavírus contribuem para aproximadamente 50% de todos os casos de diarreia em crianças, requerendo hospitalização devido à desidratação (70.000 casos por ano nos Estados Unidos; 500.000 a 600.000 mortes por ano em todo o mundo). Os rotavírus são um problema ainda maior nos países subdesenvolvidos, onde podem ser responsáveis por pelo menos 1 milhão de mortes por ano devido à diarreia viral sem controle em crianças subnutridas.

Estrutura

Rotavírus e reovírus compartilham muitas características estruturais, replicativas e patogênicas. Os reovírus e os rotavírus têm uma morfologia icosaédrica com um capsídeo de camada dupla (60 a 80nm de diâmetro) (Quadro 61-1; Fig. 61-1) e um genoma segmentado de dupla cadeia **("dupla-dupla")**. O nome **rotavírus** é derivado da palavra em latim ***rota***, que significa **"roda"**;, que se refere ao aspecto do vírion em negativos de micrografia eletrônica (Fig. 61-2). A clivagem proteolítica do capsídeo externo (como ocorre no trato gastrointestinal) ativa o vírus para a infecção e produz uma **partícula subviral infecciosa/intermediária (ISVP –**; ***intermediate/infectious subviral particle***).

Quadro 61-1 Propriedades Características dos *Reoviridae*

Capsídeo de dupla camada do vírion (60 a 80nm) tem simetria icosaédrica contendo 10 a 12 (dependendo do vírus) **segmentos genômicos de fita dupla** (*Vírus duplo:duplo)*

O vírion é **resistente** ao ambiente e condições gastrointestinais (p. ex., detergentes, pH ácido, secagem).

Rotavírus e ortovírus são ativados por proteólise moderada em partículas subvirais intermediárias/infecciosas, aumentando sua infectividade.

O capsídeo interno contém um sistema de transcrição completo, incluindo RNA polimerase RNA-dependente e enzimas para adição de *cap* na extremidade 5′ e de adição de poliadenilato.

Replicação viral ocorre no citoplasma. RNA de cadeia dupla permanece no cerne.

Capsídeo interno se agrega em torno de RNA (+) e transcreve RNA (−) no citoplasma.

Capsídeo interno completo do Rotavírus brota no retículo endoplasmático, adquirindo seu capsídeo externo e uma membrana, que depois é perdida.

O vírus é liberado por lise celular.

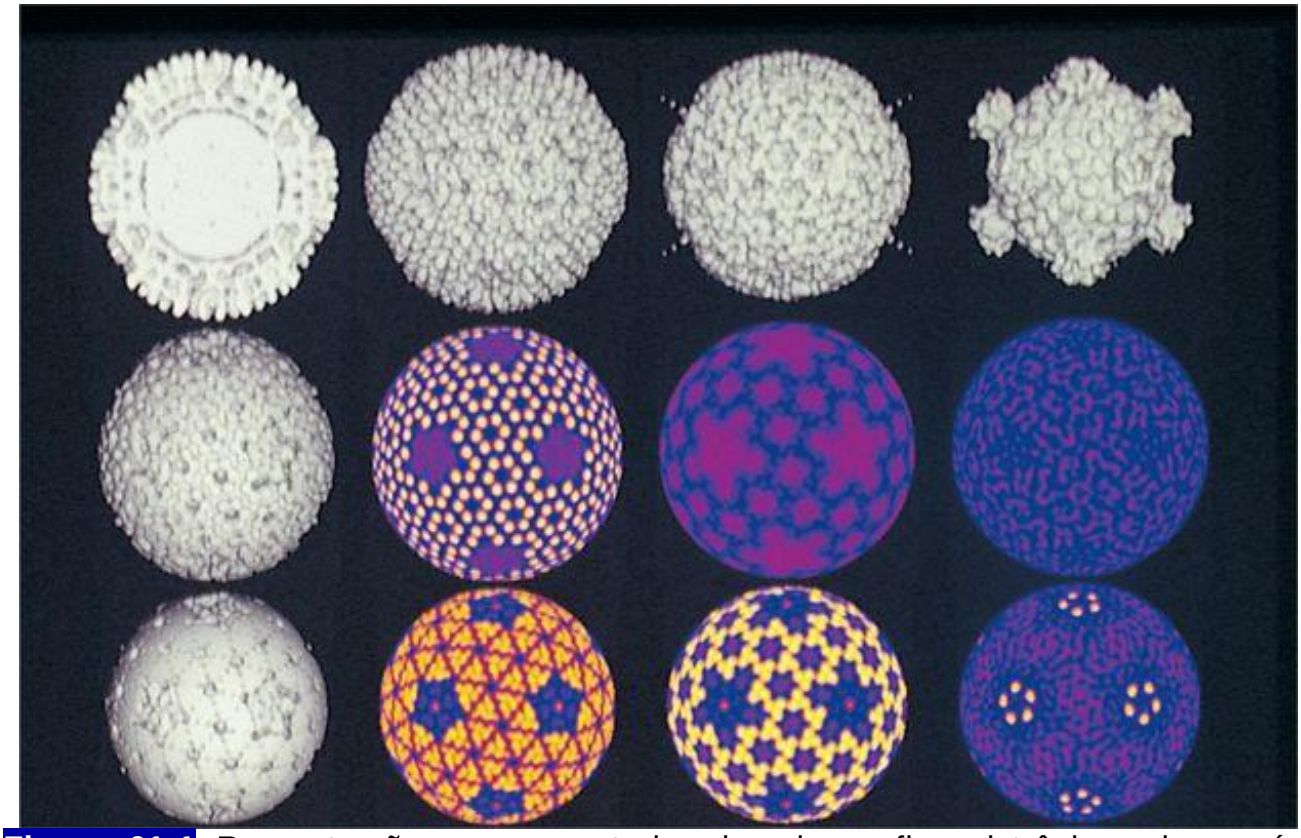


Figura 61-1 Reconstrução por computador de micrografias eletrônicas do reovírus humano tipo 1 (Lang). *Topo, da esquerda para a direita:* seção transversal do vírion, partícula subviral intermediária/infecciosa (ISVP) e partícula do *core*. As partículas ISVP e do *core* são geradas por proteólise do vírion e desempenham importantes papéis no ciclo de replicação. *Centro e abaixo:* imagens geradas por computador dos vírions em diferentes raios após as camadas externas terem sido retiradas. As cores ajudam a visualizar a simetria e interações moleculares dentro do capsídeo.

(Cortesia Tim Baker, Purdue University.)

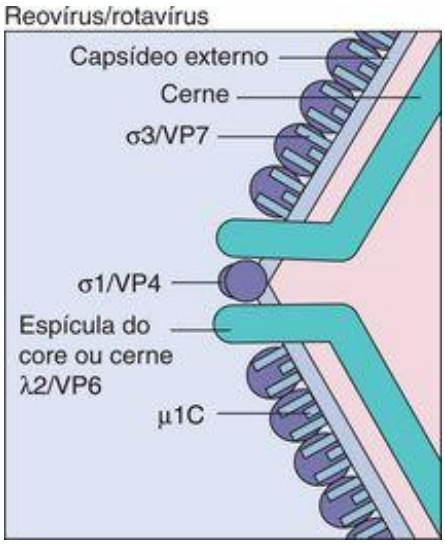


Figura 61-2 Estrutura do cerne do reovírus/rotavírus e proteínas externas. σ1/VP4, proteína de fixação viral; σ3/VP7, principal componente do capsídeo; λ2/VP6, principal proteína do capsídeo interno; μ1C, menor proteína do capsídeo externo.

(Redesenhado de Sharpe AH, Fields BN: N Engl J Med 312:486-497, 1985

O capsídeo externo é composto de proteínas estruturais (Fig. 61-3), que circundam um cerne nucleocapsídeo que inclui enzimas para a síntese de RNA e 10 (reo) ou 11 (rota)

diferentes segmentos genômicos de RNA de cadeia dupla. Tal como o capsídeo do vírus influenza, os capsídeos do reovírus e do rotavírus são preenchidos aleatoriamente por mais de 10 ou 11 segmentos de genoma para gerar vírions com um arranjo completo de diferentes segmentos. Além disso, o **reagrupamento dos segmentos de genes** pode ocorrer e assim criar vírus híbridos.

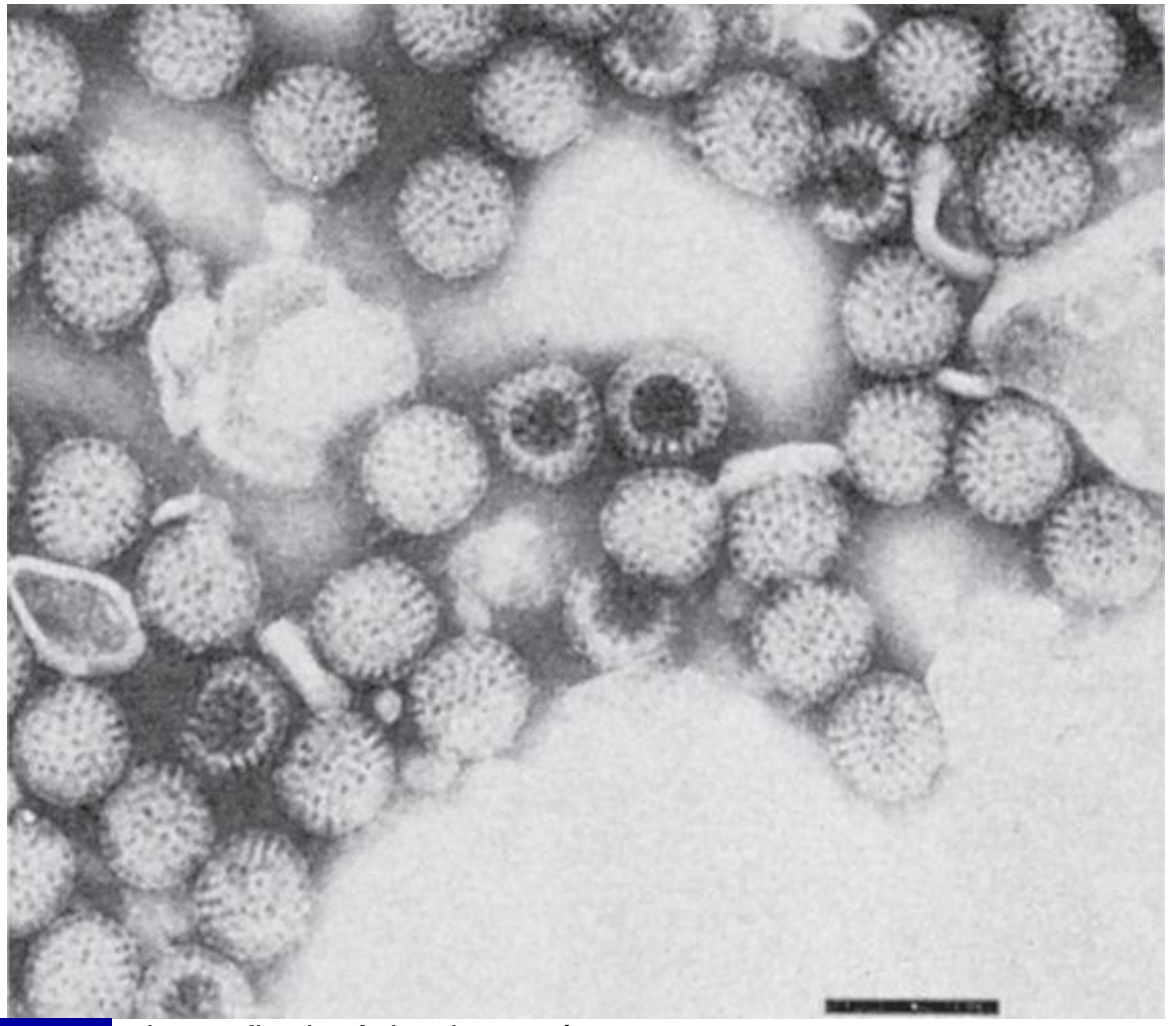


Figura 61-3 Micrografia eletrônica do rotavírus. *Barra* = 100nm.

(De Fields BN, et al: Virology. New York, Raven, 1985.)

É interessante que os rotavírus parecem vírus envelopados, por: (1) terem glicoproteínas (VP7, NSP4) que estão fora do vírion; (2) adquirirem, mas perdem um envelope durante o agrupamento; e (3) parecem ter uma atividade de fusão de proteína que promove penetração direta na membrana da célula-alvo.

Os segmentos genômicos dos rotavírus e reovírus decodificam proteínas estruturais e não estruturais. Os segmentos genômicos do reovírus, as proteínas que eles decodificam, estão resumidos na Tabela 61-2; os do rotavírus estão resumidos na Tabla 61-3. Proteínas internas incluem atividades enzimáticas necessárias para a transcrição de RNA mensageiro (mRNA). Elas incluem uma enzima para fazer *capping* de mRNA e uma RNA polimerase. A proteína σ1 (reo) e a VP4 (rota) estão localizadas nos vértices dos capsídeos e se estendem a partir da superfície como espículas de proteínas. Elas têm várias funções, incluindo hemaglutinação e aglutinação viral, e contra elas é que são produzidos os anticorpos neutralizantes. A VP4 é ativada pela clivagem por protease nas proteínas VP5 e VP8, expondo uma estrutura similar à das proteínas de fusão dos paramixovírus. Sua clivagem facilita a entrada produtiva de vírus para dentro das células.

Tabela 61-2 Funções dos Produtos dos Genes dos Reovírus

Segmentos Genômicos(Peso Molecular, Da)	Proteína	Função(Se Conhecida)
Grandes segmentos ($2,8 \times 10^6$)		
1	λ3 (capsídeo interno)	Polimerase
2	λ2 (capsídeo externo)	Enzima que acrescenta o *cap*
3	λ1 (capsídeo interno)	Componente transcriptase
Segmentos médios ($1,4 \times 10^6$)		
1	μ2 (capsídeo interno)	—
2	μ1C (capsídeo externo)	Clivado de μ1, que complexa com σ3, promove entrada
3	μNS	Promove montagem viral*
Segmentos pequenos ($0,7 \times 10^6$)		
1	σ1 (capsídeo externo)	Proteína de fixação viral, hemaglutinina, determina tropismo tissular†
2	σ2 (capsídeo interno)	Facilita síntese de RNA viral
3	σNS	Facilita síntese de RNA viral
4	σ3 (capsídeo externo)	Principal componente do capsídeo externo, junto com μ1C

* *Proteínas não são encontradas no vírion*.

† *Alvo de anticorpos neutralizadores*.

Modificado de Field BN, et al: Virology, 3rd ed. New York, Lippincott-Raven, 1996

Tabela 61-3 Funções dos Produtos dos Genes do Rotavírus

Segmento de Gene	Proteína (Localização)	Função
1	VP1 (capsídeo interno)	Polimerase
2	VP2 (capsídeo interno)	Componente de transcriptase
3	VP3 (capsídeo interno)	Ligação do *cap* no mRNA
4	VP4 (espícula de proteína do capsídeo externo nos vértices do vírion)	Ativação por protease para VP5 e VP8 em ISVP, hemaglutinina, proteína de ligação viral[*]
5	NSP1 (NS53)	Ligação do RNA
6	VP6 (capsídeo interno)	Principal proteína estrutural do capsídeo interno, se ligando ao NSP4 no RE para promover reunião do capsídeo externo
7	NSP3 (NS34)	Ligação do RNA
8	NSP2 (NS35)	Ligação do RNA, importante para a replicação do genoma e empacotamento
9	VP7 (capsídeo externo)	Antígeno tipo-específico, principal componente do capsídeo externo, que é glicosilado no RE e facilita a fixação e entrada[*]
		Proteína glicosilada no RE que promove a ligação do

10	NSP4 (NS28)	capsídeo interno ao RE, envelopamento transitório e adição do capsídeo externo; age como uma enterotoxina para mobilizar cálcio e causar diarreia
11	NSP5 (NS26)	Ligação de RNA
11	NSP6	Liga-se a NSP5

RE, retículo endoplasmático; ISVP, partícula subviral intermediária/infecciosa.

***** *Alvo de anticorpo neutralizante*.

Replicação

A replicação de reovírus e rotavírus começa com a ingestão do vírus (Fig. 61-4). O capsídeo externo do vírion protege do meio ambiente o nucleocapsídeo e o cerne (ou *core*), especialmente do ambiente ácido do trato gastrointestinal. O vírion completo é então parcialmente digerido no trato gastrointestinal e presumivelmente ativado por clivagem da protease e perda das proteínas do capsídeo externo (σ3/VP7) e clivagem da proteína σ1/VP4 para produzir ISVP. A proteína σ1/VP4 nos picos da ISVP se liga ao ácido siálico contido nas glicoproteínas das células epiteliais e outras células. Receptores adicionais incluem o receptor β-adrenérgico para reovírus e moléculas de integrina para rotavírus. A σ1/VP4 do rotavírus se liga ao receptor e promove a penetração do vírion dentro da célula. Vírions inteiros de reovírus e rotavírus também podem ser absorvidos por endocitose mediada por receptores.

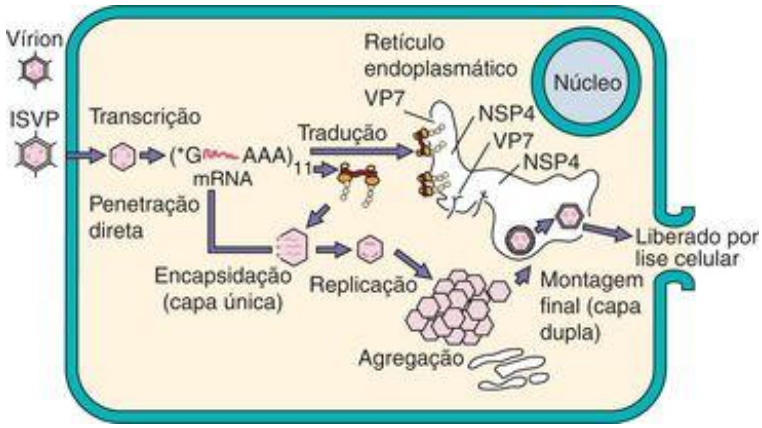


Figura 61-4 Replicação do rotavírus. Os vírions do rotavírus podem ser ativados pela protease (p. ex., no trato gastrointestinal) para produzir partícula subviral intermediária/infecciosa (ISVP). O vírion ou ISVP se liga, penetra na célula e perde seu capsídeo externo. O capsídeo interno contém as enzimas para transcrição do mRNA usando as cadeias (±) como um molde. Alguns segmentos de mRNA são transcritos precocemente; outros, tardiamente. Enzimas nos cernes dos vírions anexam o *cap* na extremidade 5 (***G**) e a cauda poli A (**AAA**) na extremidade 3 do mRNA. RNA (+) é mRNA e também é fechado dentro dos capsídeos internos como um molde para replicar o genoma segmentado (±). VP7 e NSP4 são sintetizadas como glicoproteínas e expressadas no retículo endoplasmático. Os capsídeos se agregam e "engancham" na proteína NSP4 do retículo endoplasmático, adquirindo VP7 e seu capsídeo externo e um envelope. O vírus perde o envelope e deixa a célula por lise celular.

A ISVP libera o *core* para dentro do citoplasma, e as enzimas deste cerne iniciam a produção de mRNA. O **RNA de cadeia dupla sempre permanece no cerne**. A transcrição do genoma ocorre nas fases precoce e tardia. De modo similar a um vírus RNA de sentido negativo, cada uma das fitas de RNA(–) polaridade negativa é usada como modelo por enzimas do centro de vírion, que sintetizam mRNAs individuais. Enzimas decodificadoras de vírus no cerne adicionam um *cap* de metil guanosina na extremidade 5′ e uma cauda 3′-poliadenilato. O mRNA então sai do cerne e é transcrito. Mais tarde, proteínas dos vírions e segmentos de RNA(+) sentido positivo são associados em estruturas semelhantes ao *core* em grandes inclusões citoplasmáticas. Os segmentos de RNA (+) são copiados para produzir RNAs (–) nos novos cernes, replicando o genoma de fita dupla. Os novos cernes geram mais RNA (+) ou se agregam para formar vírions.

Os processos de montagem diferem para o reovírus e o rotavírus. Na montagem dos reovírus, as proteínas do capsídeo externo se agregam ao cerne e o vírion sai da célula por lise celular. A montagem do rotavírus se assemelha à de um vírus envelopado, na qual o cerne

o u *core* do rotavírus se associa com a proteína viral NSP4 do lado de fora do retículo endoplasmático (RE); brotando para dentro do RE, eles adquirem sua glicoproteína VP7 do capsídeo externo. A membrana é perdida no RE e o vírus deixa a célula durante a lise celular. O reovírus inibe a síntese macromolecular celular dentro de 8 horas após a infecção.

Ortoreovírus (Reovírus Mamíferos)

Os ortoreovírus se encontram em todos os lugares. Os vírions são muito estáveis e têm sido detectados em esgotos e águas fluviais. Os reovírus mamíferos ocorrem em três sorotipos, citados como **reovírus tipos 1, 2 e 3**; estes sorotipos são baseados em exames de neutralização e inibição da hemaglutinação. Todos os três sorotipos compartilham um antígeno fixador de complemento em comum.

Patogênese e Imunidade

Os ortoreovírus não causam doenças significativas em humanos. Entretanto, estudos da doença do reovírus em camundongos levaram a um avanço na nossa compreensão da patogênese das infecções virais em humanos. Dependendo da linhagem do reovírus, o vírus pode ser neurotrópico ou viscerotrópico em camundongos. As funções e propriedades de virulência das proteínas do reovírus foram identificadas através da comparação das atividades de vírus híbridos entre linhagens que diferem apenas em um segmento genômico (codificando uma proteína). Com esta abordagem, a nova atividade é atribuível ao segmento genômico proveniente da outra cepa de vírus.

Após a ingestão e produção proteolítica da ISVP, os ortovírus se ligam às células M no intestino delgado, que transferem o vírus para partes do tecido linfoide de Peyer que recobre os intestinos. Os vírus, então, se replicam e iniciam uma viremia. Embora o vírus seja citolítico *in vitro*, causa poucos ou nenhum sintoma antes de entrar na circulação e produzir infecção em um local à distância. No modelo de camundongos, a proteína externa do capsídeo tem atividade da hemaglutinina (δ1) também facilita a disseminação viral para os linfonodos mesentéricos e determina se o vírus é neurotrópico.

Camundongos e, presumivelmente, humanos montam respostas imunes humoral e celular de proteção à proteína externa do capsídeo. Embora os ortoreovírus sejam normalmente líticos, também podem estabelecer infecção persistente em culturas de células.

Epidemiologia

Como já relatado, os ortoreovírus têm sido encontrados em todos os lugares do mundo. Estudos de soroprevalência sugerem que a maioria das pessoas é provavelmente infectada durante a infância, porque aproximadamente 75% dos adultos têm anticorpos antivirais. A maioria dos animais, incluindo chimpanzés e macacos, é infectada por reovírus que estão relacionados sorologicamente aos reovírus humanos. Não se sabe se os animais são um reservatório para infecções em humanos.

Síndromes Clínicas

Os ortoreovírus infectam pessoas de todas as idades, mas tem sido difícil fazer uma ligação específica a estes agentes. A maioria das infecções é tida como assintomática ou é tão leve que passa despercebida. Logo, estes vírus têm sido ligados a doença leve no trato respiratório superior semelhante a um resfriado (febrícula, rinorreia e faringite), doença do trato gastrointestinal e atresia biliar.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção humana por ortovírus pode ser detectada através de pesquisa de antígeno ou RNA viral em material clínico, isolamento do vírus ou pesquisa sorológica de anticorpo específico do vírus. São usadas amostras da garganta, nasofaringe e fezes de pacientes com suspeita de doença do trato respiratório superior ou com diarreia. Ortoreovírus humanos podem ser isolados usando fibroblastos L de camundongos, células renais primárias de macacos e HeLa células. Pesquisas sorológicas podem ser realizadas com propósitos epidemiológicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

A doença por ortoreovírus é leve e autolimitada. Por esta razão, não é necessário tratamento e não foram investigadas medidas de prevenção e controle.

Rotavírus

Os rotavírus são agentes comuns de diarreia infantil em todo o mundo. Os rotavírus são um grande grupo de vírus que causam gastroenterite e infectam muitos diferentes mamíferos e pássaros.

Os vírions dos rotavírus são relativamente estáveis à temperatura ambiente e ao tratamento com detergentes, em pH extremos de 3,5 a 10 e até ao congelamento e degelo repetidos. Enzimas proteolíticas, como a tripsina, aumentam a infectividade.

Rotavírus humano e animal são divididos em sorotipos, grupos e subgrupos. Os sorotipos são primariamente distinguidos pelas proteínas do capsídeo externo VP7 (glicoproteína G) e VP4 (proteína P sensível à protease). Os grupos são determinados primariamente com base na antigenicidade da VP6 e da mobilidade eletroforética dos segmentos genômicos. Sete grupos (A a G) de rotavírus humanos e animais foram identificados com base na proteína VP6 do capsídeo interno. A doença humana é causada pelos rotavírus do grupo A e ocasionalmente pelos dos grupos B e C.

Patogênese e Imunidade

O rotavírus pode sobreviver em um ambiente ácido no estômago causado por medicamentos ou após uma refeição (Quadro 61-2). A replicação viral ocorre após a adsorção às células epiteliais colunares que cobrem as vilosidades do intestino delgado. Aproximadamente 8 horas após a infecção, são vistas inclusões citoplasmáticas que contêm proteínas recentemente sintetizadas e RNA. Podem ser liberadas até 10^{10} partículas virais por grama de fezes durante a doença. Estudos do intestino delgado, tanto experimentalmente em animais infectados quanto em amostras de biópsia de crianças infectadas, mostram encurtamento e achatamento das microvilosidades e infiltração de células mononucleares dentro da própria lâmina.

Quadro 61-2 Mecanismos Patológicos do Rotavírus

Vírus é disseminado pela **via fecal-oral** e possivelmente por via respiratória.

Ação citolítica e semelhante a uma toxina entérica sob epitélio intestinal causando perda de eletrólitos e prejudicando a reabsorção de água.

A doença pode ser significativa em lactentes com menos de 24 meses, mas é assintomática em adultos.

Grandes quantidades de vírus são liberadas durante a fase de diarreia.

Assim como na cólera, a infecção por rotavírus evita a absorção de água, causando uma trama de secreção de água e perda de íons que juntas resultam em uma diarreia aquosa. A **proteína NPS4** do rotavírus age de **maneira semelhante a uma toxina**, promovendo influxo de íon de cálcio para os enterócitos, liberação de ativadores neuronais e uma alteração neuronal na absorção de água. A perda de líquidos e eletrólitos pode levar à desidratação grave e até a morte se o tratamento não incluir reposição de eletrólitos. É interessante que a diarreia também promove a disseminação e transmissão do vírus.

Imunidade à infecção requer a presença de anticorpo, primariamente imunoglobulina A (IgA), na luz do intestino. Anticorpos para VP7 e VP4 neutralizam o vírus. Anticorpo adquirido ativamente ou passivamente (incluindo anticorpos no colostro e leite materno) pode diminuir a gravidade da doença, mas não previne consistentemente a reinfecção. Na ausência de anticorpo, a inoculação de quantidades até pequenas do vírus causa infecção e diarreia. A infecção em lactentes e crianças pequenas é geralmente sintomática, enquanto em adultos é geralmente assintomática.

Epidemiologia

Os rotavírus estão presentes em todos os lugares no mundo todo, com 95% das crianças infectadas com 3 a 5 anos de idade (Quadro 61-3). Considera-se que os rotavírus são passados de pessoa a pessoa pela **via fecal-oral**. A disseminação máxima do vírus ocorre 2 a 5 dias após o início da diarreia, mas pode ocorrer sem sintomas. O vírus sobrevive bem em fômites (p. ex., móveis e brinquedos) e nas mãos, porque resistem ao ressecamento. Embora se saiba que animais domésticos sejam abrigos sorologicamente relacionados aos rotavírus, eles não são uma fonte comum de infecção humana. Surtos ocorrem em centros pré-escolares e creches e entre crianças hospitalizadas.

Quadro 61-3 Epidemiologia do Rotavírus

Doenças/Fatores Virais

O capsídeo do vírus é resistente às condições ambientais e gastrointestinais.

Grandes quantidades de vírus são liberadas no material fecal.

Infecção assintomática pode resultar na liberação de vírus

Transmissão

O vírus é transmitido no material fecal, especialmente em creches.

Transmissão respiratória pode ser possível.

Quem Está sob Risco?

Rotavírus Grupo A.

Lactentes com menos de 24 meses de idade: risco de gastroenterite infantil com potencial desidratação.

Crianças mais velhas e adultos: risco de diarreia leve.

Pessoas subnutridas em países subdesenvolvidos: risco de diarreia, desidratação e morte.

Rotavírus Grupo B (diarreia por rotavírus do adulto – ADRV -*adult diarrhea rotavirus*).

Lactentes, crianças mais velhas e adultos na China: risco de gastroenterite grave.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Vírus é encontrado no mundo todo.

Doença é mais comum no outono, inverno e primavera.

Modos de Controle

Lavar as mãos e isolar os casos conhecidos são modos de controle.

Vacinas híbridas contendo rotavírus atenuados humanos, bovinos ou de macacos.

Os rotavírus são **uma das causas mais comuns de diarreia grave em crianças pequenas** em todo o mundo afetando mais de 18 milhões de lactentes e crianças e contribuindo anualmente para quase 1 milhão de mortes por desidratação. Na América do Norte, os surtos ocorrem durante o outono, inverno e primavera. Doença mais severa ocorre em crianças gravemente desnutridas. A diarreia por rotavírus é uma doença muito contagiosa, grave, com risco de vida para crianças de países em desenvolvimento e ocorre no ano todo. Vários surtos de rotavírus do grupo B ocorreram na China devido aos suprimentos contaminados de água que afetaram milhões de pessoas.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 61-1; Quadro 61-4)

O rotavírus é a principal causa de gastroenterite. O período de incubação para a doença diarreica do rotavírus é estimado em 48 horas. Os principais achados clínicos em pacientes hospitalizados são **vômitos, diarreia, febre** e **desidratação**. Não ocorrem leucócitos fecais ou sangue nas fezes nesta forma de diarreia. A gastroenterite por rotavírus é uma doença autolimitada e a recuperação é geralmente completa e sem sequelas. Porém, a infecção pode ser fatal em lactentes que moram em países em desenvolvimento e que já estavam desnutridos e desidratados antes da infecção.

Quadro 61-4 Resumo Clínico

Rotavírus: Uma criança de 1 ano apresentava diarreia aquosa, vômitos e febre há 4 dias. A análise por teste imunoabsorvente ligado à enzima realizado nas fezes confirmou rotavírus. O bebê está muito desidratado.

Caso Clínico 61-1 Infecção por Rotavírus em Adultos

Mikami et al. (J Med Virol 73:460-464, 2004) descreveram um surto de gastroenterite aguda que ocorreu em um período de 5 dias após uma viagem escolar que durou 3 dias. Quarenta e cinco das 107 crianças (idades entre 11 e 12 anos) que viajavam juntas foram infectadas. A pessoa fonte do surto estava doente no início da viagem. Um caso de gastroenterite aguda por rotavírus é definido como três ou mais episódios de diarreia e/ou dois ou mais episódios de vômitos por dia. Outros sintomas incluem febre, náusea, cansaço, dor abdominal e cefaleia. O rotavírus responsável pelo surto foi identificado nas fezes de vários indivíduos por comparação do padrão de migração genômica do RNA através da eletroforese, RT-PCR e por ELISA, como sendo do grupo A do sorotipo G2. Embora o rotavírus seja a causa mais comum de diarreia infantil, este vírus, especialmente da cepa G2, também causa gastroenterite em adultos. Este artigo ilustrou os diferentes métodos laboratoriais disponíveis para a detecção de um vírus que é de difícil crescimento em cultura de células.

Diagnóstico Laboratorial

Os achados clínicos em pacientes com infecção por rotavírus parecem com os de outras diarreias virais (p. ex., vírus de Norwalk). A maioria dos pacientes tem grandes quantidades de vírus nas fezes, tornando a detecção direta do antígeno viral o método de escolha para o diagnóstico. Os testes de imunoensaio enzimático e aglutinação em látex são maneiras rápidas, fáceis e relativamente baratas de detectar o rotavírus nas fezes. Partículas virais em amostras também podem ser prontamente detectadas por microscopia eletrônica ou imunoeletrônica.

Cultura de células para rotavírus é difícil e não confiável para fins diagnósticos. Estudos sorológicos são primariamente usados para fins de pesquisa e epidemiológicos. Uma vez que tantas pessoas têm anticorpo específico para rotavírus, é necessário um aumento de quatro vezes na titulação de anticorpos para o diagnóstico de infecção recente ou doença em atividade.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os rotavírus são adquiridos muito cedo na vida. Sua natureza ubíqua torna difícil limitar a disseminação do vírus e infecção. Pacientes hospitalizados com a doença devem ser isolados para limitar a disseminação da infecção para outros pacientes suscetíveis.

Não há um tratamento antiviral específico disponível para uma infecção por rotavírus. A morbidade e mortalidade associadas à diarreia por rotavírus resultam da desidratação e desequilíbrio eletrolítico. O objetivo do tratamento de suporte é a reposição de líquidos de forma que o volume de sangue e os desequilíbrios de eletrólitos e ácido-base sejam corrigidos.

O desenvolvimento de uma vacina segura para o rotavírus é de alta prioridade para proteger crianças, especialmente aquelas de países subdesenvolvidos, de uma doença potencialmente fatal. Os rotavírus animais, como os vírus que causam diarreia dos macacos rhesus e dos bezerros de Nebraska, compartilham determinantes antigênicos com os rotavírus humanos e não causam doença em humanos. Embora uma vacina atenuada macaco rhesus humana (Rotashield) tenha ficado marcada em 1999 devido à incidência de intussuscepção entre os vacinados, duas novas vacinas para rotavírus seguras foram desenvolvidas e aprovadas pela FDA nos Estados Unidos. A RotaTeq que consiste em uma mistura dos antígenos VP4 ou VP7 de cinco cepas diferentes rotavírus humanos. A vacina RotaRix é um rotavírus de uma única cepa humana atenuada.

Coltivírus e Orbivírus

Os coltivírus e orbivírus infectam vertebrados e invertebrados. Os coltivírus causam a febre do carrapato do Colorado e a doença humana relacionada. Os orbivírus causam doença principalmente em animais, incluindo a da língua azul dos carneiros, o mal do cavalo africano e a doença epizoótica hemorrágica dos cervos.

A **febre do carrapato do Colorado**, uma doença aguda caracterizada por febre, cefaleia e mialgia severa, foi originalmente descrita no século XIX e agora se acredita que seja a doença viral transmitida por carrapato mais comum nos Estados Unidos. Embora centenas de infecções ocorram anualmente, o número exato não é conhecido, porque a febre do carrapato do Colorado não é uma doença notificável.

A estrutura e fisiologia dos coltivírus e orbivírus são similares às dos *Reoviridae*, com as seguintes exceções principais:

1. O capsídeo externo dos orbivírus não tem uma estrutura capsomérica discernível, mesmo que o capsídeo interno seja icosaédrico.

2. O vírus causa viremia, infecta precursores de eritrócitos e permanece nas hemácias maduras, protegido da resposta imune.

3. O ciclo de vida do orbivírus inclui vertebrados e invertebrados (insetos).

Vírus da febre do carrapato de Colorado têm 12 segmentos genômicos de RNA de cadeia dupla e os orbivírus têm 10.

Patogênese

O vírus da febre do carrapato do Colorado infecta células precursoras de eritrócitos sem danificá-las severamente. O vírus permanece dentro das células, mesmo depois que elas amadurecem e se transformam em hemácias: este fator impede que o vírus desapareça. A viremia resultante pode persistir por semanas ou meses, mesmo após o desaparecimento dos sintomas. Esses dois fatores promovem a transmissão do vírus para o vetor carrapato.

Doença hemorrágica grave pode resultar da infecção do endotélio vascular e de células musculares lisas vasculares e pericitos, enfraquecendo a estrutura capilar. A fraqueza leva a extravasamento, hemorragia e potencialmente, hipotensão e choque. A infecção neuronal pode levar à meningite e encefalite.

Epidemiologia

A febre do carrapato do Colorado ocorre em áreas do oeste e noroeste dos Estados Unidos e oeste do Canadá, onde o carrapato *Dermacentor andersoni* está distribuído (elevações de 1.220 a 3.050m) (Fig. 61-5). Os carrapatos adquirem o vírus ao se alimentarem de um hospedeiro virêmico transmitindo o vírus pela saliva quando se alimentam em um novo hospedeiro. Muitos mamíferos, incluindo esquilos, tâmias, coelhos e cervos são hospedeiros naturais deste vírus. A doença humana é observada durante a primavera, verão e outono, estações em que os humanos têm maior probabilidade de invadir o habitat do carrapato.

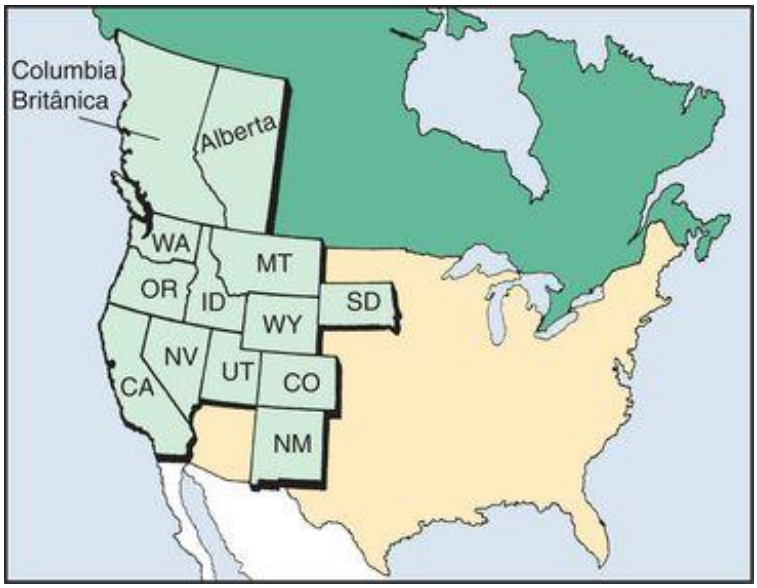


Figura 61-5 Distribuição geográfica da febre do carrapato de Colorado.

O vírus da febre do carrapato do Colorado geralmente causa infecção leve ou subclínica. Os sintomas da doença aguda lembram os da dengue. Após um período de incubação de 3 a 6 dias, infecções sintomáticas começam com o surgimento súbito de febre, calafrios, cefaleia, fotofobia, mialgia, artralgia e letargia (Fig. 61-6). Características da infecção incluem febre bifásica, conjuntivite e possivelmente linfadenopatia, hepatoesplenomegalia e um exantema maculopapular ou petequial. Uma leucopenia envolvendo neutrófilos e linfócitos é uma marca importante da doença. Crianças ocasionalmente têm doença hemorrágica mais grave. A febre do carrapato de Colorado deve ser diferenciada da febre maculosa das Montanhas Rochosas. Esta última também é caracterizada por exantema e transmitida por carrapato, porem é uma infecção causada por ricketsia (uma bactéria) e pode requerer tratamento com antibiótico.

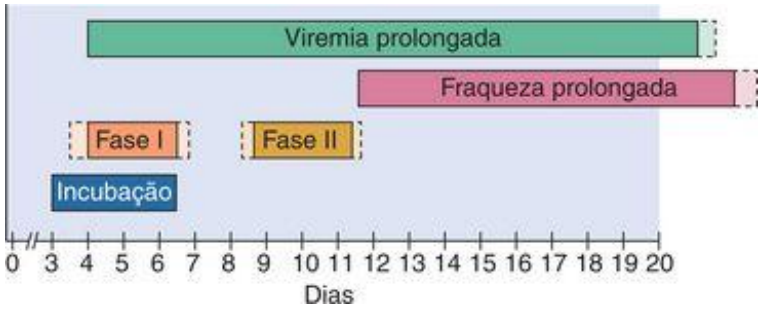


Figura 61-6 Evolução temporal da febre do carrapato de Colorado.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de febre do carrapato do Colorado deve ser estabelecido através da detecção direta dos antígenos virais, isolamento viral ou testes sorológicos. O melhor e mais rápido método é a detecção do antígeno viral nas superfícies dos eritrócitos em uma amostra de sangue através do uso da imunofluorescência. Exames laboratoriais podem estar disponíveis nos departamentos estaduais de saúde pública ou no CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*).

As titulações de anticorpos em espécimes de pacientes com doença aguda e em convalescência devem ser comparadas para que seja obtido um diagnóstico baseado na sorologia. Isso porque infecções subclínicas podem ocorrer e os anticorpos podem persistir por toda a vida. IgM específica está presente em aproximadamente 45 dias após o início da doença e sua detecção também é uma evidência presumida de uma infecção aguda ou muito recente. A imunofluorescência é a melhor técnica, mas fixação de complemento, neutralização e exames imunoenzimáticos também são usados para detectar o anticorpo da febre do carrapato do Colorado.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há um tratamento específico disponível para a febre do carrapato do Colorado. A doença é geralmente autolimitada, indicando que cuidado de suporte é suficiente. A viremia tem longa duração, implicando em que pacientes infectados não devem doar sangue logo após sua recuperação. A prevenção consiste de: (1) evitar áreas infestadas por carrapatos; (2) usar roupas protetoras e repelentes de carrapatos; (3) remover os carrapatos antes que eles mordam. Diferente da doença por ricketsia oriunda do carrapato, na qual é necessária uma alimentação prolongada para que a bactéria seja transmitida, o coltivírus da saliva do carrapato pode entrar rapidamente na corrente sanguínea. Uma vacina formalinizada para a febre do carrapato do Colorado foi desenvolvida e avaliada, mas devido a pouca gravidade da doença, sua distribuição para o público em geral não é necessária.

Estudo de Caso e Questões

Em janeiro, um menino de 6 meses admitido na emergência após 2 dias de diarreia aquosa persistente e vômitos, acompanhado de febrícula e tosse leve. O lactente parecia desidratado e necessitou de hospitalização. O paciente frequentava uma creche.

1. Além do rotavírus, que outros agentes virais devem ser considerados no diagnóstico diferencial desta doença do lactente? Quais agentes seriam considerados se o paciente fosse um adolescente ou adulto?

1. Diarreia infantil também pode ser causada por adenovírus, norovírus e *E. coli* (enteroagregativa). Em adolescentes ou adultos são mais comuns outras cepas de *E. coli*, norovírus, *Vibrio cholerae* e outras bactérias. Rotavírus provoca perda de líquido de forma semelhante à toxina da cólera tornando as fezes muito líquidas.

2. Como o diagnóstico de rotavírus seria confirmado?

2. A detecção laboratorial de rotina para o rotavírus é realizada através da técnica de ELISA. Antes do desenvolvimento do ELISA, a visualização por microscopia imunoeletrônica de um grande número de partículas virais nas fezes e sua caracterização morfológica é que permitiam a detecção da presença viral.

3. Como o vírus foi transmitido? Quanto tempo o paciente permaneceu contagioso?

3. A transmissão viral se dá pela rota fecal-oral e o paciente é contagioso durante a diarreia. O pico máximo de excreção viral pode ocorrer até 2-5 dias após o início da diarreia.

4. Quem está sob risco de doença grave?

4. Crianças em países subdesenvolvidos e crianças desnutridas estão sob maior risco de desfechos graves das infecções por rotavírus. A recuperação requer hidratação e nutrição.

Bibliografia

Bellamy AR, Both GW. Molecular biology of rotaviruses. *Adv Virol*. 1990;38:1-44.
Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. *N Engl J Med*. 1991;325:252-264.
Christensen ML. Human viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev*. 1989;2:51-89.
Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.
Feigin RD, et al. Textbook of Pediatric Infectious Disease, 5th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2004.
Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed, Washington, DC: ASM Press, 2003.
Gershon AA, et al. Krugman's Infectious Diseases of Children, 11th ed., St Louis: Mosby, 2004.
Glass RI. New hope for defeating rotavirus. *Sci Am*. 2006;294(4):47-55.
Joklik WK. The Reoviridae. New York: Plenum, 1983.
Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
Murray PR, et al, editors. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Nibert ML, et al. Mechanisms of viral pathogenesis: Distinct forms of reovirus and their roles during replication in cells and host. *J Clin Invest*. 1991;88:727-734.
Ramig RF. Rotaviruses. In: *In Curr Top Microbiol Immunol, vol 185*. Berlin, New York: Springer-Verlag; 1994.
Ramig Ramig RF, Systemic rotavirus infection. Expert Rev Anti Infect Ther 5:591–612, online: Disponível em. http://www.Medscape.com/viewarticle/562669.
Roy P. Reoviruses: Entry. In: *Assembly and Morphogenesis: In Curr Top Microbiol Immunol, vol 309*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2006.
Sharpe AH, Fields BN. Pathogenesis of viral infections: Basic concepts derived from the reovirus model. *N Engl J Med*. 1985;312:486-497.
Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.
Tyler KL, Oldstone MBA. Reoviruses. In: *In Curr Top Microbiol Immunol, vol 233*. Berlin, New York: Springer-Verlag; 1998.

Sites

CDC information on rotaviruses (on-line) CDC information on rotaviruses (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/rotavirus/.
Nguyen DD, Awad SH, King BR, Pediatrics, Rotavirus (2006, on-line): Disponível em http://www.emedicine.com/emerg/topic401.htm Rasouli G, King JW: Reoviruses (2005, online):

62 Togavírus e Flavivírus

Os membros das famílias *Togaviridae* e *Flaviviridae* são vírus de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia única, positiva, envelopados (Quadro 62-1). *Alphavirus e Flavivirus* serão discutidos em conjunto, devido às similaridades entre as doenças que eles causam, e na sua epidemiologia. A maioria é transmitida por artrópodes e, portanto, eles são **arbovírus (vírus *arthropod – borne*)**. Diferem em tamanho, morfologia, sequência de gene e replicação.

Quadro 62-1 Propriedades Características dos Togavírus e Flavivírus

Os vírus têm RNA de cadeia única, sentido positivo e são envelopados.

A replicação dos togavírus inclui síntese de proteínas precoces (não-estrutural) e tardias (estrutural).

Os togavírus replicam no citoplasma e brotam nas membranas plasmáticas.

Os flavivírus replicam no citoplasma e brotam nas membranas internas.

Os togavírus podem ser classificados nos seguintes gêneros principais (Tab. 62-1): *Alphavirus, Rubivirus* e *Arterivirus*. Nenhum arterivírus conhecido pode causar doença em humanos, por isso esta cepa não será discutida posteriormente. O vírus **Rubella** é o único membro do grupo dos *Rubivirus*; ele será discutido separadamente em virtude desta sua manifestação (**sarampo alemão ou rubéola**) e sua maneira de transmissão diferir da propagação dos alfavírus. Os *Flaviviridae* incluem os flavivírus, pestivírus e hepacivírus (vírus das hepatites C e G). As hepatites C e G serão discutidas no Capítulo 65.

Tabela 62-1 Togavírus e Flavivírus

Grupo de Vírus	Patógenos Humanos
Togavírus	
Alphavirus	Arbovírus
Rubivirus	Vírus da rubéola
Arterivirus	Nenhum
Flavivírus	Arboviroses
Hepaciviridae	Vírus da hepatite C
Pestivirus	Nenhum

Alfavírus e Flavivírus

Os alfavírus e flavivírus são classificados como arbovírus porque são geralmente disseminados por vetores artrópodes. Estes vírus têm uma **ampla variação de hospedeiros**, incluindo vertebrados (p. ex., mamíferos, pássaros, anfíbios, répteis) e invertebrados (p. ex., mosquitos, carrapatos). As doenças que se disseminam através dos animais ou através de um reservatório animal são chamadas **zoonoses**. Exemplos de alfavírus e flavivírus patogênicos estão listados na Tabela 62-2.

Tabela 62-2 Arbovírus

Tabela 62-2. Arbovírus

Doença	Vetor	Hospedeiro	Distribuição	Doença
Alfavírus				
Síndbis*	*Aedes* e outros mosquitos	Aves	África, Austrália, Índia	Subclínica
Floresta Semliki*	*Aedes* e outros mosquitos	Aves	Leste e Oeste da África	Subclínica
Encefalite equina venezuelana	*Aedes, Culex*	Roedores, cavalos	América do Norte, do Sul e Central	Sistêmica leve; encefalite grave
Encefalite equina do leste	*Aedes, Culiseta*	Aves	América do Norte, do Sul e Caribe	Sistêmica leve; encefalite
Encefalite equina do oeste	*Culex, Culiseta*	Aves	América do Norte e do Sul	Sistêmica leve; encefalite
Chikungunya	*Aedes*	Humanos, macacos	África, Ásia	Febre, artralgia, artrite
Flavivírus				
Dengue*	*Aedes*	Humanos, macacos	Mundial, especialmente nos trópicos	Sistêmica leve: febre quebra-ossos, febre hemorrágica da dengue e síndrome de choque da dengue
Febre amarela*	*Aedes*	Humanos, macacos	África, América do Sul	Hepatite, febre hemorrágica
Encefalite japonesa	*Culex*	Porcos, aves	Ásia	Encefalite
Encefalite do Oeste do Nilo	*Culex*	Aves	África, Europa, Ásia Central, América do Norte	Febre, encefalite, hepatite
Encefalite de St. Louis	*Culex*	Aves	América do Norte	Encefalite
Encefalite russa de primavera-verão	Carrapatos *Ixodes e Dermacentor*	Aves	Rússia	Encefalite
Encefalite de Powassan	Carrapatos *Ixodes*	Mamíferos pequenos	América do Norte	Encefalite

**Vírus protótipos.*

Estrutura e Replicação dos Alfavírus

Os alfavírus têm um **capsídeo icosaédrico** e um genoma RNA de fita simples e sentido positivo parecido com o RNA mensageiro (mRNA). Eles são levemente maiores que os picornavírus (45 a 75nm de diâmetro) e são envoltos por um **envelope** (do latim ***toga***, "manto"). O genoma do togavírus codifica **proteínas precoces** e **tardias**.

Os alfavírus têm duas ou três glicoproteínas que se associam formando uma única espícula. A terminação COOH das glicoproteínas se ancora ao capsídeo, forçando o envelope a se compactar fortemente ("embrulho apertado") e assumir a forma do capsídeo (Fig. 62-1). As proteínas do capsídeo de todos os alfavírus são similares em estrutura e apresentam reatividade cruzada. As glicoproteínas do envelope expressam determinantes antigênicos singulares que distinguem os diferentes vírus e também expressam determinantes antigênicos que são compartilhados por um grupo, ou um "complexo" de vírus.

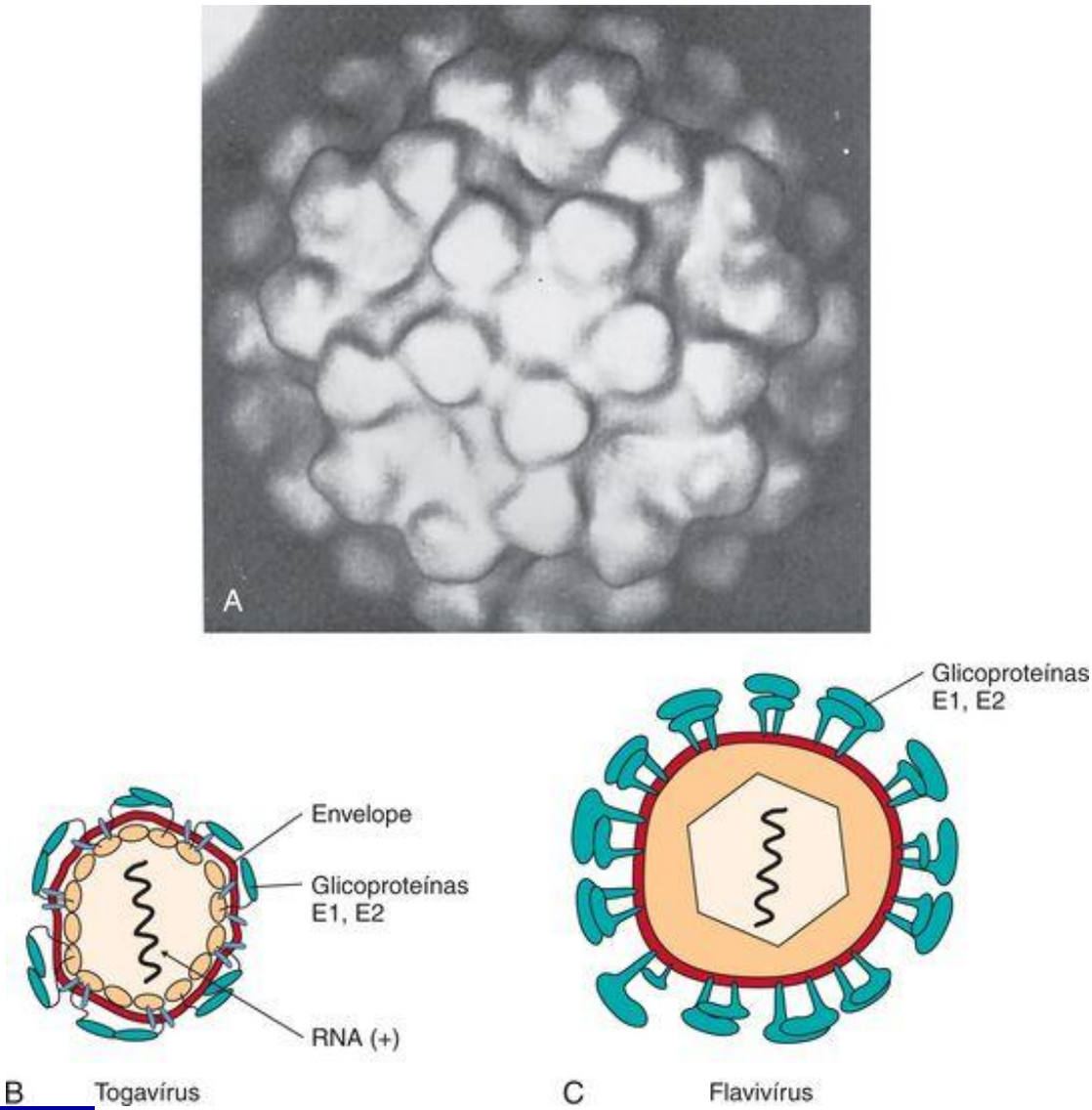


Figura 62-1 Morfologia do alfavírus. **A**, Morfologia do vírion do alfavírus obtida por microscopia crioeletrônica e processamento de imagens para mostrar que o envelope é mantido apertado e se conforma ao formato icosaédrico e simetria do capsídeo. **B**, Secção do a-togavírus. **C**, Secção do flavivírus. O envelope de proteína circunda a membrana do envelope, que engloba um nucleocapsídeo icosaédrico.

(A de Fuller SD: Cell 48:923-934, 1987.)

Os alfavírus se fixam a receptores específicos expressos em muitos tipos diferentes de

células de muitas espécies diferentes (Fig. 62-2). A variação de hospedeiros para estes vírus inclui vertebrados, como os humanos, macacos, cavalos, aves, répteis, anfíbios e invertebrados, como os mosquitos e carrapatos. Entretanto, os vírus individuais têm tropismo por diferentes tecidos, o que de certa forma contribui para as diferentes apresentações das doenças.

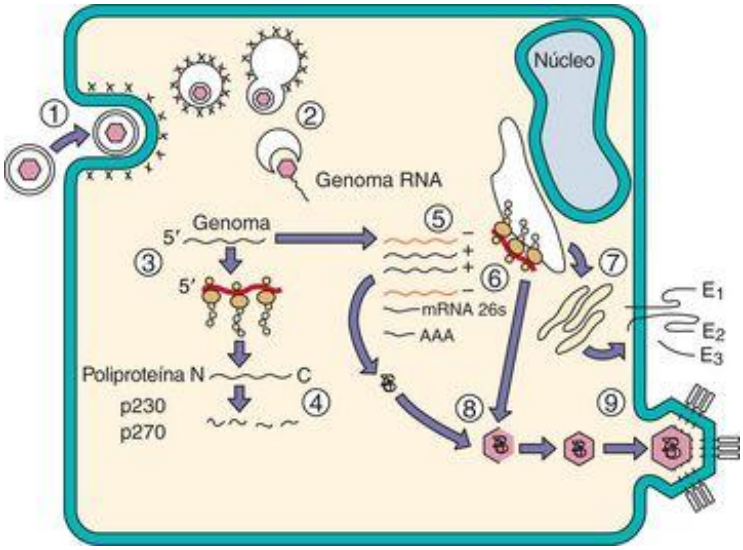


Figura 62-2 Replicação de um togavírus. Vírus da floresta de Semliki. *1*, Vírus da floresta de Semliki se liga a receptores celulares e é internalizado em uma vesícula coberta. *2*, Na acidificação do endossoma, o envelope viral se funde com a membrana do endossoma para liberar o nucleocapsídeo dentro do citoplasma. *3*, Ribossomos se ligam ao genoma RNA de sentido positivo e as proteínas precoces p230 ou p270 (comprimento inteiro) são feitas. *4*, As poliproteínas são clivadas para produzir proteínas não estruturais 1 a 4 (NSP1 a NSP4), que incluem uma polimerase para transcrever o genoma em um molde RNA sentido negativo. *5*, O molde é usado para produzir um genoma de mRNA sentido positivo 42S de comprimento inteiro e depois mRNA 26S para as proteínas estruturais. *6*, A proteína C (capsídeo) é traduzida primeiro, expondo sítio de clivagem proteolítica o que libera um peptídio sinalizador para associação com o retículo endoplasmático. *7*, As glicoproteínas E são então sintetizadas, glicosiladas, processadas no aparelho de Golgi e transferidas para a membrana plasmática. *8*, As proteínas do capsídeo se agrupam no RNA genômico 42S e então se associam a regiões das membranas citoplasmática e plasmática contendo espículas de proteínas E1, E2 e E3. *9*, Brotamento a partir da membrana plasmática libera o vírus.

O vírus entra na célula por meio de endocitose mediada por receptor (Fig. 62-2). O envelope viral então se funde com a membrana do endossoma por acidificação da vesícula, para direcionar o capsídeo e genoma para dentro do citoplasma.

Uma vez liberado dentro do citoplasma, o genoma do alfavírus se liga aos ribossomas como o mRNA. O genoma do alfavírus é transcrito em fases precoce e tardia. Os dois terços iniciais do RNA do alfavírus são transcritos em uma poliproteína, que é subsequentemente clivada em quatro proteínas precoces não estruturais (NSPs 1 até 4). A protease é parte desta poliproteína e precede o sítio de clivagem. Cada uma destas proteínas é uma porção da RNA-polimerase RNA-dependente. É produzido um RNA negativo sensível 42S, de comprimento inteiro. Um RNA completo, de 42S e sentido negativo, é sintetizado como molde para replicação do genoma, possibilitando a produção de mais cópias deste RNA 42S. Em adição, um mRNA tardio 26S, correspondendo a um terço do genoma, é transcrito a partir do molde. O RNA 26S codifica as proteínas do capsídeo (C) e do envelope (E1 até E3). No final do ciclo de replicação, o mRNA viral pode representar 90% do mRNA na célula infectada. A abundância de mRNAs tardios permite a produção de uma grande quantidade de proteínas estruturais necessárias para o empacotamento do vírus.

As proteínas estruturais são produzidas por clivagem pela protease das poliproteínas tardias que foram produzidas a partir do mRNA 26S. A proteína C é transcrita primeiro e é

clivada da poliproteína (Fig. 62-2). Uma sequência de sinais é feita para associar os polipeptídios nascentes ao retículo endoplasmático. A partir daí, glicoproteínas do envelope são transcritas, glicosiladas e clivadas da porção remanescente da poliproteína para produzir as espículas glicoproteicas E1, E2 e E3. A E3 é liberada da maioria das espículas de glicoproteínas dos alfavírus. As glicoproteínas são processadas pela maquinaria celular normal no retículo endoplasmático e aparelho de Golgi e também são acetiladas e aciladas com ácidos graxos de cadeia longa (Fig. 62-2). As glicoproteínas dos alfavírus são então eficientemente transferidas para a membrana plasmática.

As proteínas C se associam com o RNA genômico logo após sua síntese e formam um capsídeo icosaédrico. Completado esse passo, o capsídeo se associa com porções da membrana, expressando as glicoproteínas virais. O capsídeo do alfavírus tem sítios de ligação para a terminação C das espículas de glicoproteína, que fixa firmemente o envelope em torno de si, como um pacote compactado (Figs. 62-1 e 62-2). Os alfavírus são liberados por brotamento na membrana plasmática.

É interessante saber que o vírus da encefalite equina do oeste (WEEV – *western equine encephalitis virus*) foi criado por uma recombinação de 2 alfavírus, o vírus da encefalite equina do leste (EEEV – *eastern equine encephalitis virus*) e o vírus Sindbis. O início do genoma do WEEV é quase idêntico ao do EEEV, com glicoproteínas e genes de virulência similares, enquanto o final do genoma parece o do Sindbis.

Estrutura e Replicação dos Flavivírus

Os flavivírus também têm um genoma RNA de cadeia positiva, um capsídeo icosaédrico e um envelope, mas são levemente menores que os alfavírus (40 a 65nm de diâmetro). A glicoproteína viral E se dobra por cima, pareando com outra glicoproteína E, e cobre a superfície do vírion para formar uma camada externa de proteína (Fig. 62-1). A maioria dos flavivírus está sorologicamente relacionada e anticorpos contra um vírus podem neutralizar outro vírus.

A fixação e penetração dos flavivírus podem ocorrer da mesma forma descrita para os alfavírus, mas os flavivírus também podem se ligar aos receptores Fc de macrófagos, monócitos e outras células quando o vírus é coberto com anticorpos. O anticorpo, na verdade, aumenta a infectividade destes vírus, fornecendo novos receptores para os vírus e promovendo sua internalização nessas células-alvo.

As principais diferenças entre os alfavírus e os flavivírus estão na organização de seus genomas e nos seus mecanismos de síntese de proteínas. O genoma inteiro do flavivírus é transcrito em uma única poliproteína de forma similar ao processo para os picornavírus e para os alfavírus (Fig. 62-3). Como resultado, não há distinção temporal na transcrição das diferentes proteínas virais. A poliproteína produzida na febre amarela contém quatro proteínas não estruturais, incluindo uma protease e uma RNA-polimerase RNA-dependente, mais as proteínas estruturais do capsídeo e envelope.

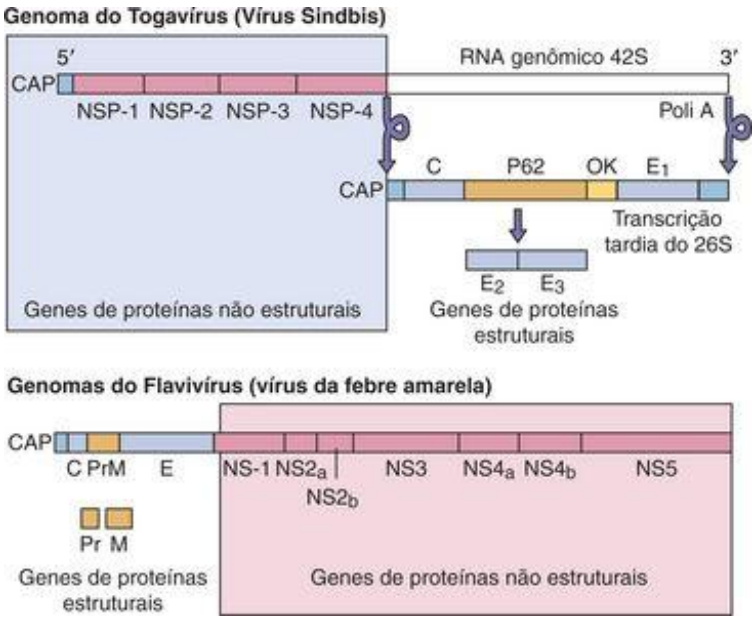


Figura 62-3 Comparação entre os genomas dos togavírus (alfavírus) e flavivírus. *Alfavírus:* As atividades enzimáticas são transcritas a partir da terminação 5 do genoma que entrou na célula, promovendo uma transcrição precoce rápida. As proteínas estruturais são transcritas depois a partir de um mRNA menor transcrito de um molde genômico. *Flavivírus:* Os genes para as proteínas estruturais dos flavivírus estão na terminação 5 do genoma mRNA e é feita apenas uma espécie de poliproteína, que representa todo o genoma. PoliA, poliadenilato.

(Redesenhado de Hahn CS, et al: Annu Rev Microbiol 44:649-688, Copyright 1990 by Annual Reviews, www.AnnualReviews.org.)

Diferente do genoma do alfavírus, os genes estruturais estão na terminação 5′ do genoma dos flavivírus. Como resultado, as porções da poliproteína contendo as proteínas estruturais (não as catalíticas) são sintetizadas primeiro e com a maior eficiência possível. Este arranjo pode permitir a produção de mais proteínas estruturais, mas diminui a eficiência da síntese de proteínas não estruturais e o início da replicação viral. Esta característica dos flavivírus pode contribuir para o atraso na detecção de sua replicação.

Outra distinção dos flavivírus é que adquirem seu envelope por brotamento em vesículas intracelulares e não na superfície celular. O vírus é então liberado por exocitose ou por mecanismo de lise celular. Esta via é menos eficiente e o vírus pode permanecer associado à célula.

Patogênese e Imunidade

Como os arbovírus são adquiridos pela mordida de um artrópode como um mosquito, é importante conhecer o curso da infecção tanto no hospedeiro vertebrado quanto no vetor invertebrado para a compreensão das doenças. Estes vírus podem causar infecções líticas ou persistentes tanto nos hospedeiros vertebrados quanto nos invertebrados (Quadro 62-2). Infecções de invertebrados são usualmente persistentes, com produção contínua de vírus.

Quadro 62-2 Mecanismos Patológicos dos Togavírus e Flavivírus

Os vírus são citolíticos, exceto o da rubéola.

Os vírus estabelecem infecção sistêmica e viremia.

Os vírus são bons indutores de interferon, que pode contribuir para os sintomas tipo gripe da infecção.

Os vírus, exceto os da rubéola e hepatite C, são arbovírus.

Os flavivírus podem infectar células ou a linhagem monócito-macrófago. Anticorpo não neutralizante pode aumentar a infecção por flavivírus via receptores Fc nos macrófagos.

Quadro 62-2. Mecanismos Patológicos dos Togavírus e Flavivírus

Os vírus são citolíticos, exceto o da rubéola.
Os vírus estabelecem infecção sistêmica e viremia.
Os vírus são bons indutores de interferon, que pode contribuir para os sintomas tipo gripe da infecção.
Os vírus, exceto os da rubéola e hepatite C, são arbovírus.
Os flavivírus podem infectar células ou a linhagem monócito-macrófago. Anticorpo não neutralizante pode aumentar a infecção por flavivírus via receptores Fc nos macrófagos.

	Síndrome do Tipo Gripe	Encefalite	Hepatite	Hemorragia	Choque
Dengue	+		+	+	+
Febre Amarela	+		+	+	+
Encefalite de St. Louis	+	+			
Encefalite do Oeste do Nilo	+	+			
Encefalite Venezuelana	+	+			
Encefalite Equina do Oeste	+	+			
Encefalite Equina do Leste	+	+			
Encefalite Japonesa	+	+			

A morte de uma célula infectada é o resultado de uma combinação de injúrias induzidas pelo vírus. Uma grande quantidade de RNA viral produzida na replicação e transcrição do genoma viral bloqueia a ligação do mRNA celular com os ribossomos. A permeabilidade aumentada da membrana da célula-alvo e alterações nas concentrações de íons podem alterar as atividades das enzimas e favorecer a transcrição do mRNA viral. O deslocamento do mRNA celular da maquinaria da síntese de proteínas evita a reconstrução e manutenção da célula e é a causa principal de morte da célula infectada por vírus. Alguns alfavírus, como o da encefalite equina do oeste (WEEV), fazem uma nucleotídio trifosfatase que degrada desoxirribonucleotídios, causando até mesmo depleção no reservatório de substrato para a produção de ácido desoxirribonucleico (DNA).

Fêmeas de mosquitos adquirem os alfavírus e flavivírus por se alimentarem de sangue de um **hospedeiro vertebrado virêmico**. *Uma viremia suficiente deve ser mantida no hospedeiro vertebrado para permitir que se obtenha o vírus pelo mosquito*. O vírus, então, infecta as células epiteliais do intestino médio do mosquito, se dissemina através da lâmina basal do intestino médio para a circulação e infecta as glândulas salivares. O vírus determina uma infecção persistente e se replica em altas titulações nestas células. As glândulas salivares, então, podem liberar o vírus pela saliva. Porém, nem todas as espécies de artrópodes suportam este tipo de infecção. Por exemplo, o vetor normal para o vírus WEEV é o mosquito *Culex tarsalis*, mas certas cepas do vírus são limitadas ao intestino médio dos mosquitos, não conseguindo infectar suas glândulas salivares e, portanto, não podem ser transmitidas para humanos.

Ao picar um hospedeiro, a fêmea do mosquito regurgita saliva contendo vírus dentro da corrente sanguínea do hospedeiro. O vírus, então, circula livremente no plasma do hospedeiro e entra em contato com células-alvo suscetíveis, como as células endoteliais dos capilares, monócitos e macrófagos.

A natureza da doença por alfavírus e flavivírus é determinada primariamente (1) pelo tropismo tecidual específico do tipo viral; (2) a concentração de vírus infectantes; (3) respostas individuais do hospedeiro à infecção. Estes vírus estão associados à **doença sistêmica leve, encefalite, doença artrogênica** ou **doença hemorrágica**.

A viremia inicial produz sintomas sistêmicos, como febre, calafrios, cefaleia, lombalgias e outros sintomas semelhantes aos da gripe, dentro de 3 a 7 dias após a infecção. Alguns destes sintomas podem ser atribuídos aos efeitos do interferon produzido em resposta à viremia e infecção das células do hospedeiro. A viremia é considerada uma doença sistêmica leve, e a maioria das infecções virais não progride além deste ponto. Uma viremia secundária pode produzir vírus suficiente para infectar órgãos-alvo, como cérebro, fígado, pele e vasos, dependendo do tropismo tecidual do vírus (Fig. 62-4). O vírus ganha acesso ao cérebro através da infecção das células endoteliais que cobrem os pequenos vasos do cérebro ou do plexo coroide.

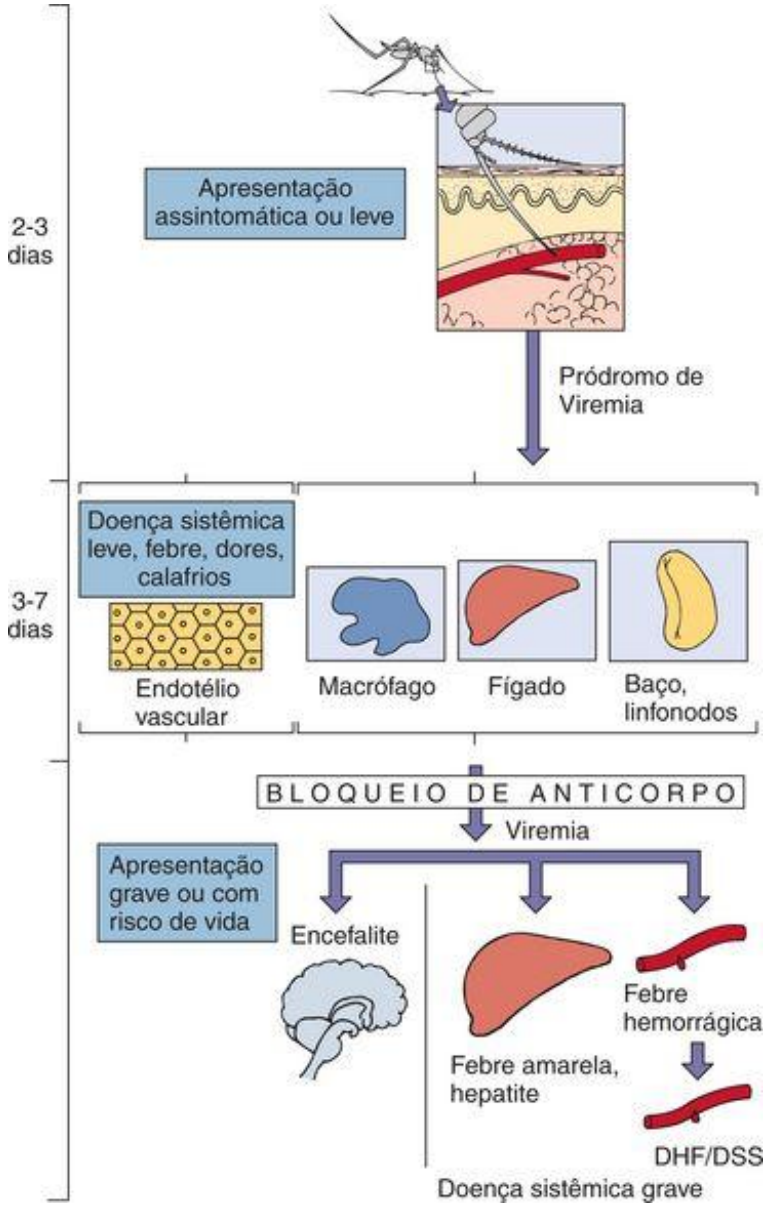


Figura 62-4 Síndromes de doenças dos alfavírus e flavivírus. Viremia primária pode estar associada à doença sistêmica leve. A maioria das infecções se limita a isso. Se for produzido vírus suficiente durante a viremia secundária para escapar da proteção imunológica e alcançar tecidos-alvos críticos, pode resultar em doença sistêmica grave ou encefalite. Para o vírus da dengue, uma reinfecção com outra cepa pode resultar em febre hemorrágica da dengue (DHF) grave, que pode causar síndrome de choque da dengue (DSS) devido à perda de líquidos através dos vasos.

As células-alvo primárias dos flavivírus são da linhagem monócito-macrófago. Embora sejam encontradas em todo o corpo e possam ter muitas características diferentes, elas expressam receptores Fc para anticorpos e liberam citocinas quando ameaçadas. A infecção por flavivírus é aumentada em 200 a 1.000 vezes pelo anticorpo antiviral não neutralizante que promove a ligação do vírus aos receptores Fc e sua entrada na célula.

Resposta Imune

Tanto a imunidade humoral quanto a celular são induzidas e são importantes para o controle da infecção primária e prevenção de futuras infecções por alfavírus e flavivírus.

A replicação dos alfavírus e flavivírus produz um RNA replicativo intermediário de fita dupla que é um bom indutor de interferon-α e interferon-β. O interferon é liberado na corrente sanguínea e limita a replicação do vírus; ele também estimula a resposta imune, mas fazendo isso, causa o surgimento rápido de doença sistêmica leve.

Imunoglobulina M (IgM) circulante é produzida dentro de 6 dias após a infecção, seguido pela produção de IgG. O anticorpo bloqueia a disseminação virêmica do vírus e a subsequente infecção de outros tecidos. Pelo reconhecimento de antígenos dos tipos comuns expressos em todos os vírus na família, a imunidade a um flavivírus pode fornecer alguma proteção contra a infecção por outros flavivírus. A imunidade mediada por células também é importante no controle da infecção primária.

A imunidade a esses vírus é delicada. Um anticorpo não neutralizante pode aumentar a captação de flavivírus por macrófagos e outras células que expressam receptores Fc. Esse anticorpo pode ser gerado para uma cadeia relativa de vírus que o epítope neutralizante não é expresso ou é diferente. A inflamação resultante da resposta imunemediada por células pode destruir tecidos e contribuir significativamente para a patogênese da encefalite. Reações de hipersensibilidade, como a hipersensibilidade tardia, a formação de complexos imunes com vírions e antígenos virais, e a ativação do complemento também podem ocorrer. Podem enfraquecer os vasos e causar sua ruptura, levando a sintomas hemorrágicos. Respostas imunes a uma cadeia relativa do vírus da dengue que não evitam infecção podem promover imunopatogênese, levando à febre hemorrágica da dengue ou síndrome de choque da dengue.

Epidemiologia

Alfavírus e a maioria dos flavivírus são protótipos de arbovírus (Quadro 62-3). Para ser um arbovírus, o vírus precisa ser capaz de (1) infectar vertebrados e invertebrados; (2) iniciar uma viremia em um hospedeiro vertebrado por um tempo suficiente que permita a aquisição do vírus pelo vetor invertebrado; (3) iniciar uma infecção produtiva persistente das glândulas salivares dos invertebrados para fornecer vírus para a infecção de outros animais hospedeiros. **Humanos usualmente são hospedeiros "finais"**, pois não conseguem disseminar o vírus de volta para o vetor porque eles não mantêm uma viremia persistente. *Se o vírus não está no sangue, o mosquito não consegue adquiri-lo*. Um ciclo completo de infecção ocorre quando o vírus é transmitido pelo vetor artrópode e amplificado em um hospedeiro sem imunidade prévia (**reservatório**), que permite a reinfecção de outros artrópodes (Fig. 62-5). Os vetores, hospedeiros naturais e distribuição geográfica dos alfavírus e flavivírus representativos são listados na Tabela 62-2.

Quadro 62-3 Epidemiologia da Infecção por Togavírus e Flavivírus

Doença/Fatores Virais

O vírus envelopado deve permanecer úmidos e pode sofrer inativação por secagem, sabão e detergentes.

O vírus pode infectar mamíferos, aves, répteis e insetos.

É assintomático ou inespecífico (febre tipo gripe e calafrios), encefalite, febre hemorrágica ou artrite.

Transmissão

Artrópodes específicos característicos de cada vírus (zoonoses: arbovírus)

Quem Está sob Risco?

Pessoas que entram no nicho ecológico dos arbovírus de artrópodes.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Regiões endêmicas para cada arbovírus são determinadas pelo hábitat do mosquito ou outro vetor.

O mosquito *Aedes*, que transmite a dengue e a febre amarela, é encontrado em áreas urbanas e em poças de água.

O mosquito *Culex*, que transmite os vírus da encefalite de St. Louis e da encefalite do oeste do Nilo, é encontrado na floresta e em áreas urbanas.

A doença é mais comum no verão.

Modos de Controle

Locais de procriação e mosquitos devem ser eliminados.

Vacinas de vírus vivos atenuados estão disponíveis para o vírus da febre amarela e o vírus da encefalite japonesa.

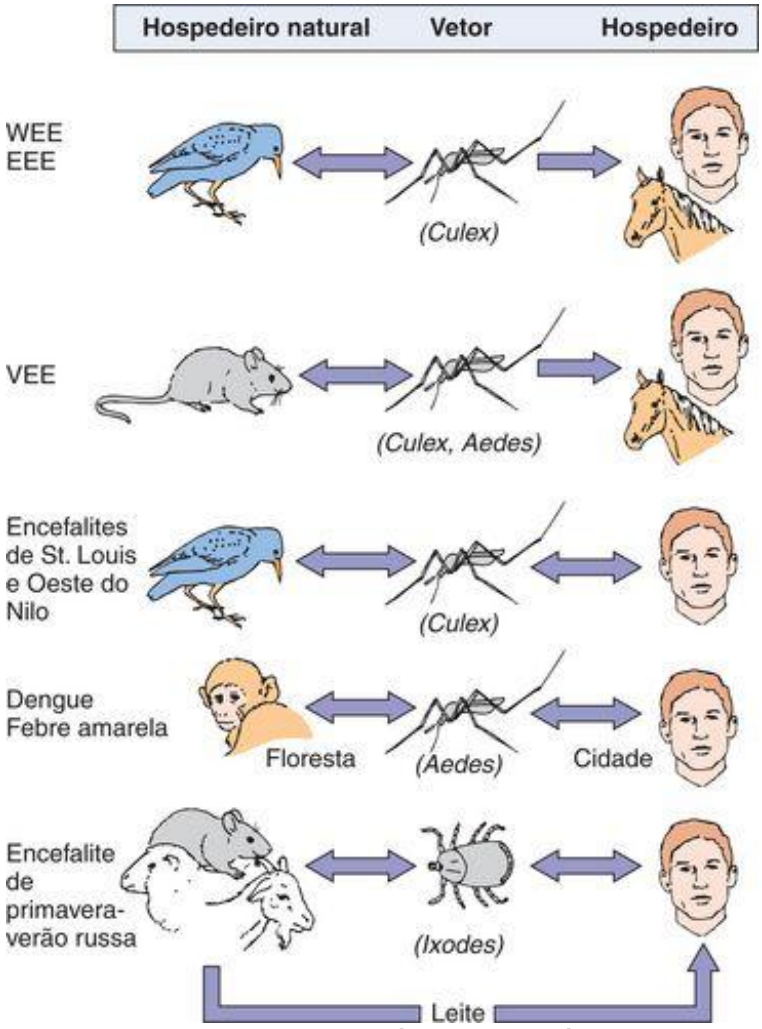


Figura 62-5 Padrões de transmissão de alfavírus e flavivírus. Aves e pequenos mamíferos são os hospedeiros que mantêm e amplificam um arbovírus, que é disseminado pelo inseto vetor quando ele se alimenta de sangue. Uma seta dupla indica um ciclo de replicação nos hospedeiros (incluindo o homem) e no vetor, Infecções "interrompidas", sem transmissão do vírus de volta para o vetor, estão indicadas pela seta simples. EEE, encefalite equina do leste; VEE, encefalite equina da Venezuela; WEE, encefalite equina do oeste.

Estes vírus estão usualmente relacionados a um vetor artrópode específico, seu hospedeiro vertebrado e seu nicho ecológico. O vetor mais comum é o mosquito, mas carrapatos e mosquitos pólvora disseminam alguns arbovírus. Mesmo em uma região tropical invadida por mosquitos, a disseminação destes vírus ainda é restrita a um gênero específico de mosquitos. Nem todos os artrópodes podem agir como bons vetores para cada vírus. Por exemplo, o *Culex quinquefasciatus* é resistente à infecção pelo vírus WEEV (alfavírus), mas é um excelente vetor para o vírus da encefalite de St. Louis (flavivírus).

Aves e mamíferos pequenos são os hospedeiros reservatórios usuais para os alfavírus e

flavivírus, mas répteis e anfíbios também podem agir como hospedeiros. Uma grande população de animais virêmicos pode desenvolver o ciclo de infecção do vírus. Por exemplo, o vírus da encefalite do oeste do Nilo (WNV – *West Nile encephalitis virus*) foi primeiro observado em 1999 como um surto em New York pelas mortes incomuns de pássaros cativos no zoológico do Bronx. Uma análise por transcriptase reversa-reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) identificou o vírus como WNV. O vírus é transmitido pelo mosquito *Culex pipiens* em corvos, gralha-azul e outros pássaros selvagens, que são seus reservatórios. O vírus se dissemina por todos os Estados Unidos e em 2006 o vírus e a doença humana foram observados em quase todos os estados. WNV estabelece uma viremia em humanos suficiente para ser um fator de risco para transmissão através de transfusões de sangue. A documentação de dois destes casos levou ao rastreamento de WNV em doadores de sangue e na rejeição de doadores que tinham febre e cefaleia na semana da doação de sangue.

Doenças por arbovírus ocorrem durante os meses do verão e nas estações chuvosas, quando os artrópodes procriam e os arbovírus fazem o ciclo entre um hospedeiro reservatório (aves), um artrópode (p. ex., mosquitos) e hospedeiros humanos. Este ciclo mantém e aumenta a quantidade de vírus no ambiente. No inverno, o vetor não está presente para manter o vírus. Ele pode (1) persistir nas larvas do artrópode ou ovos de répteis ou anfíbios que permanecem no local; ou (2) migrar com as aves e retornar durante o verão.

Quando humanos viajam para nichos ecológicos do mosquito vetor, correm risco de serem infectados pelo vírus. Poças de água parada, canais de drenagem e depósitos de lixo em cidades também podem promover terrenos de procriação para mosquitos, como o *Aedes aegypti*, o vetor da febre amarela, dengue e infecção chikungunya. Um aumento na população destes mosquitos põe a população humana em risco para a infecção. Departamentos de saúde em muitas áreas monitoram para arbovírus aves e mosquitos pegos em armadilhas e iniciam medidas de controle, como borrifar inseticida, quando necessário.

Surtos urbanos de infecções por arbovírus ocorrem quando os reservatórios para os vírus são humanos ou animais urbanos. Humanos podem ser hospedeiros reservatórios para vírus da febre amarela, dengue e infecção chikungunya (Fig. 62-5). Estes vírus são mantidos pelos mosquitos *Aedes* em um **ciclo silvícola** ou **selvagem**, no qual macacos são o hospedeiro natural, e também em um **ciclo urbano**, no qual os humanos são hospedeiros. O *A. aegypti*, um vetor para esses vírus, é um mosquito domiciliar. Procria em poças de água, esgotos a céu aberto e outros acúmulos de água nas cidades. A ocorrência de numerosas infecções que passam despercebidas em populações de alta densidade demográfica fornecendo hospedeiros humanos virêmicos suficientes para continuar a disseminação destes vírus. Os vírus da encefalite de St. Louis e o vírus da encefalite do oeste do Nilo são mantidos no ambiente urbano porque os seus vetores, mosquitos *Culex*, procriam em água parada, incluindo pântanos e esgotos, e seu grupo de reservatórios incluem aves comuns em cidades (p. ex., corvos).

Síndromes Clínicas

Mais humanos são infectados por alfavírus e flavivírus do que os que mostram sintomas característicos ou significativos. A incidência de doença por arbovírus é esporádica. As infecções por alfavírus são geralmente assintomáticas ou causam doença de baixo grau, como **sintomas de gripe** (calafrios, febre, exantema e dores), que se correlacionam com a infecção sistêmica durante a viremia inicial. As infecções pelo vírus da encefalite equina do leste (EEEV), WEEV e vírus da encefalite equina da Venezuela (VEEV) podem progredir para **encefalite** em humanos. Os vírus da encefalite equina são geralmente mais um problema para animais domésticos do que para humanos. Um humano infectado pode ter febre, cefaleia e diminuição da consciência 3 a 10 dias após a infecção. Diferente da encefalite pelo vírus herpes simples, a doença geralmente e eleminada sem sequelas, mas existe a possibilidade de paralisia, incapacidade mental, convulsões e morte. O nome ***chikunguya*** (do idioma suaíli,* "aquele que enverga") se refere à artrite deformante associada à doença grave causada pela infecção por estes vírus. Embora predominante na América do Sul e oeste da África, ela pode se disseminar pelos Estados Unidos devido ao retorno do mosquito *A. aegypti*, seu vetor.

A maioria das infecções por flavivírus é relativamente benigna, mas podem ocorrer **meningite asséptica** e **encefalite** ou **doença hemorrágica grave**. Os vírus que causam encefalite incluem os vírus St. Louis, **Oeste do Nilo**, Japonês, do Vale Murray e da primavera-verão da Rússia. Sintomas e surtos são similares aos das encefalites por togavírus. Centenas de milhares de casos de doença viral de encefalite de St. Louis são observados nos Estados Unidos, anualmente. Aproximadamente 20% dos indivíduos infectados com WNV irão desenvolver febre do Oeste do Nilo, caracterizada por febre, cefaleia, cansaço e dores no corpo, ocasionalmente com exantema cutâneo no tronco do corpo e linfonodos aumentados geralmente durando apenas uns poucos dias (Caso Clínico 62-1). Encefalite, meningite ou meningoencefalite ocorrem em aproximadamente 1% dos indivíduos infectados com WNV.

Caso Clínico 62-1 Vírus da Encefalite do Oeste do Nilo

Hirsch e Warner (N Engl J Med 348:2239-2247, 2003) descreveram o caso de uma mulher de Massachusetts de 38 anos, que apresentava cefaleia progressiva, com fotofobia e febre. Começou em agosto, estava passeando e 10 dias antes (−10) viajou para St. Louis e lá ficou por 8 dias. Enquanto lá esteve caminhou na floresta e visitou um zoológico. Um dia antes do início dos sintomas (−1), viajou pela orla Atlântica e percebeu que tinha sido mordida por mosquitos e removeu carrapatos de seu cachorro. Quatro dias depois (−4), foi admitida com febre (40°C), calafrios, taquicardia, confusão mental, dificuldade de concentração e letargia. Embora aparentasse estar alerta, orientada e apenas levemente doente, seu pescoço estava rígido e o sinal de Kernig estava presente. Os sinais de meningite levaram a um exame do LCR, que continha IgM para o vírus do Oeste do Nilo (WNV) e baixas titulações para o vírus da encefalite de St. Louis. Os anticorpos da paciente neutralizaram o WNV, mas não a infecção de culturas de células pelo vírus da encefalite de St. Louis, sugerindo que a atividade contra o segundo vírus era devido à reação cruzada entre flavivírus. Testes para outros organismos foram negativos. Foi tratada empiricamente para meningite e para HSV (aciclovir). O tratamento antibacteriano e anti-HSV para meningite e encefalite foi necessário até que os resultados laboratoriais estivessem disponíveis. No 5° dia, ela se tornou mais letárgica e tinha dificuldade para responder às perguntas. Uma RM indicou alterações súbitas no cérebro. No 6° dia, não conseguia distinguir a mão direita da esquerda, mas a cefaleia diminuiu e ela conseguia responder aos comandos. No 7° dia, teve um tremor no braço direito, mas o *status* mental estava melhorando, e no 8° dia, ela estava alerta e lúcida. No 9° dia, uma RM cerebral foi normal, no 10° dia se recuperou e no 11° dia, teve alta do hospital. A estação do ano, exposição a insetos e viagem desta mulher eram sugestivos de várias diferentes doenças de encefalites arbovirais, além da encefalite do Oeste do Nilo. Os vírus, no diagnóstico diferencial, incluíram: encefalite equina do leste, encefalite de St. Louis, vírus de Powassan (flavivírus oriundo do carrapato), HSV e vírus do Oeste do Nilo. Diferente da encefalite pelo HSV, a meningoencefalite pelos flavivírus se resolve, com sequelas limitadas.

Os vírus hemorrágicos são os vírus da dengue e febre amarela. O **vírus da dengue** é o principal problema em todo o mundo, com até 50 milhões de casos de febre da dengue e 300.000 casos de **febre hemorrágica da dengue (DHF – *dengue hemorrhagic fever*)** ocorrendo por ano. Embora não endêmico nos Estados Unidos, o vírus e seu vetor estão presentes no centro e nordeste da América do Sul. A incidência de DHF mais grave quadruplicou desde 1985. A febre da dengue também é conhecida como **febre quebra-ossos**; os sintomas e sinais consistem de febre alta, cefaleia, exantema e dor lombar e nos ossos que duram de 6 a 7 dias. Quando confrontada com outra das 4 cepas relacionadas, a dengue também pode causar DHF e **síndrome de choque da dengue (DSS –**; ***dengue shock syndrome*)**. Anticorpos não neutralizantes promovem a captação do vírus pelos macrófagos, fazendo com que as células T de memória se tornem ativadas, liberem citocinas inflamatórias e iniciem reações de hipersensibilidade. Estas reações e o vírus resultam em enfraquecimento e ruptura dos vasos, sangramento interno e perda de plasma, levando aos sintomas de choque e sangramento interno. Em 1981 em Cuba, o vírus dengue 2 infectou uma população previamente exposta ao vírus dengue 1 entre 1977 e 1980, levando a uma epidemia com mais de 100.000 casos de DHF/DSS e 168 mortes.

Infecções por **febre amarela** são caracterizadas por doença sistêmica grave, com degeneração do fígado, rins e coração e hemorragia. O envolvimento do fígado causa icterícia que dá origem ao nome da doença, mas hemorragias gastrointestinais maciças (“vômito negro”) podem também ocorrer. A taxa de mortalidade associada à febre amarela durante uma epidemia é tão alta quanto 50%.

Diagnóstico Laboratorial

Os alfavírus e flavivírus podem crescer em linhagens de células de vertebrados ou de mosquitos, mas a maioria é difícil de ser isolada. A infecção pode ser detectada através do uso de estudos citopatológicos, imunofluorescência e da hemadsorção de eritrócitos de aves. A detecção e caracterização podem ser realizadas pelo exame de RT-PCR do RNA genômico ou mRNA viral no sangue ou outras amostras. Após o isolamento, o RNA viral também pode ser caracterizado por "*fingerprints*" de RNA do RNA genômico obtido. Anticorpos monoclonais contra vírus distintos se tornaram uma ferramenta útil para distinguir espécies e cepas individuais dos vírus.

Uma variedade de métodos sorológicos pode ser usada para diagnosticar infecções, incluindo inibição da hemaglutinação, ensaios imunoenzimáticos e aglutinação no látex. A presença de IgM específica ou aumento de quatro vezes na titulação entre soros de doença aguda e em convalescência é usada para indicar uma infecção recente. A reação cruzada sorológica entre os vírus limita a detecção de espécies virais agudas em muitos casos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento para doenças por arbovírus, a não ser cuidados de suporte. *O meio mais fácil de prevenir a disseminação de qualquer arbovírus é a eliminação de seu vetor e dos territórios de procriação*. Após 1900, quando Walter Reed e seus colegas descobriram que a febre amarela era disseminada pelo *A. aegypti*, o número de casos foi reduzido de 1.400 para nenhum em 2 anos simplesmente através do controle da população do mosquito. Muitos departamentos de saúde pública monitoram as populações de aves e mosquitos em uma região para pesquisar arbovírus e periodicamente fazem pulverizações para reduzir a população de mosquitos. Evitar os territórios de procriação de um mosquito vetor também é boa medida preventiva.

Uma vacina de vírus vivos contra o vírus da febre amarela e vacinas de vírus mortos contra os vírus EEEV, WEEV, das encefalites japonesa e de primavera-verão russa estão disponíveis. Estas vacinas são dirigidas às pessoas que trabalham com o vírus ou em risco de contato. Uma vacina de vírus vivos contra VEEV está disponível, mas apenas para uso em animais domésticos. Uma vacina contra o vírus da dengue não foi desenvolvida devido ao risco potencial de aumentar a resposta imune da doença em um contato subsequente.

A vacina para febre amarela é preparada a partir da cepa 17D isolada de um paciente em 1927 e desenvolvidas por longos períodos em macacos, mosquitos, cultura de tecidos embrionários e ovos embrionados. A vacina é administrada por via intradérmica e produz imunidade que dura toda a vida para a febre amarela e possivelmente outros flavivírus, por reação cruzada.

Vírus da Rubéola

O vírus da rubéola tem as mesmas propriedades estruturais e modos de replicação dos outros togavírus. Porém, diferente dos outros togavírus, a rubéola é um **vírus respiratório** e **não causa efeitos citopatológicos prontamente detectáveis**.

A rubéola é um dos cinco **exantemas clássicos da infância**, junto com sarampo, roséola, quinta doença e varicela. Rubéola, que significa “pequeno vermelho” em latim, foi primeiro distinguida do sarampo e outros exantemas por médicos alemães; daí o nome comum para a doença, **sarampo alemão**. Em 1941, um astuto oftalmologista australiano, Norman McAlister Gregg, reconheceu que a infecção materna por rubéola era a causa de catarata congênita. A infecção materna por rubéola tem sido desde então correlacionada com vários outros **defeitos congênitos graves**. Este achado deflagrou o desenvolvimento de um programa singular para vacinar crianças para evitar infecção de mulheres grávidas e neonatos.

Patogênese e Imunidade

O vírus da rubéola não é citolítico, mas tem efeitos citopatológicos limitados em certas linhagens de células, como Vero e RK13. A replicação da rubéola evita (num processo conhecido como **interferência heteróloga**) a replicação de picornavírus superinfectantes. Esta propriedade permitiu os primeiros isolamentos do vírus da rubéola em 1962.

A rubéola infecta o trato respiratório superior e se dissemina para os linfonodos locais, o coincindo com um período de linfadenopatia (Fig. 62-6). Este estágio é seguido pelo estabelecimento da viremia, que dissemina o vírus pelo corpo. Ocorre a infecção de outros tecidos e o leve exantema cutâneo característico. O período prodrômico dura aproximadamente 2 semanas (Fig. 62-7). A pessoa pode disseminar o vírus em gotículas respiratórias durante o período prodrômico e por até 2 semanas após o início do exantema.

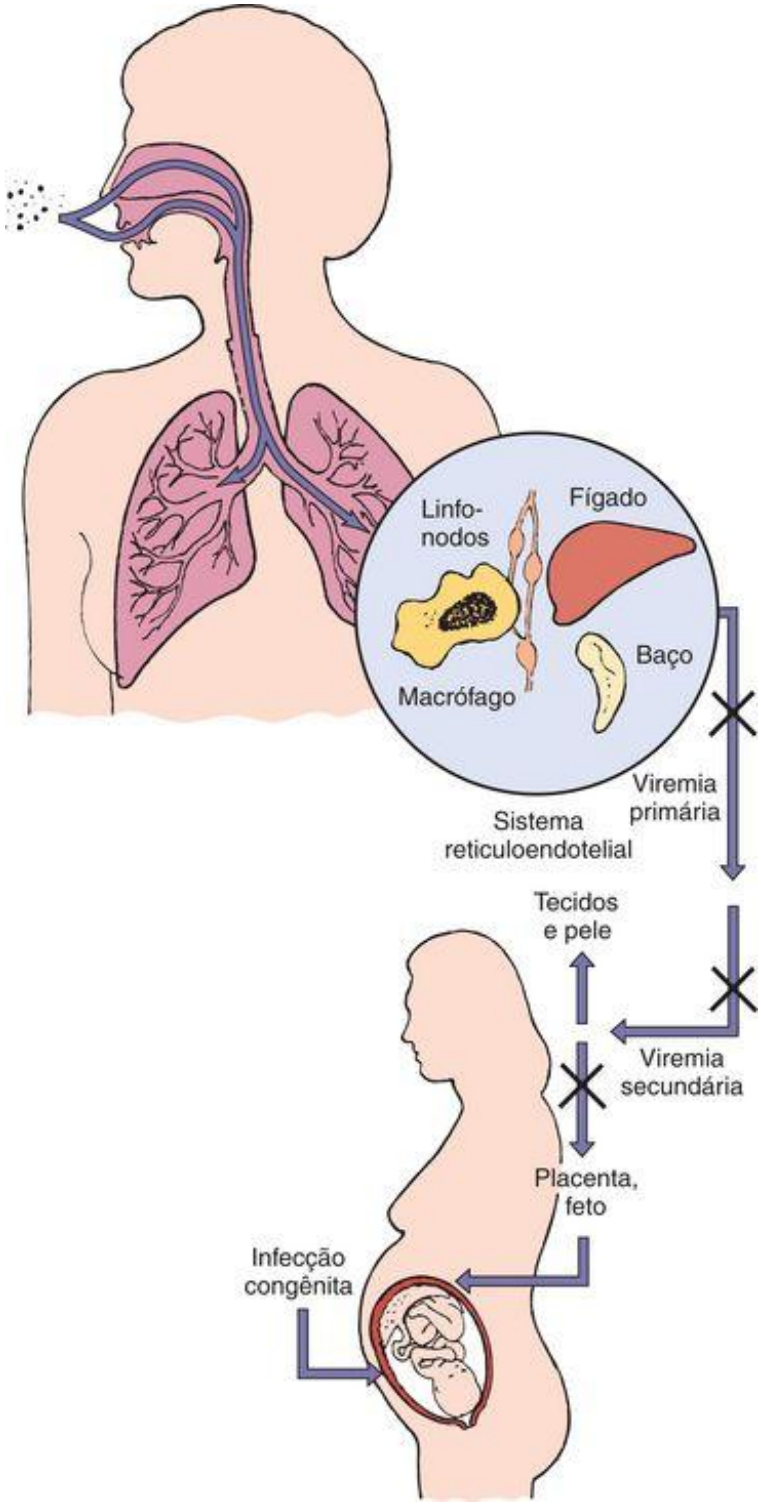


Figura 62-6 Disseminação do vírus da rubéola dentro do hospedeiro. A rubéola entra e infecta a nasofaringe e pulmões e então se dissemina para os linfonodos e o sistema monócito-macrófago. A viremia resultante dissemina o vírus para outros tecidos e a pele. Anticorpo circulante pode bloquear a transferência do vírus nos pontos indicados (*X*). Em uma mulher grávida imunologicamente deficiente, o vírus pode infectar a placenta e se disseminar para o feto.

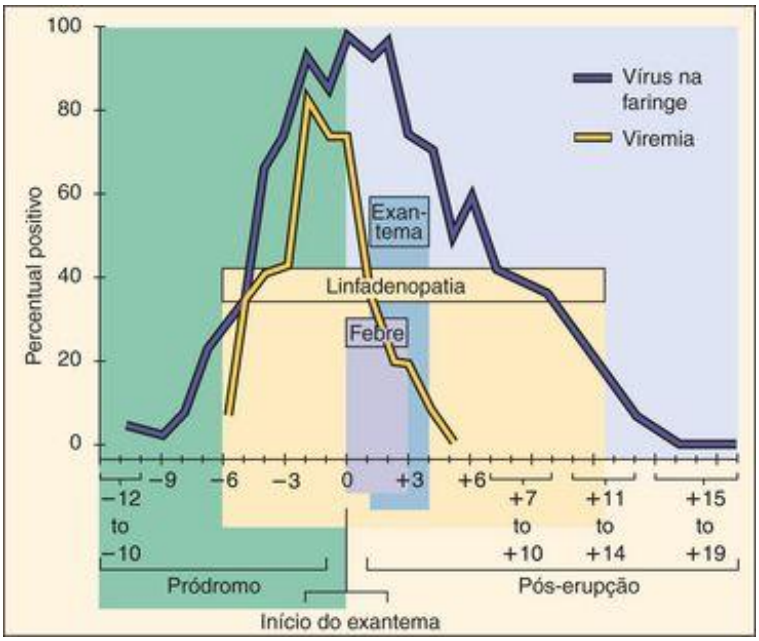


Figura 62-7 Evolução temporal da doença rubéola. A produção de rubéola na faringe precede o aparecimento de sintomas e continua durante o curso da doença. O início da linfadenopatia coincide com a viremia. Febre e exantema ocorrem mais tarde. A pessoa é infecciosa durante o tempo em que o vírus é produzido na faringe.

(Redesenhado de Plotkin SA: Rubella vaccine. Inc Plotkin SA, Mortimer EA: Vaccines. Philadelphia, WB Saunders, 1988.)

Resposta Imune

É gerado anticorpo após a viremia e seu aparecimento se correlaciona com o surgimento do exantema. O anticorpo limita a disseminação virêmica, mas a imunidade mediada por células desempenha um importante papel na resolução da infecção. Existe apenas um sorotipo de rubéola e a infecção natural produz imunidade protetora por toda a vida. Mais importante, o anticorpo sérico em uma mulher grávida evita a disseminação do vírus para o feto. *Complexos imunes provavelmente causam o exantema e a artralgia associados à infecção por rubéola*.

Infecção Congênita

A infecção por rubéola em uma mulher grávida pode resultar em anormalidades congênitas graves na criança. Se a mãe não tem anticorpo, o vírus pode se replicar na placenta e disseminar para o suprimento sanguíneo fetal e para todo o feto. A rubéola pode se replicar na maioria dos tecidos do feto. O vírus pode não ser citolítico, mas o crescimento normal, mitose e estrutura cromossômica das células do feto podem ser alterados pela infecção. As alterações podem levar ao desenvolvimento inapropriado do feto, tamanho do bebê infectado e **efeitos teratogênicos** associados à infecção congênita por rubéola. A natureza da desordem é determinada pelo (1) tecido afetado; e (2) estágio de desenvolvimento prejudicado.

O vírus pode persistir em tecidos, como o cristalino do olho, por 3 a 4 anos e ser liberado até 1 ano após o nascimento. A presença do vírus durante o desenvolvimento da resposta imune do bebê pode até ter um efeito tolerante no sistema, evitando a eliminação efetiva do vírus após o nascimento. Complexos imunes que produzem anormalidades clínicas posteriormente também podem se formar no neonato e lactente.

Epidemiologia

Os humanos são os únicos hospedeiros para a rubéola (Quadro 62-4). O vírus é disseminado nas secreções respiratórias e é geralmente adquirido durante a infância. A disseminação do vírus, antes ou na ausência dos sintomas e condições de concentração de pessoas como as das creches, promove o contágio.

Quadro 62-4 Epidemiologia do Vírus da Rubéola

Doença/Fatores Virais

Rubéola afeta apenas seres humanos.

O vírus pode causar doença assintomática.

Existe um sorotipo.

Transmissão

Via respiratória

Quem Está sob Risco?

Crianças: doença exantematosa leve.

Adultos: doença mais grave, com artrite e artralgia.

Neonatos com menos de 20 semanas: defeitos congênitos.

Modos de Controle

Vacina de vírus vivos atenuados é administrada como uma parte da vacina para sarampo, caxumba e rubéola (MMR).

Aproximadamente 20% das mulheres na idade de procriação escapam da infecção durante a infância e estão suscetíveis a ela, a menos que sejam vacinadas. Programas em muitos estados dos Estados Unidos testam mulheres grávidas para anticorpos contra a rubéola.

Antes do desenvolvimento e uso da vacina da rubéola, casos de rubéola em crianças na escola eram reportados a cada primavera e as principais epidemias ocorreram em intervalos regulares de 6 a 9 anos. A gravidade da epidemia de 1964 a 1965 nos Estados Unidos está indicada na Tabela 62-3. Durante a epidemia ocorreu rubéola congênita em até 1% de todas as crianças nascidas em cidades como Filadélfia. Desde o desenvolvimento da vacina, porém, a incidência de rubéola e rubéola congênita é agora menor do que 1 e 0,1 por 100.000 gestações, respectivamente.

Tabela 62-3 Morbidade Estimada Associada à Epidemia de Rubéola de 1964-1965 nos EUA

Eventos Clínicos	**Número de Afetados**
Casos de rubéola	12.500.000
Artrite-artralgia	159.375
Encefalite	2.084
Mortes	
Mortes neonatais acima da média	2.100
Outras mortes	60
Total de mortes	2.160
Perdas fetais acima da média	6.250
Síndrome da rubéola congênita	
Crianças surdas	8.055
Crianças surdas/cegas	3.580
Crianças com retardo mental	1.790
Outros sintomas da síndrome da rubéola congênita	6.575
Total de síndrome da rubéola congênita	20.000
Abortos terapêuticos	5.000

De National Communicable Disease Centers: Rubella surveillance, U.S. Department of Health, Education and Welfare, No. 1, June 1969.

A doença da rubéola é normalmente benigna em crianças. Após um período de incubação de 14 a 21 dias, os sintomas na criança consistem em um **exantema macular** ou **maculopapular** com 3 dias de duração e glândulas edemaciadas (Fig. 62-8). A infecção em adultos pode ser mais grave e inclui problemas, como dor nos ossos e articulações (artralgia e artrite) e raramente trombocitopenia ou encefalopatia pós-infecciosa. Efeitos imunopatogenéticos resultantes da resposta imune mediada por célula e reações de hipersensibilidade são a causa principal das formas mais graves de rubéola em adultos.

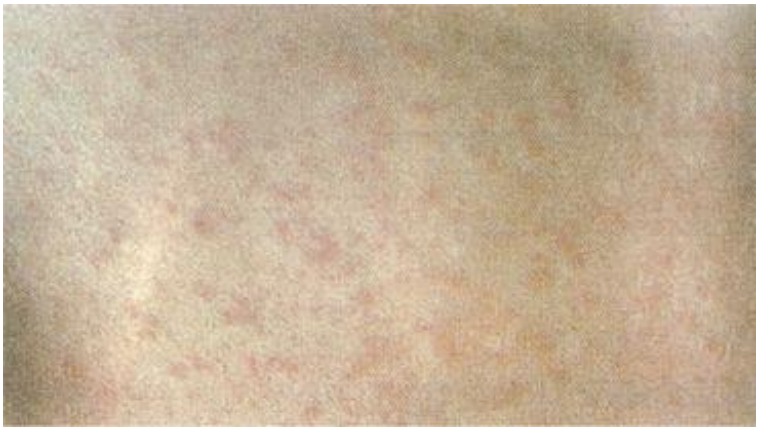


Figura 62-8 Visão aproximada do exantema da rubéola. Pequenas máculas eritematosas são visíveis.

(De Hart CA, Broadwell RL: A Color Atlas of Pediatric Infectious Disease. London, Wolf, 1992.)

Doença congênita é o resultado mais grave da infecção por rubéola. O feto está em maior risco até a 20ª semana de gestação. A imunidade materna ao vírus resultante da exposição prévia ou da vacinação previne a disseminação do vírus para o feto. As manifestações mais comuns da infecção de rubéola congênita são catarata, retardo mental e surdez (Quadros 62-5 e 62-6; Tab. 62-3). A mortalidade *in* útero e no primeiro ano após o nascimento é alta para os bebês afetados.

Quadro 62-5 Achados Clínicos Proeminentes na Síndrome da Rubéola Congênita

Catarata e outros defeitos oculares

Defeitos cardíacos

Surdez

Retardo do crescimento intrauterino

Falha no crescimento

Mortalidade no primeiro ano

Microcefalia

Retardo mental

Quadro 62-6 Resumos Clínicos

Encefalite do Oeste do Nilo: Durante o mês de agosto, um homem de 70 anos de idade de uma área pantanosa da Louisiana desenvolve febre, cefaleia, fraqueza muscular, náuseas e vômitos. Ele tinha dificuldade em responder às perguntas. Progrediu para um coma. A ressonância magnética não mostra uma área de localização específica das lesões (diferente da encefalite pelo vírus herpes simples). Sua doença progride para insuficiência respiratória e morte. Sua sobrinha de 25 anos de idade, que é vizinha, reclama do início súbito de febre (39°C), cefaleia e mialgias, com náuseas e vômitos nos últimos 4 dias.

http://www.postgradmed.com/issues/2003/07_03/gelfand.shtml

Febre Amarela: Um homem de 42 anos de idade tinha febre (39,5°C), cefaleia, vômitos e dor lombar, sintomas que começaram 3 dias após seu retorno de uma viagem para a América Central. Ele parecia normal por um curto período de tempo, mas então suas gengivas começaram a sangrar e sangue na urina e desenvolveu petéquias, icterícia e um pulso fraco e lento. Ele começou a melhorar 10 dias após início da doença.

Rubéola: Uma menina de 6 anos de idade vinda da Romênia desenvolve um leve exantema em sua face, acompanhado por febre leve e linfadenopatia. Nos próximos 3 dias, o exantema progride para outras partes do corpo. Ela não tinha história de imunização contra rubéola.

Diagnóstico Laboratorial

O isolamento do vírus da rubéola é difícil e raramente é tentado. A prevalência do vírus pode ser detectada pela detecção do RNA viral por RT-PCR. O diagnóstico é usualmente confirmado pela presença de IgM específica antirrubéola. Um aumento de quatro vezes na titulação de anticorpo específico IgG entre soros agudos e convalescentes também é usado para indicar uma infecção recente. Anticorpos contra a rubéola são pesquisados no início da gestação para determinar o *status* imune da mulher.

Quando o isolamento do vírus é necessário, o vírus usualmente é obtido na urina e é detectado como interferência com a replicação do echovírus 11 em culturas de células primárias de tumores renais de macacos verdes africanos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não foi encontrado nenhum tratamento para a rubéola. O melhor método para prevenir a rubéola é a vacinação com vacina de uma cepa de vírus RA27/3 vivos adaptados ao frio (Fig. 62-9). A vacina de vírus vivos da rubéola é usualmente administrada com as vacinas do sarampo e caxumba (**vacina MMR**) com 24 meses de idade. A vacina tripla é incluída numa rotina de bons cuidados para com o bebê. A vacinação promove imunidade humoral e celular.

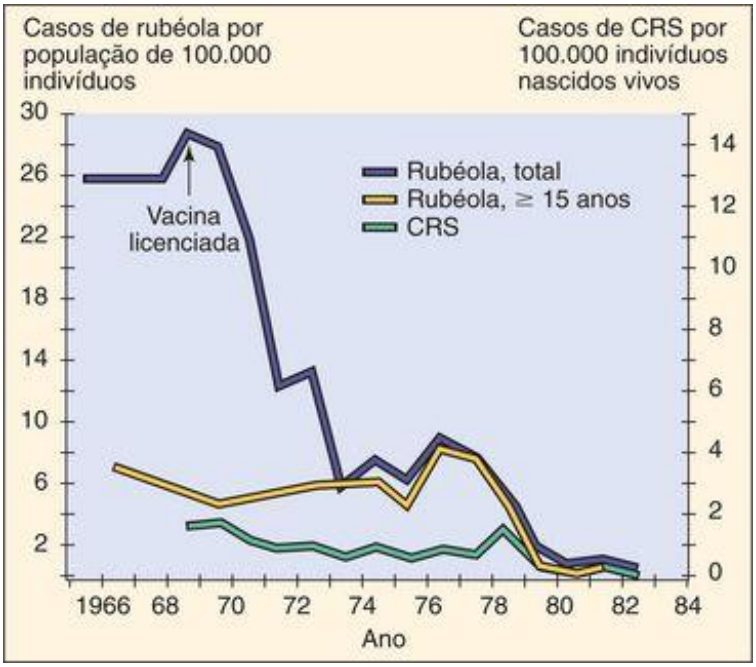


Figura 62-9 Efeito da vacinação contra o vírus da rubéola na incidência da rubéola e síndrome da rubéola congênita (CRS).

(Redesenhado de Williams MN, Preblud SR: Current trends: Rubella and congenital rubella—United States, 1983. Morb Mortal Wkly Rep 33:237-247, 1984.)

A razão primária para o programa de vacinação da rubéola é prevenir a infecção congênita pela diminuição do número de pessoas suscetíveis na população, especialmente crianças. Como resultado, existem poucas mães soronegativas e uma chance menor de que sejam expostas ao vírus pelo contato com crianças. Como existe apenas um sorotipo de rubéola e os humanos são o único reservatório, a vacinação de uma grande proporção da população pode reduzir significativamente a probabilidade de exposição ao vírus.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de negócios de 27 anos de idade apresentou febre alta, grave cefaleia retro-orbital e dores lombar e articular severas 5 dias após ele e sua família terem voltado de uma viagem à Malásia. Os sintomas duraram 4 dias e então apareceu um exantema nas solas dos pés e palmas das mãos que durou 2 dias.

Ao mesmo tempo, seu filho de 5 anos de idade apresentou sintomas semelhantes à gripe e então sumiram após 2 a 5 dias.

As mãos do menino estavam frias e pegajosas, sua face estava vermelha e seu corpo estava quente. Havia petéquias em sua testa e equimoses por todos os lugares, desenvolvia hematomas com facilidade, tinha respiração rápida e um pulso fraco, rápido. Ele se recuperou após 24 horas.

1. Quais características destes casos apontaram para o diagnóstico de infecção pelo vírus da dengue?

1. A infecção pelo vírus da dengue é indicada por sinais como febre alta, dor de cabeça intensa, dores nas articulações e costas. Sua viagem para a Malásia teria aumentado seu risco de exposição aos mosquitos do gênero *Aedes*, vetores do vírus.

2. Que significado tinha a viagem à Malásia?

2. Os mosquitos do gênero *Aedes* (vetores do vírus da dengue) são endêmicos na Malásia que também possui alta prevalência do vírus.

3. Qual foi a fonte de infecção do pai e do filho?

3. O vírus foi transmitido de forma independente por mosquitos diferentes para pai e filho.

4. Qual o significado e a base patogênica para as petéquias e equimoses na criança?

4. Petéquias e equimoses são indicadores de doença hemorrágica.

Duas semanas após voltar de uma viagem ao México, um homem de 25 anos tinha artralgia (dores articulares) e exantema leve que começaram em sua face e se espalharam pelo corpo. Ele lembrou que sentiu como se estivesse gripado poucos dias antes do início do exantema. O exantema desapareceu em 4 dias.

1. Que características deste caso apontavam para o diagnóstico de infecção por rubéola?

1. A infecção pelo vírus da rubéola é indicada pela artralgia e, especialmente, pelo exantema. Estes sintomas são causados por reação do sistema imunológico ao processo de replicação viral e disseminação do vírus. Esta presença viral é indutora de interferon, substância que produz sintomas semelhantes aos de uma síndrome gripal.

2. Por que é significativo o fato de os sintomas terem iniciado após uma viagem para fora dos Estados Unidos?

2. A exposição ao vírus da rubéola é pouco provável de ocorrer nos EUA devido ao efetivo programa de vacinação existente neste país.

3. Que precaução o homem poderia ter tomado para evitar esta infecção?

3. Se o homem tivesse sido imunizado com a vacina MMR (*measles, mumps, rubella* - sarampo, caxumba, rubéola) e recebido também dose de reforço, ele estaria imunologicamente protegido contra rubéola.

4. Como esta infecção foi transmitida?

4. Rubéola é um togavírus transmitido por aerossóis de modo semelhante aos vírus respiratórios.

5. Quem está sob risco de uma evolução grave desta infecção?

5. Todos os indivíduos não imunizados estão sob risco para esta infecção. Porém, as evoluções mais graves são observadas em fetos quando a mãe é infectada antes da vigésima semana gestacional. A rubéola causa grave síndrome congênita.

6. Se esta doença é normalmente leve em crianças, por que sua imunização é tão importante?

6. Pela imunização populacional (especialmente crianças) obtém-se a prevenção da síndrome congênita grave.

Bibliografia

Chambers TJ, Monath TP. The Flaviviruses: Detection, Diagnosis, and Vaccine Development, vol 60, Pathogenesis and Immunity; vol 61, Advances in Virus Research. San Diego: Academic, 2003.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed, Washington, DC: ASM Press, 2003.

Hahn CS, et al. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu Rev Microbiol*. 1990;44:663-688.

Johnson RT. Viral Infections of the Nervous System. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Koblet H. The “merry-go-round”: Alphaviruses between vertebrate and invertebrate cells. *Adv Virus Res*. 1990;38:343-403.

Kuhn RJ, et al. Structure of dengue virus: Implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. 2002;108:717-725.

Mackenzie JS, Barrett ADT, Deubel V. Japanese Encephalitis and West Nile Viruses. In: *In Curr Top Microbiol Immunol, vol 267*. Berlin: Springer-Verlag; 2002.

Monath TP. Yellow fever vaccine. In Plotkin SA, Orenstein WA, editors: *Vaccines*, 4th ed, Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Mukhopadhyay S, Kim B-S, Chipman PR, et al. Structure of West Nile virus. *Science*. 2003;302(5643):248.

Nash, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med*. 2001;344:1807-1814.

Plotkin SA, Reef S. Rubella vaccine. In Plotkin SA, Orenstein WA, editors: *Vaccines*, 4th ed, Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Strauss JH, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.

Tsai TF. Arboviral infections in the United States. *Infect Dis Clin North Am*. 1991;5:73-102.

Sites

Centers for Disease Control and Prevention, Arbovirus encephalitides facts (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/arbor/index.htm.
Centers for Disease Control and Prevention, West Nile Virus facts (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index.htm.
Gelfand MS West Nile virus infection. What you need to know about this emerging threat. Postgrad Med 114, 2003: Disponível em. http://www.postgradmed.com/issues/2003/07_03/gelfand/shtml.

* Nota da Revisão Científica: Suaíli é uma das línguas faladas em alguns países africanos.

63 Buniavírus e Arenavírus

As famílias virais *Bunyaviridae* e *Arenaviridae* compartilham várias similaridades. Os vírus destas famílias são vírus envelopados de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia com sentido negativo com modos de replicação similares. Ambos são zoonoses; a maioria dos *Bunyaviridae* é arbovírus, mas os *Arenaviridae* não são. Muitos dos vírus destas famílias causam encefalite ou doença hemorrágica.

Bunyaviridae

O s *Bunyaviridae* constituem um "supergrupo" de pelo menos **200 vírus envelopados, segmentados, de RNA de fita negativa**. O supergrupo de vírus mamíferos é depois dividido em gêneros com base em características estruturais e bioquímicas: *Bunyavirus, Phlebovirus, Nairovirus* e *Hantavirus* (Tab. 63-1). A maioria dos *Bunyaviridae* é **arbovírus** (*ar*thropod-*bo*rne — transmitidos por artrópodes) que é disseminada por mosquitos, carrapatos ou moscas e endêmicos no meio ambiente do vetor. Os **hantavírus** são exceção: são carreados por **roedores**.

Tabela 63-1 Gêneros Importantes da Família *Bunyaviridae*[*]

Tabela 63-1. Gêneros Importantes da Família *Bunyaviridae**

Gênero	Membros	Inseto Vetor	Condições Patológicas	Hospedeiros Vertebrados
Bunyavirus	Vírus Bunyamwera, vírus da encefalite da Califórnia, vírus La Crosse, vírus Oropouche; 150 membros	Mosquito	Doença febril, encefalite, exantema febril	Roedores, mamíferos pequenos, primatas, marsupiais, aves
Phlebovirus	Vírus da febre de *Rift Valley*, vírus da febre arenosa; 36 membros	Mosca	Febre do mosquito pólvora, febre hemorrágica, encefalite, conjuntivite, miosite	Ovelhas, gado bovino, animais domésticos
Nairovirus	Vírus da febre hemorrágica Crimean-Congo; 6 membros	Carrapato	Febre hemorrágica	Lebres, gado bovino, cabras, aves marinhas
Uukuivirus	Vírus Uukuniemi; 7 membros	Carrapato	—	Aves
Hantavirus	Vírus Hantaan	Nenhum	Febre hemorrágica com síndrome renal, síndrome do desconforto respiratório agudo	Roedores
	Sin Nombre	Nenhum	Síndrome pulmonar do hantavírus, choque, edema pulmonar	Camundongo do deserto

*35 vírus adicionais possuem várias propriedades comuns aos Bunyaviridae, mas ainda não foram classificados.

Estrutura

Os buniavírus são partículas aproximadamente esféricas de 90 a 120nm de diâmetro (Quadro 63-1). O envelope do vírus contém duas glicoproteínas (G1 e G2) e envolve três RNAs singulares de fita negativa, os RNAs grande (**L – *Large***), médio (**M**) e pequeno (**S – *Small***). Os RNAs se associam às proteínas para formar nucleocapsídeos (Tab. 63-2). Os segmentos de genoma para os vírus de La Crosse e outros vírus do grupo relacionado ao vírus da encefalite da Califórnia têm terminações complementares e formam círculos. Os nucleocapsídeos incluem a RNA polimerase RNA-dependente (proteína L) e duas proteínas não estruturais (NS_s, NS_m) (Fig. 63-1). Diferente de outros vírus RNA de cadeia negativa, os *Bunyaviridae* **não têm uma matriz de proteína**. Os gêneros de *Bunyaviridae* são distinguidos por diferenças em (1) número e tamanhos das proteínas dos vírions; (2) comprimentos das fitas L, M e S do genoma; e (3) suas transcrições.

Quadro 63-1 Propriedades Características dos Buniavírus

Existem pelo menos 200 vírus relacionados nos cinco gêneros que compartilham morfologias comuns e componentes básicos.

O vírion é envelopado com três (L, M, S) nucleocapsídeos RNA negativos, mas sem proteínas de matriz.

O vírus se replica no citoplasma.

O vírus pode infectar humanos e artrópodes.

O vírus de um artrópode pode ser transmitido para seus ovos.

Tabela 63-2 Genomas e Proteínas do Vírus da Encefalite da Califórnia

Genoma*	Proteínas
L	RNA polimerase, 170kDa
M	glicoproteína da espícula, 75kDa
	glicoproteína da espícula, 65kDa
	Proteína não estrutural, 15-17kDa
S	Proteína do nucleocapsídeo, 25kDa
	Proteína do nucleocapsídeo, 10kDa

* *RNA de fita negativa*.

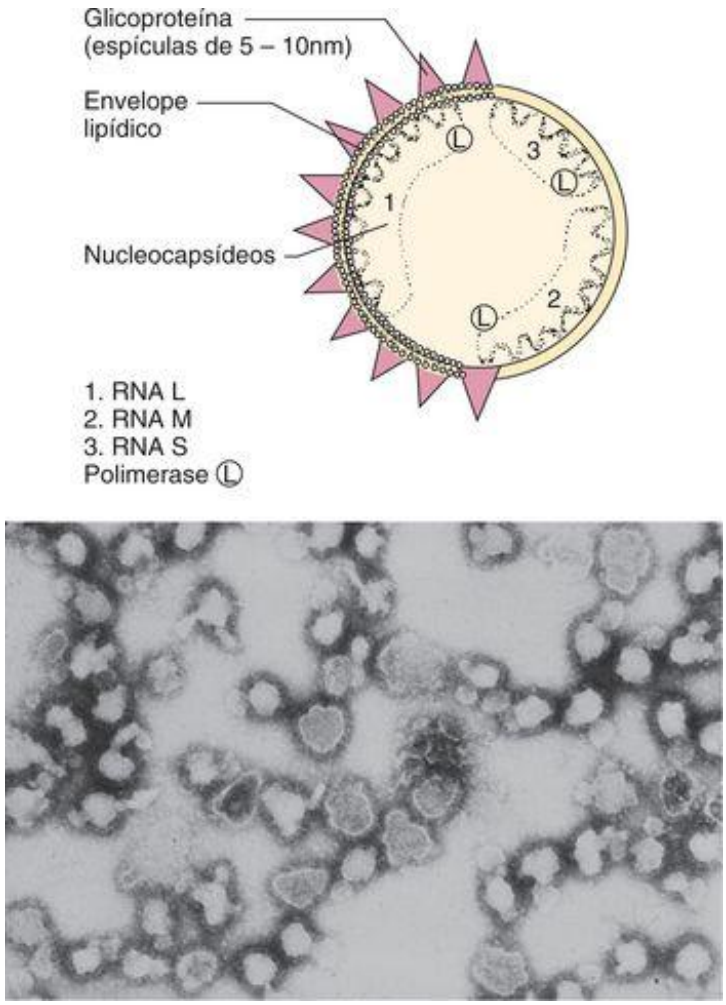


Figura 63-1 **A**, Modelo de partícula do buniavírus. **B**, Micrografia eletrônica da variante de La Crosse do buniavírus. Observe as espículas de proteínas na superfície do envelope do vírion.

*(**A** redesenhado de Fraenkel-Conrat H, Wagner RR: Comprehensive Virology, vol. 14, New York, Plenum, 1979; **B** cortesia de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)*

Replicação

O s *Bunyaviridae* replicam da mesma maneira que outros vírus envelopados de fita negativa. Para a maioria dos *Bunyaviridae*, a glicoproteína G1 interage com integrinas β na superfície da célula, e o vírus é internalizado por endocitose. Após a fusão do envelope com as membranas endossômicas na acidificação da vesícula, o nucleocapsídeo é liberado no citoplasma e começa a síntese de RNA mensageiro (mRNA) e proteínas. De forma semelhante ao vírus da influenza, os buniavírus roubam a porção 5′-*cap* dos mRNAs para priorizar a síntese de mRNAs virais; mas diferente do vírus influenza, este processo ocorre no citoplasma.

O segmento M codifica a proteína não estrutural NS_m e as proteínas G1 (fixação viral) e G2 e a cadeia G codificam a proteína L (polimerase) (Tab. 63-2). A cadeia S de RNA codifica duas proteínas não estruturais, N e NS_s. Para o grupo *Phlebovirus*, a fita S possui ambos os sentidos, de forma que uma proteína é transcrita a partir da cadeia (+) e a outra, do molde RNA (−).

A replicação do genoma pela proteína L também fornece novos moldes para transcrição, aumentando a taxa de síntese de mRNA. As glicoproteínas são, então, sintetizadas e glicosiladas no retículo endoplasmático, sendo transferidas para o aparelho de Golgi, mas não translocadas para a membrana plasmática. Os vírions são montados por brotamento no interior do aparelho de Golgi e são liberados por lise celular ou exocitose.

Patogênese

A maioria dos *Bunyaviridae* é arbovírus e possuem muitos dos mesmos mecanismos dos togavírus e flavivírus (Quadro 63-2). Por exemplo, os vírus são disseminados por um vetor artrópode e injetados no sangue para iniciar uma viremia. A progressão para viremia secundária após este estágio e a posterior disseminação do vírus pode direcioná-lo para sítios-alvos tipicamente envolvidos naquela doença em particular, como sistema nervoso central, fígado, rins e endotélio vascular.

Quadro 63-2 Mecanismos Patológicos dos Buniavírus

O vírus é adquirido pela mordida de um artrópode (p. ex., mosquito).

A viremia inicial pode causar sintomas semelhantes aos de gripe.

O estabelecimento de viremia secundária pode permitir o acesso do vírus aos tecidos-alvos específicos, incluindo o sistema nervoso central e o endotélio vascular.

O anticorpo é importante no controle da viremia; interferon e imunidade mediada por células podem prevenir o desenvolvimento da infecção.

Muitos *Bunyaviridae* causam dano neuronal, glial e edema cerebral, levando à encefalite. Em algumas infecções virêmicas (p. ex., febre de *Rift Valley*), pode ocorrer necrose hepática. Em outras (p. ex., febre hemorrágica de Crimean-Congo e doença hemorrágica de Hantaan), a lesão primária envolve o extravasamento de plasma e eritrócitos através do endotélio vascular. Na última infecção, estas alterações são mais proeminentes nos rins e são acompanhadas por necrose hemorrágica dos rins.

Diferente de outros buniavírus, os roedores são reservatórios e vetores para hantavírus, e os humanos adquirem o vírus através da respiração de aerossóis contaminados por urina infectada. O vírus inicia a infecção e permanece no pulmão, causando a destruição hemorrágica do tecido e doença pulmonar letal.

Epidemiologia

Muitos buniavírus são transmitidos por mosquitos, carrapatos infectados, ou moscas *Phlebotomus* para roedores, aves e animais maiores (Quadro 63-3). Os animais, então, se tornam **reservatórios** para os vírus, continuando o ciclo de infecção. Os humanos são infectados quando entram no ambiente do inseto vetor (Fig. 63-2), mas são usualmente hospedeiros terminais. A transmissão ocorre durante o verão, mas, diferente de outros arbovírus, muitos dos *Bunyaviridae* podem sobreviver durante o inverno nos ovos dos mosquitos e permanecer na localidade.

Quadro 63-3 Epidemiologia das Infecções por Buniavírus

Doença/Fatores Virais

O vírus é capaz de replicar nas células dos mamíferos e artrópodes.

O vírus é capaz de passar pelo ovário e infectar os ovos dos artrópodes, permitindo que o vírus sobreviva durante o inverno.

Transmissão

Via artrópodes por lesão na pele. Grupo da encefalite da Califórnia: mosquito *Aedes*.

Mosquitos *Aedes* se alimentam durante o dia e vivem em florestas.

Mosquitos *Aedes* depositam ovos em pequenas poças de água aprisionada em lugares, como árvores e pneus.

Quem está sob Risco?

Pessoas no hábitat do vetor artrópode.

Grupo da encefalite da Califórnia: pessoas em acampamentos, guardas florestais, lenhadores.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

A incidência da doença se correlaciona com a distribuição do vetor.

A doença é mais comum no verão.

Modos de Controle

Eliminação do vetor ou de seu hábitat.

Evitar o hábitat do vetor.

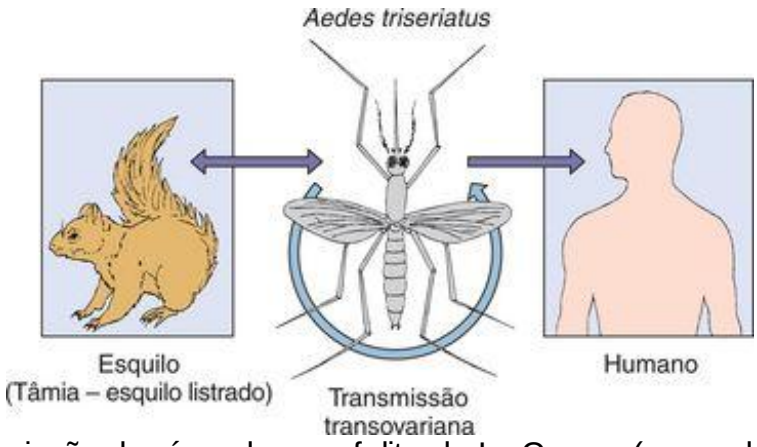


Figura 63-2 Transmissão do vírus da encefalite de La Crosse (grupo de vírus da encefalite da Califórnia).

Muitos dos membros desta família de vírus são encontrados na América do Sul, sudeste da Europa, sudeste da Ásia e África e têm os nomes exóticos de seus nichos ecológicos. Os vírus do **grupo de vírus da encefalite da Califórnia** (p. ex., vírus La Crosse) são disseminados por mosquitos encontrados nas florestas da América do Norte (Fig. 63-3). Até 150 casos de encefalites ocorrem durante o verão a cada ano nos Estados Unidos, mas a maioria das infecções é assintomática. Estes vírus são disseminados principalmente pelo *Aedes triseriatus* e pelo *Culiseta*, que se proliferam na água em buracos de árvores e em pneus descartados.

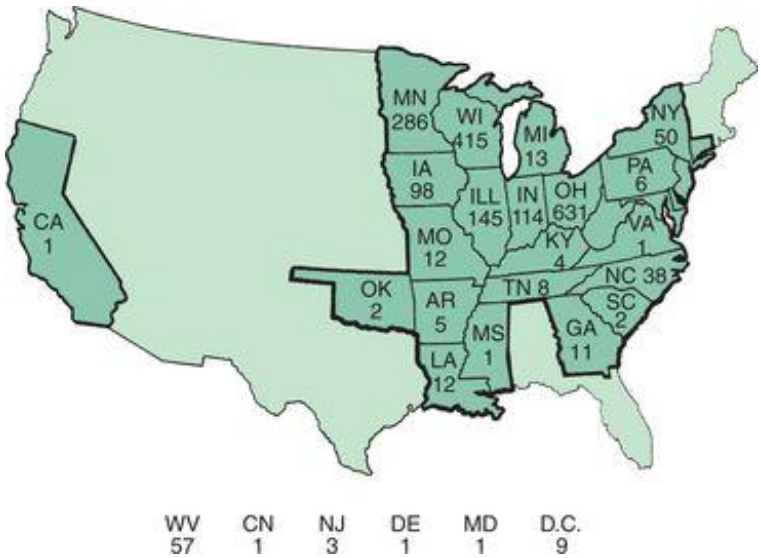


Figura 63-3 Distribuição da encefalite da Califórnia, 1964 a 1989.

(Redesenhado de Tsai TF: Infect Dis Clin North Am 5:73-102, 1991.)

Os hantavírus não têm um vetor artrópode, mas são mantidos em uma espécie de roedor

específica para cada vírus. Os humanos são infectados por contato direto com roedores ou através da inalação de aerossóis de urina de roedores. Em maio de 1993, um surto de **síndrome pulmonar por hantavírus** ocorreu na área *Four Corners* no estado do Novo México. O surto é atribuído ao aumento do contato com o vetor camundongo do deserto durante uma estação de chuvas extraordinariamente intensas, maior disponibilidade de alimentos e o aumento na população de roedores. Os vírus da subfamília *Sin Nombre* foram isolados nas vítimas e roedores. Desde este episódio, vírus desta subfamília têm sido associados a surtos de doença do trato respiratório no leste e oeste dos Estados Unidos e América Central e do Sul.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 63-1)

O s *Bunyaviridae* são vírus transmitidos por mosquitos, que geralmente causam uma doença febril inespecífica, semelhante a uma gripe e com viremia relacionada a estes sintomas (Tab. 63-1). Normalmente a doença é indistinguível de doenças causadas por outros vírus. O período de incubação para estas doenças é de aproximadamente 48 horas e as febres duram tipicamente 3 dias. Muitos pacientes com infecções, mesmo aqueles infectados por agentes conhecidos por causar doença grave (p. ex., vírus da febre de *Rift Valley*, vírus La Crosse), apresentam formas brandas da doença.

Caso Clínico 63-1 Hantavírus em West Virginia

O CDC (Morb Mortal Wkly Rep 53:1086-1089, 2004) relatou um caso de hantavírus em um estudante de ciências da vida selvagem com 32 anos de idade. O paciente visitou o departamento de emergência em Blacksburg, Virginia, após apresentar febre, tosse e uma "ferida no tórax". O estudante vinha capturando, manuseando e estudando camundongos durante todo o mês. Nem ele nem seus colegas usavam luvas enquanto manuseavam os camundongos e seus excrementos; Não lavavam as mãos antes de comer e tinham numerosas mordidas de camundongos em suas mãos. Tinha febre de 39,37deg; C e função pulmonar normal, mas a radiografia de tórax indicou uma leve pneumonia do lado direito. O estudante começou a vomitar durante o atendimento e foi internado. A pneumonia progrediu e ele se tornou mais hipóxico, eventualmente requerendo intubação e ventilação mecânica. No dia seguinte, recebeu proteína C ativada para prevenir coagulação intravascular disseminada. O paciente continuou a piorar e morreu no terceiro dia após a hospitalização. Amostras de soro continham anticorpos IgM e IgG e RNA genômico (determinado por RT-PCR) para hantavírus e agentes virais estavam presentes no baço. Embora o hantavírus tenha recebido grande notoriedade com o surto do vírus *Sin Nombre* no sudoeste dos Estados Unidos em 1993, ele pode ocorrer em qualquer local onde pessoas entrem em contato com urina e fezes de roedores. Foram relatados 31 casos nos Estados Unidos.

Enfermidades com **encefalite** (p. ex., vírus La Crosse) têm início súbito após um período de incubação de aproximadamente 1 semana, e os sintomas nesta época consistem de febre, cefaleia, letargia e vômitos. Ocorrem convulsões em 50% dos pacientes com encefalite, geralmente no início da enfermidade. Sinais de meningite também podem estar presentes. A enfermidade dura 10-14 dias. Ocorre morte em menos de 1% dos pacientes, mas podem ocorrer desordens de convulsão como sequela em até 20%.

Febres hemorrágicas, como a febre de *Rift Valley*, são caracterizadas por hemorragias petequiais, equimoses, epistaxe, hematêmese, melena e sangramento das gengivas. Ocorre morte em cerca de metade dos pacientes com fenômenos hemorrágicos. A **síndrome pulmonar de hantavírus** é uma doença terrível, se manifestando inicialmente como um pródromo de febre e dores musculares, mas seguido rapidamente por edema pulmonar intersticial, insuficiência respiratória e morte dentro de alguns dias.

Diagnóstico Laboratorial

A detecção de RNA viral por reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR) se tornou o método aceito para detectar e identificar bunyavírus. Os hantavírus *Sin Nombre* e *Convict Creek* foram identificados através do uso do teste de RT-PCR. RNA viral a partir de tecido do paciente foi convertido para DNA complementar com o uso da transcriptase reversa de um retrovírus, e então *primers* (iniciadores) de DNA representando sequências conservadas de hantavírus foram usados para promover a síntese de sequências características dos hantavírus.

Exames sorológicos são geralmente realizados para confirmar um diagnóstico de infecção por buniavírus. Pesquisas de neutralização do vírus podem ser usadas para identificar o vírus. Ensaios específicos para imunoglobulina M (IgM) são úteis na documentação de infecção aguda. A soroconversão ou um aumento de quatro vezes na titulação de anticorpo é usada para documentar uma infecção recente, mas reações cruzadas entre gêneros virais são comuns. Ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas (ELISA) pode detectar o antígeno em espécimes clínicos de pacientes com uma viremia intensa (febre de *Rift Valley*, febre hemorrágica com síndrome renal, febre hemorrágica de Crimean-Congo). Testes ELISA que podem detectar antígeno viral em mosquitos têm sido desenvolvidos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Nenhum tratamento específico para infecções dos *Bunyaviridae* está disponível. A doença humana é prevenida pela interrupção do contato entre humanos e o vetor, seja ele artrópode ou mamífero. Vetores artrópodes são controlados por (1) eliminação das condições de crescimento para o vetor; (2) pulverização com inseticidas; (3) instalação de redes ou telas em janelas e portas; (4) uso de roupas protetoras; (5) controle da infestação de carrapatos em animais. O controle dos roedores minimiza a transmissão de muitos vírus, especialmente os hantavírus. Vacinas para febre de *Rift Valley* têm sido desenvolvidas para uso em humanos e animais (ovelhas e gado bovino).

Arenavírus

Os arenavírus incluem os **vírus da coriomeningite linfocítica (LCM – *lymphocytic choriomeningitis*)** e **febre hemorrágica**, como os vírus **Lassa, Junin** e **Machupo**. Estes vírus causam infecções persistentes em roedores específicos e podem ser transmitidos para humanos como **zoonoses**.

Estrutura e Replicação

Os arenavírus são vistos em micrografias eletrônicas como **vírus envelopados, pleomórficos** (120nm de diâmetro) que têm **aspecto arenoso** (o nome vem da palavra grega **arenosa**) por causa dos **ribossomos dos vírions** (Quadro 63-4). Embora funcionais, os ribossomos não parecem servir para um propósito. Vírions contêm 1 nucleocapsídeo em forma de contas com **2 círculos de RNA de fita simples** (S, 3.400 nucleotídios; L, 7.200 nucleotídios) e uma transcriptase. A fita L é um RNA de sentido negativo e codifica a polimerase. A fita S codifica a nucleoproteína (nucleoproteína N) e as glicoproteínas, mas possui ambos os sentidos (**ambissenso**). Enquanto o mRNA para a proteína N é transcrito diretamente a partir da fita ambissenso S, o mRNA para a glicoproteína é transcrito a partir de um molde de comprimento inteiro do genoma. Como resultado, as glicoproteínas são produzidas como proteínas tardias após a replicação do genoma. Os arenavírus replicam no citoplasma e adquirem seu envelope por brotamento a partir da membrana plasmática da célula do hospedeiro.

Quadro 63-4 Propriedades Características dos Arenavírus

Os vírus têm vírion **envelopado** com dois segmentos de genoma **RNA circulares com sentido negativo**, (L, S). O vírion parece **arenoso por causa dos ribossomos**.

O segmento S do genoma é ambissenso.

Infecções por arenavírus são zoonoses, estabelecendo infecções persistentes em roedores.

A patogênese das infecções por arenavírus é amplamente atribuída à imunopatogênese das células T.

Arenavírus facilmente causam infecções persistentes. Isto pode resultar da transcrição ineficiente dos genes por glicoproteínas e má montagem do vírion.

Patogênese

Os arenavírus são capazes de infectar macrófagos e possivelmente causam a liberação de mediadores de células e danos vasculares. Efeitos imunopatológicos induzidos por células T exacerbam significativamente a destruição tecidual. Infecção persistente de roedores resulta da infecção neonatal e indução da imunotolerância. O período de incubação para infecções dos arenavírus varia de 10 a 14 dias.

Epidemiologia

Muitos arenavírus, exceto o vírus que causa a LCM, são encontrados nos trópicos da África e América do Sul. Os arenavírus, como os hantavírus, infectam roedores específicos e são endêmicos nos hábitats dos roedores. Infecção assintomática crônica é comum nestes animais e leva à viremia crônica e disseminação a longo prazo na saliva, urina e fezes. Os humanos podem se infectar através da inalação de aerossóis, do consumo de alimentos contaminados ou contato com fômites. Mordidas não são um mecanismo comum de transmissão.

O vírus que causa a LCM infecta hamsters e camundongos caseiros (*Mus musculus*). Foi encontrado em 20% dos camundongos em Washington, DC. A doença de LCM nos Estados Unidos está associada ao contato com hamsters de estimação e com os animais no ato de alimentá-los. O vírus da febre de Lassa infecta *Mastomys natalensis*, um roedor africano. O vírus da febre de Lassa é disseminado de homem para homem através do contato com secreções infectadas ou líquidos corporais, mas os vírus que causam LCM ou outras febres hemorrágicas são disseminados raramente, se forem, por esta via.

Em 1999 e 2000, achou-se que três casos de doença hemorrágica fatal na Califórnia foram causados pelo arenavírus *Whitewater Arroyo*. Este vírus é encontrado normalmente no rato de colar branco da floresta, por isso sua ocorrência em humanos constitui uma doença recentemente emergente. A associação com a doença foi feita por um exame especial de RT-PCR.

Síndromes Clínicas (Quadro 63-5)

Coriomeningite Linfocítica

O nome deste vírus, **coriomeningite linfocítica**, sugere que a meningite é um evento clínico típico, mas na verdade a LCM causa uma enfermidade febril com mialgia semelhante à gripe que é mais frequente do que doença meníngea. Cerca de 10% de pessoas infectadas exibem evidência clínica de uma infecção do sistema nervoso central. A enfermidade meníngea, se ocorrer, começara 10 dias após a fase inicial da doença, com recuperação completa. Infiltrados mononucleares perivasculares podem ser vistos em neurônios de todas as áreas do cérebro e nas meninges de um paciente afetado.

Quadro 63-5 Resumos Clínicos

Febre de Lassa: Aproximadamente 10 dias após retornar de uma viagem para visitar a família na Nigéria, um homem de 47 anos desenvolveu sintomas semelhantes à gripe com febre mais alta do que o esperado e mal-estar.

A doença piorou progressivamente e, após 3 dias, o paciente desenvolveu dor abdominal, náuseas, vômitos, diarreia, faringite, sangramento das gengivas e começou a vomitar sangue.

Ele desenvolveu choque e morreu.

Febre de Lassa e Outras Febres Hemorrágicas

A febre de Lassa, que é endêmica no oeste da África, é a mais conhecida das febres hemorrágicas causadas por um arenavírus. Outros agentes, porém, como os vírus Junin e Machupo, causam síndromes similares nos habitantes de diferentes áreas geográficas (Argentina e Bolívia, respectivamente).

A doença clínica é caracterizada por febre, coagulopatia, petéquias e hemorragia visceral ocasional, assim como necrose hepática e esplênica, mas não vasculite. Também ocorrem hemorragia e choque, assim como danos cardíacos e hepáticos ocasionais. Em contraste com a LCM, as febres hemorrágicas não causam lesões no sistema nervoso central. Faringite, diarreia e vômitos podem prevalecer, especialmente em pacientes com febre de Lassa. A morte ocorre em até 50% daqueles com febre de Lassa e numa percentagem menor em indivíduos infectados por outros arenavírus que causam febres hemorrágicas. O diagnóstico é sugerido por viagem recente a áreas endêmicas.

Diagnóstico Laboratorial

Uma infecção por arenavírus é usualmente diagnosticada basada em achados sorológicos e genômicos (RT-PCR). Estes vírus são muito perigosos para isolamento de rotina. Amostras da garganta podem fornecer arenavírus; a urina é uma fonte do vírus da febre de Lassa, mas não do vírus da LCM. O risco de infecção é substancial para trabalhadores de laboratórios que manuseiam líquidos corporais. Por isso, se existe a suspeita diagnóstica, o pessoal de laboratório deve ser avisado e as amostras processadas apenas em aparelhos especializados para o isolamento dos patógenos contagiosos (**nível 3 para LCM e nível 4 para febre de Lassa e outros arenavírus**).

Tratamento, Prevenção e Controle

A droga antiviral **ribavirina** tem atividade limitada contra arenavírus e pode ser usada para tratar a febre de Lassa. Entretanto, o tratamento de suporte é o que geralmente está disponível para pacientes com infecções por arenavírus.

Estas infecções transmitidas por roedores podem ser prevenidas pela limitação do contato com o vetor. Por exemplo, a melhora da higiene para limitar o contato com camundongos reduziu a incidência de LCM em Washington, DC. Nas áreas geográficas onde ocorre febre hemorrágica, ratoeiras e o armazenamento cuidadoso dos alimentos podem diminuir a exposição ao vírus.

A incidência de casos adquiridos em laboratório pode ser reduzida se as amostras submetidas ao isolamento do arenavírus forem processadas com material de biossegurança pelo menos de nível 3 ou 4 e não nos laboratórios comuns de virologia clínica.

Estudo de Casos e Questões

Uma mulher de 58 anos reclamou de sintomas tipo gripe, forte cefaleia, rigidez de nuca e fotofobia. Ela estava letárgica e tinha uma febre branda. Uma amostra do líquido cefalorraquidiano foi coletada e continha 900 leucócitos/mL, principalmente linfócitos, e o vírus da coriomeningite linfocitária. Ela se recuperou após 1 semana. Sua casa estava infestada por ratos cinza (*Mus musculus*).

1. Quais eram os sintomas significativos desta doença?

1. A dor de cabeça severa, a rigidez de nuca e fotofobia são sintomas de meningite acompanhados pelos sintomas semelhantes à síndrome gripal que são provocados pela viremia.

2. Como o vírus foi transmitido?

2. O vírus foi transmitido pelas fezes e urina dos roedores que viviam na casa. É provável que ela tenha respirado aerossóis contaminados.

3. Que tipo de resposta imune é mais importante no controle desta infecção?

3. Esta infecção viral requer respostas imunes mediadas por células (Th1) para controlar a infecção.

Uma bandeirante de 15 anos que acampou no verão em Ohio subitamente apresentou cefaleia, náuseas e vômitos. Ela também tinha febre e enrijecimento da nuca. Foi admitida no hospital, onde uma punção lombar e exame do líquido cefalorraquidiano revelou células inflamatórias. Ela se tornou letárgica no dia seguinte, mas ficou alerta novamente após 4 a 5 dias.

1. O médico suspeitou que o agente fosse o vírus da encefalite de La Crosse. Que pistas apontaram para o vírus de La Crosse?

1. A encefalite pelo vírus La Crosse é sugerida pelos sintomas de meningoencefalite, presença de células inflamatórias no líquido cefalorraquidiano (provavelmente com predomínio de linfócitos e níveis normais de glicose) e a época do ano na qual a bandeirante esteve no ambiente do mosquito *Culex* vetor do vírus La Crosse.

2. Quais outros agentes também seriam considerados no diagnóstico diferencial?

2. O diagnóstico diferencial incluiria outras encefalites virais como Encefalite Equina do Oeste e do Leste, Encefalite do Oeste do Nilo e encefalite por LCM (vírus da coriomeningite linfocítica). Sua recuperação a partir do episódio minimiza a possibilidade de encefalite de HSV, que geralmente provoca um dano permanente e grave.

3. Como a paciente foi infectada?

3. A paciente foi infectada pela inoculação do vírus pelo mosquito *Culex* através da picada.

4. Como poderia ser feita a prevenção da transmissão deste agente?

4. Transmissão poderia ser evitada pela redução da exposição ao mosquito vetor, por pulverização de substâncias para matar os mosquitos e drenando os locais de reprodução desses mosquitos.

5. Como o departamento de saúde pública poderia determinar a prevalência do vírus de La Crosse no ambiente do acampamento de verão? Quais amostras poderiam ser obtidas e como eles poderiam testá-las?

5. Os programas de detecção de aves portadoras do vírus da encefalite (hospedeiros) e os mosquitos (vetores) podem ajudar a identificar a presença do vírus La Crosse nos ambientes de acampamento de verão. As aves podem ser testadas para a presença do anticorpo contra o vírus, ou ainda, sangue de aves e mosquitos pode ser analisado por RT-PCR para pesquisa do genoma viral.

Bibliografia

Bishop DHL, Shope RE. Bunyaviridae. In: Fraenkel-Conrat H, Wagner RR, editors. *Comprehensive Virology, vol 14*. New York: Plenum, 1979.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses, 2nd ed, Washington, DC: ASM Press, 2003.

Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Kolakofsky D. Bunyaviridae. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 169*. Berlin: Springer-Verlag; 1991.

McKee KT, LeDuc JW, Peters CJ. Hantaviruses. In Belshe RB, editor: *Textbook of Human Virology*, 2nd ed, St Louis: Mosby, 1991.

Oldstone MBA. Arenaviruses I and II. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vols 262–263*. Berlin: Springer-Verlag; 2002.

Peters CJ, LeDuc JW. Bunyaviruses, Phleboviruses and related viruses. In Belshe RB,

editor: *Textbook of Human Virology*, 2nd ed, St Louis: Mosby, 1991.
Peters CJ, Simpson GL, Levy H. Spectrum of hantavirus infection: Hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. *Annu Rev Med*. 1999;50:531-545.
Schmaljohn CS, Nichol ST. Hantaviruses. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 256*. Berlin: Springer-Verlag; 2001.
Strauss JH, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed, San Diego: Academic, 2007.
Tsai TF. Arboviral infections in the United States. *Infect Dis Clin North Am*. 1991;5:73-102.
Wrobel S. Serendipity, science, and a new hantavirus. *FASEB J*. 1995;9:1247-1254.

Sites

Centers for Disease Control and Prevention, Lassa fever facts (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/lassaf.htm.
Centers for Disease Control and Prevention, LCM virus facts (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/lcmv.htm.
Centers for Disease Control and Prevention, Hantavirus facts (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hanta/hps/index.htm.
Centers for Disease Control and Prevention, La Crosse virus facts (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/arbor/lacfact.htm.
Mylonakis et al., Mylonakis E Emad Soliman E, Perez N, Gotuzzo E California encephalitis (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic3161.htm.

64 Retrovírus

Os retrovírus são provavelmente o grupo de vírus mais estudado na biologia molecular. São vírus **envelopados, de ácido ribonucleico** (**RNA**) **de fita positiva**, com morfologia e meios de replicação únicos. Em 1970, Baltimore e Temin demonstraram que os retrovírus codificam uma **polimerase de ácido desoxirribonucleico** (**DNA**) **RNA-dependente** (**transcriptase reversa** [**RT**]) e se replicam através de um intermediário de DNA. A cópia de DNA do genoma viral é então integrada ao cromossoma do hospedeiro, se tornando um gene celular. Esta descoberta, que lhes valeu o Prêmio Nobel, contradizia o que era o dogma central da biologia – que a informação genética passava do DNA para o RNA e então para as proteínas.

O primeiro retrovírus isolado foi o vírus do sarcoma de Rous, que, como demonstrado por Peyton Rous, produzia tumores sólidos (sarcomas) em galinhas. Como a maioria dos retrovírus, o vírus do sarcoma de Rous provou ter uma gama muito limitada de espécies e hospedeiros. Retrovírus causadores de câncer têm sido, desde então, isolados de outras espécies animais e são classificados como vírus tumorais de RNA ou **oncornavírus**. Muitos desses vírus alteram o crescimento celular através da expressão de análogos de genes controladores do crescimento celular (**oncogenes**). Entretanto, somente em 1981, quando Robert Gallo e colaboradores isolaram o vírus linfotrópico 1 da célula T humana (HTLV-1 – *human T-lymphotropic virus 1*) de uma pessoa com leucemia de células T humana adulta, um retrovírus humano foi associado a uma doença humana.

No final da década de 1970 e início da década de 1980, um número incomum de homens jovens homossexuais, haitianos, viciados em heroína e hemofílicos nos Estados Unidos (o grupo de risco inicial do “clube dos 4H”) estava morrendo devido a infecções oportunistas normalmente benignas. Os seus sintomas definiam uma doença nova, a **síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS –*acquired immune deficiency syndrome***). Entretanto, como se sabe atualmente, a AIDS não é limitada apenas a esses grupos, mas pode ocorrer em qualquer pessoa exposta ao vírus. Hoje, aproximadamente 40 milhões de homens, mulheres e crianças em todo o mundo convivem com o vírus que causa AIDS. Montagnier e colaboradores em Paris, e Gallo e colaboradores nos Estados Unidos, anunciaram o isolamento do vírus da imunodeficiencia humana (HIV-1 – *human immunodeficiency virus)* em pacientes com linfadenopatia e AIDS. Uma variante do HIV-1, denominada **HIV-2** foi isolada mais tarde e prevalece no Oeste da África. O HIV parece ter evoluído, desde os anos 1930, de um vírus de chimpanzé e depois ter se espalhado rapidamente pela África e pelo mundo através de uma população de mobilidade crescente. Embora seja uma doença devastadora que não pode ser completamente curada, o desenvolvimento de coquetéis de drogas antivirais (HAART – *higly active antiretroviral therapy*, terapia antirretroviral altamente ativa) permitiu que muitos pacientes com HIV voltassem a ter uma vida normal.

A nossa compreensão das retroviroses tem crescido paralelamente com o progresso da biologia molecular. Por outro lado, os retrovírus forneceram importante ferramenta para a biologia molecular, a enzima transctriptase reversa, e, através do estudo dos oncogenes virais, forneceram também um meio para avançar nosso entendimento do crescimento, diferenciação e oncogênese celular.

As três subfamílias de retrovírus humanos são a ***Oncovirinae***, ou oncovírus (HTLV-1, HTLV-2. HTLV-5); a ***Lentivirinae*** (HIV-1, HIV-2); e a ***Spumavirinae*** (Tab. 64-1). Embora um spumavírus tenha sido o primeiro retrovírus humano a ser isolado, nenhum vírus dessa subfamília foi associado à doença humana. **Retrovírus endógenos**, os parasitas mais perfeitos, são integrados, transmitidos verticalmente e podem constituir até 1% dos cromossomos humanos. Embora não possam produzir vírions, suas sequências genéticas foram detectadas em muitas espécies animais e em humanos.

Tabela 64-1 Classificação dos Retrovírus

Subfamília	Características	Exemplos
Oncovirinae	Estão associados a câncer e transtornos neurológicos	—
B	Têm o cerne do nucleocapsídeo excêntrico no vírion maduro	Vírus do tumor mamário do camundongo
C	Têm o cerne do nucleocapsídeo localizado centralmente no vírion maduro	Vírus linfotrópico da célula T humana* (HTLV-1), HTLV-2, HTLV-5), vírus do sarcoma de Rous (galinhas)
D	Têm o cerne do nucleocapsídeo com forma cilíndrica	Vírus símio de Mason-Pfizer
Lentivirinae	Têm a doença com um início lento; causam transtornos neurológicos e imunossupressão; são vírus com o cerne do nucleocapsídeo cilíndrico do tipo D	Vírus da imunodeficiência humana* (HIV-1, HIV-2); visna vírus (carneiro); vírus da artrite/encefalite caprina (cabras)
Spumavirinae	Não causam doença clínica, mas provocam uma citopatologia vacuolizada "espumosa" característica	Spumavírus humano*
Vírus endógenos	Têm sequências de retrovírus que são integradas ao genoma humano	Vírus placentário humano

***** *Também classificados como retrovírus complexos devido à necessidade de proteínas assessórias para a replicação*.

Classificação

Os retrovírus são classificados pelas doenças que causam tropismo tecidual e faixa de hospedeiros, morfologia do vírion e complexidade genética (Fig. 64-1). Os **oncovírus** incluem os únicos retrovírus que podem **imortalizar ou transformar células-alvo**. Estes vírus também são categorizados pela morfologia de seu cerne (ou *core*) e capsídeo, à microscopia eletrônica, nos tipos A, B, C ou D (Fig. 64-1; Tab. 64-1). Os lentivírus **são vírus lentos associados a doenças neurológicas e imunossupressoras**. Os spumavírus, representados por um vírus espumante, causam um efeito citopatológico característico, mas, como já foi citado, não parecem causar doenças clínicas.

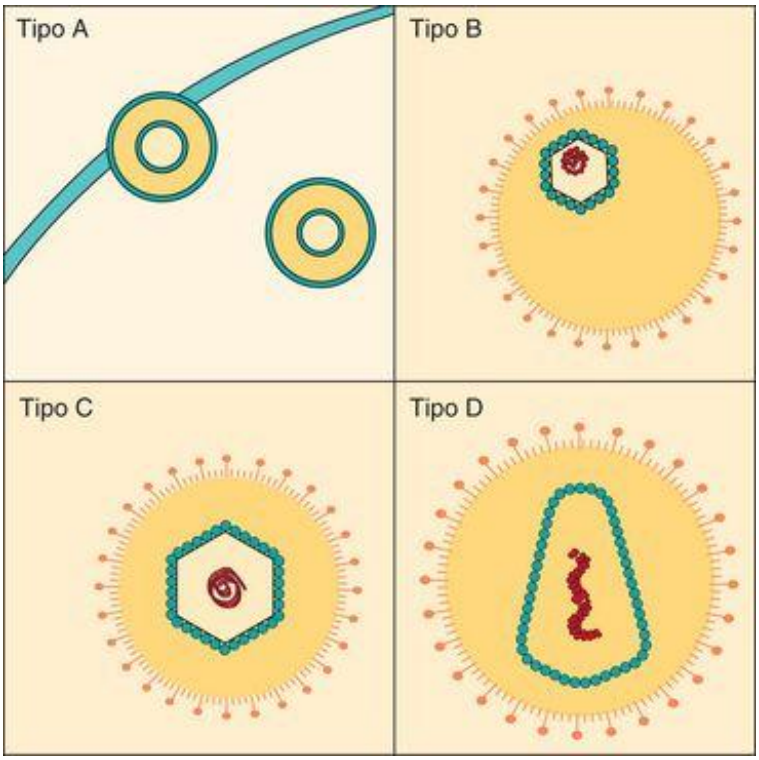


Figura 64-1 Distinção morfológica dos retrovírus. A morfologia e composição do cerne do nucleocapsídeo são usadas para classificar os vírus. As partículas do tipo A são formas intracitoplasmáticas imaturas que brotam através da membrana plasmática formando partículas maduras dos tipos B, C e D.

Estrutura

Os retrovírus são vírus de RNA envelopados, aproximadamente esféricos, com um diâmetro de 80 a 120nm (Fig. 64-2 e Quadro 64-1). O envelope contém glicoproteínas virais e é adquirido pelo brotamento a partir da membrana plasmática. O **envelope cerca um capsídeo que contém duas cópias idênticas do genoma de RNA de fita positiva** dentro de um cerne eletrondenso. O vírion também contém entre 10 e 50 cópias das **enzimas transcriptase reversa e integrase** e **2 RNAs de transferência celular** (tRNAs). Estes tRNAs estão associados a cada cópia do genoma por pareamento de bases e servem como iniciadores para a transcriptase reversa. A morfologia do cerne difere entre os distintos vírus e é usada como um meio de classificaçãodos retrovírus (Fig. 64-1). O cerne do vírion do HIV se assemelha a um cone seccionado (Fig. 64-3).

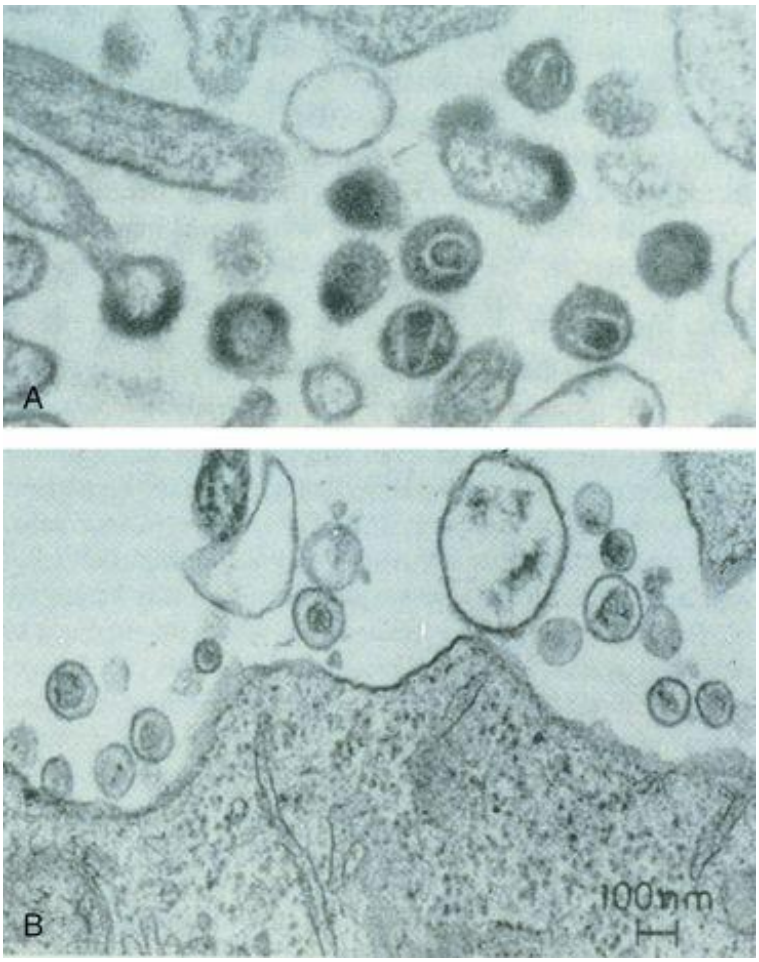


Figura 64-2 Micrografias eletrônicas de dois retrovírus. **A**, vírus da imunodeficiência humana. Note o nucleocapsídeo em forma de cone em muitos vírions. **B**, Vírus da leucemia de células T humanas. Note a morfologia do tipo C, caracterizada por um nucleocapsídeo central simétrico.

(De Belshe RB: Textbook of Human Virology, 2nd ed. St Louis, Mosby, 1991.)

Quadro 64-1 Propriedades Características dos Retrovírus

O vírus possui um vírion esférico **envelopado** de 80 a 120nm de diâmetro e engloba um capsídeo contendo **duas** cópias do genoma de **RNA de fita positiva** (aproximadamente 9 quilobases para HIV e HTLV).

As enzimas DNA polimerase RNA-dependente (**transcriptase reversa**) e integrase são carreadas no vírion.

O receptor do vírus é o determinante inicial do tropismo tecidual.

A replicação ocorre através de um intermediário de DNA, chamado de *pró-vírus*.

O pró-vírus se **integra** aleatoriamente a um cromossoma do hospedeiro e se torna um gene celular.

A transcrição do genoma é regulada pela interação de fatores de transcrição do hospedeiro com elementos promotores e iniciadores presentes na repetição terminal longa (LTR) do genoma.

Os **retrovírus simples** codificam os genes *gag, pol* e *env*. Os **vírus complexos** também codificam genes assessórios (p. ex., *tat, rev, nef, vif* e *vpu* para HIV).

O vírus é montado e brota a partir da membrana plasmática.

A morfogênese final do HIV *requer* a clivagem por protease dos polipeptídeos gag e gag-pol após o envelopamento.

HIV, vírus da imunodeficiência humana; HTLV, vírus linfototrópico de célula T humana.

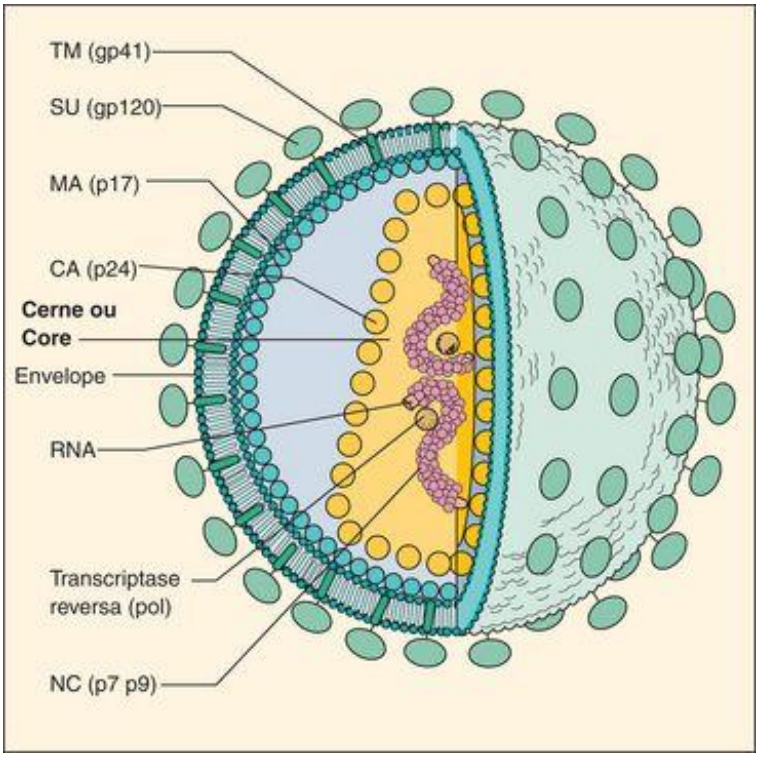


Figura 64-3 Corte transversal do vírus da imunodeficiência humana. O vírion envelopado contém duas fitas idênticas de RNA, RNA polimerase, integrase, e 2 RNAs de transferência (tRNAs), com bases pareadas com o genoma dentro do cerne proteico. Este é cercado por proteínas e uma bicamada lipídica. As projeções do envelope são a glicoproteína (gp) 120, proteína de ligação e a gp41, proteína de fusão.

(Redesenhado de Gallo RC, Montagnier L: Sci Am 259:41-51, 1988.)

O genoma dos retrovírus apresenta um 5′-*cap* e é poliadenilado na terminação 3′ (Fig. 64-4 e Tab. 64-2). Embora o genoma se pareça a um RNA mensageiro (mRNA), não é infeccioso, porque não codifica uma polimerase que possa gerar diretamente mais mRNA. O genoma dos

retrovírus simples *consiste em três genes principais que codificam poliproteínas* para as seguintes proteínas enzimáticas e estruturais do vírus: **gag** (antígeno específico do grupo, *capsídeo, matriz e proteínas de ligação de ácido nucleico*) , **pol** *(polimerase, protease* e *integrase)* e **env** (envelope, *glicoproteínas)*. Em cada extremidade do genoma existem sequências de **repetições terminais longas** (**LTR – *long-terminal repeat***). As sequências de LTR contêm promotores, amplificadores e outras sequências gênicas usadas para a ligação de diferentes fatores de transcrição celular. Vírus oncogênicos também podem conter um **oncogene** regulador do crescimento. Os **retrovírus complexos**, HTLV e os lentivírus (incluindo HIV), também *codificam diversas proteínas amplificadoras de virulência* que precisam de um processamento transcricional mais complexo que os retrovírus simples.

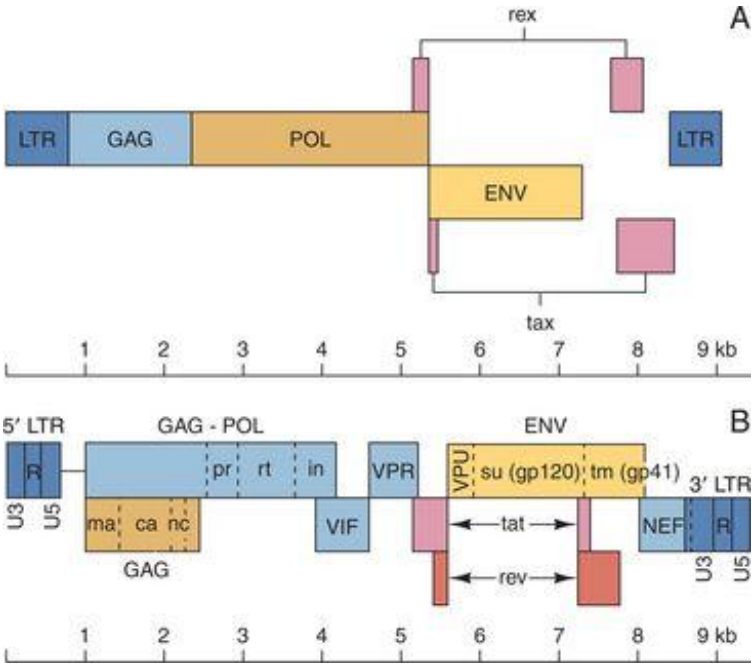


Figura 64-4 Estrutura genômica dos retrovírus humanos. **A**, Vírus linfotrópico de célula T humana (HTLV-1). **B**, Vírus da imunodeficiência humana (HIV-1). Os genes estão na Tabela 64-2 e Figura 64-7. Ao contrário de outros genes destes vírus, a produção do RNA mensageiro para *tax* e *rex* (HTLV-1) e *tat* e *rev* (HIV) requer a excisão de unidades de íntrons. O HIV-2 possui um mapa genômico semelhante. A vpu do HIV-2 é chamada de vpx. LTR, repetição terminal longa. Nomenclatura de proteínas do HIV: ca, proteína do capsídeo; in, integrase; ma, proteína da matriz; nc, proteína do nucleocapsídeo; pr, protease; rt, transcriptase reversa; su, componente de superfície da glicoproteína; tm, componente transmembrana da glicoproteína.

(Redesenhado de Belshe RB: Textbook of Human Virology, 2nd ed. t Louis, Mosby, 1991.)

Tabela 64-2 Genes dos Retrovírus e suas Funções

Gene	Vírus	Funções
Gag	Todos	Antígeno específico de grupo: proteínas do cerne e capsídeo
Int	Todos	Integrase
Pol	Todos	Polimerase: transcriptase reversa, protease, integrase
Pro	Todos	Protease
Env	Todos	Envelope: glicoproteínas
Tax	HTLV	Transativação de genes virais e celulares
Tat	HIV-1	Transativação de genes virais e celulares
Rex	HTLV	Regulação do processamento de RNA e promoção de exportação para o citoplasma
Rev	HIV-1	Regulação do processamento de RNA e promoção de exportação para o citoplasma
Nef	HIV-1	Alteração de sinais de ativação celular: progressão para AIDS (essencial)
Vif	HIV-1	Infectividade do vírus, promoção da montagem, bloqueio de uma proteína antiviral celular
Vpu	HIV-1	Facilita a montagem e liberação do vírion, redução de CD4 na superfície

Vpu	HIV-1	celular
Vpr (*vpx**)	HIV-1	Transporte de DNA complementar para o núcleo, bloqueando o crescimento celular
LTR	Todos	Elementos promotores e amplificadores

HIV, vírus da imunodeficiência humana; HTLV, vírus linfotrópico da célula T humana; LTR, repetição terminal longa (sequência).

* *Em HIV-2.*

As glicoproteínas virais são produzidas pela clivagem proteolítica da poliproteína codificada pelo gene *env*. O tamanho das glicoproteínas difere entre cada grupo de vírus. Por exemplo, a (glicoproteína) gp62 do HTLV-I é clivada em gp46 e p21, e a *gp 160* do *HIV é clivada em gp41 e gp120*. Estas glicoproteínas formam espículas trímeras semelhantes a pirulitos, que são visíveis sobre a superfície do vírion. A maior das glicoproteínas se liga a receptores da superfície celular, determina inicialmente o tropismo tecidual do vírus e é reconhecida por anticorpos neutralizantes. A subunidade menor (gp41 no HIV) forma o cabo do pirulito e promove a fusão célula-célula. A gp120 do HIV é extensamente glicosilada e *sua antigenicidade e especificidade de receptor podem mudar durante o curso de uma infecção crônica por HIV*. Estes fatores impedem a eliminação do vírus pela resposta imune.

Replicação

A replicação dos retrovírus humanos, por exemplo HIV, inicia com a ligação das espículas de glicoproteínas virais (trímero de moléculas de gp120 e gp41) ao receptor primário, **a proteína CD4**, e a um segundo receptor, um receptor de quimiocinas transmembrana ligado à proteína G (Fig. 64-5). O correceptor é **CCR5** expresso nos **macrófagos, células T periféricas e outras células T ([M]-trópico**) ou um outro receptor de quimiocinas (**CXCR4**), que é primariamente expresso nas células T (**T-trópico**) (Fig. 64-6). Quimiocinas são pequenos peptídeos envolvidos na promoção de respostas inflamatórias e quimiotaxia. Uma pequena porcentagem de pessoas é resistente à infecção porque apresenta mutações nestes correceptores. A ligação ao receptor de quimiocinas aproxima o envelope viral e a membrana plasmática celular e permite que a gp41 interaja com as duas membranas, promovendo sua fusão. Este mecanismo de fusão é o alvo de uma droga antiviral que interfere com a ação de gp41. O HIV pode também se ligar a uma molécula de adesão celular, a integrina alfa4beta7, presente no tecido linfoide associado ao intestino.

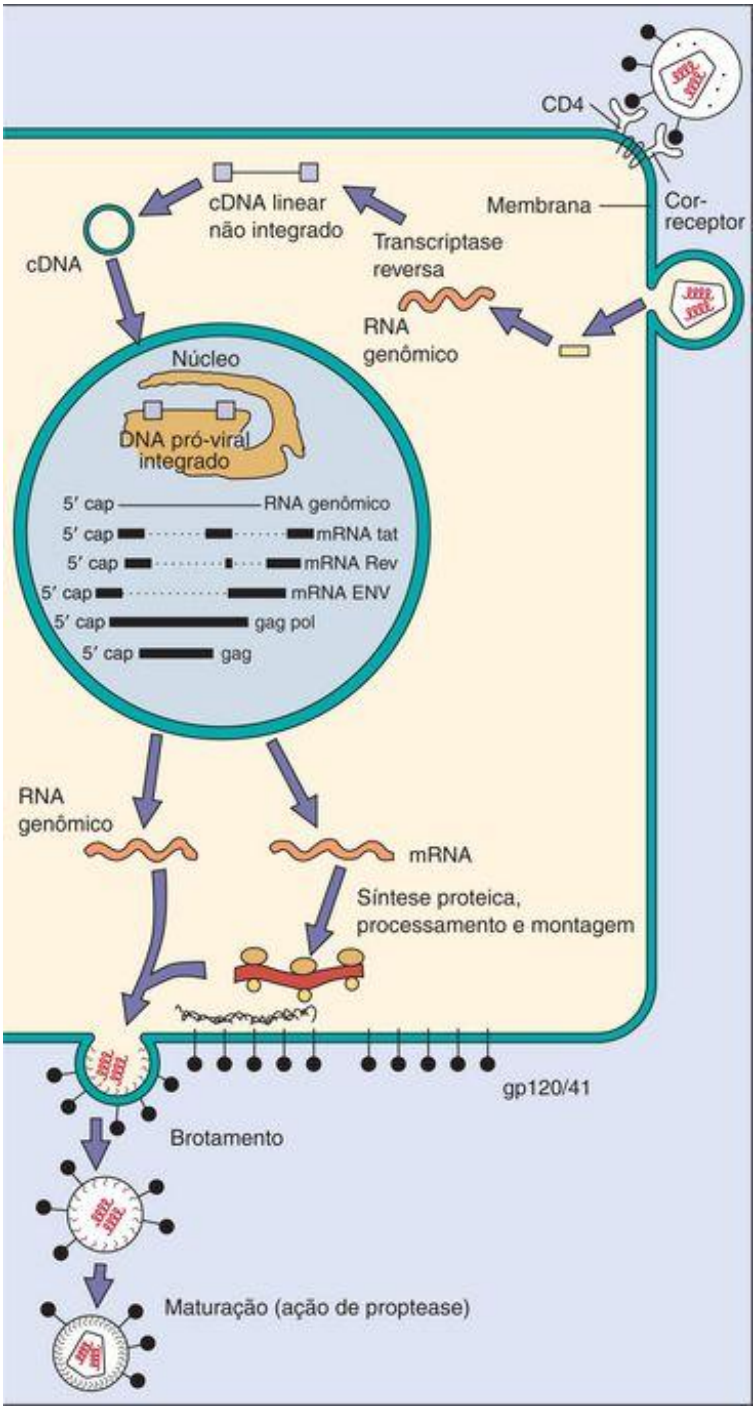


Figura 64-5 O ciclo de vida do vírus da imunodeficiência humana (HIV). O HIV se liga ao CD4 e coreceptores de quimiocinas e penetra por fusão. O genoma é transcrito reversamente para DNA no citoplasma e integrado ao DNA nuclear. A transcrição e a tradução do genoma ocorrem de maneira semelhante às do vírus linfotrópico de célula T humana (HTLV-1) (Fig. 64-7). O vírus é montado na membrana plasmática e matura após o brotamento a partir da célula. cDNA, DNA complementar.

(Redesenhado de Fauci AS: Science 39:617-622, 1988.)

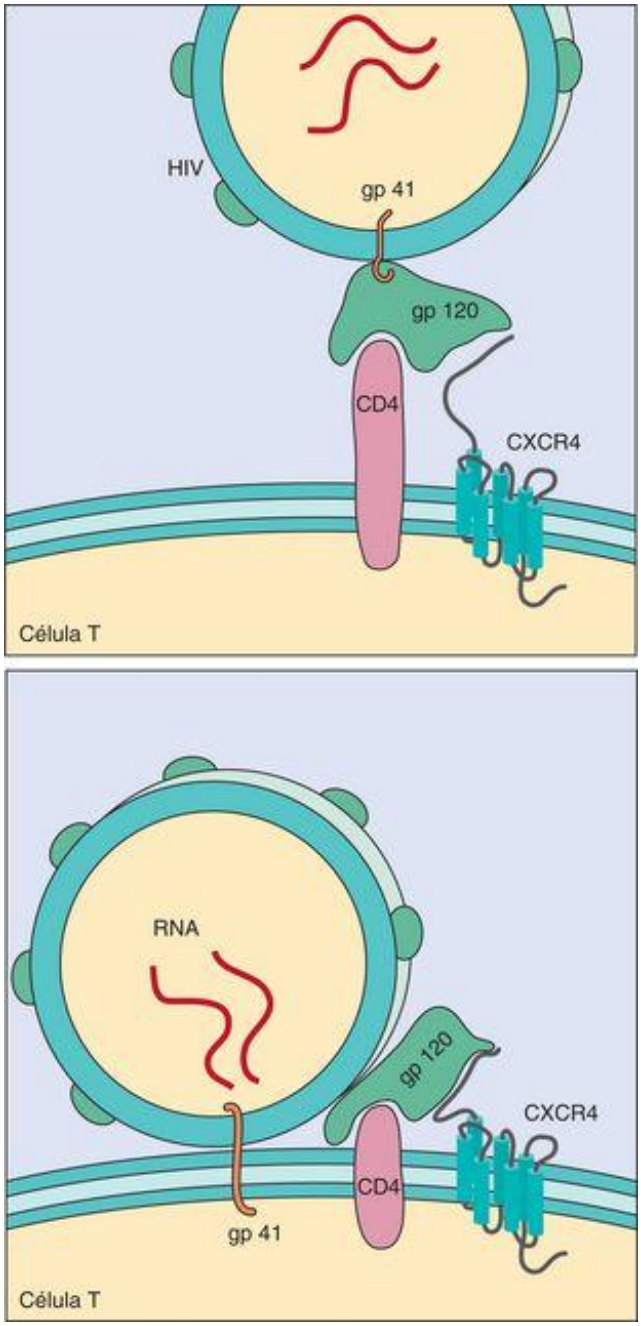


Figura 64-6 Ligação do vírus da imunodeficiência humana à célula-alvo.

(Redesenhado de Balter M: Science 274:1988, 1996.)

Uma vez o genoma seja liberado no citoplasma, inicia-se a fase precoce de replicação. A transcriptase reversa, codificada pelo gene *pol*, utiliza o tRNA presente no vírion como um iniciador (*primer*) e sintetiza um DNA **complementar** (**cDNA**), de fita negativa. A transcriptase reversa também atua como uma ribonuclease H, degrada o genoma de RNA e então sintetiza a fita positiva do DNA (Fig. 64-7). A transcriptase reversa é o principal alvo de drogas antivirais. Durante a síntese do DNA do vírion (**pró-virus**), sequências de cada terminação do genoma (U3 e U5) são duplicadas, desta forma ligando as LTRs a ambas as terminações. Este processo cria sequências necessárias para a integração e *sequências promotoras e amplificadoras dentro da LTR para a regulação da transcrição*. A cópia de DNA do genoma é maior que o RNA original.

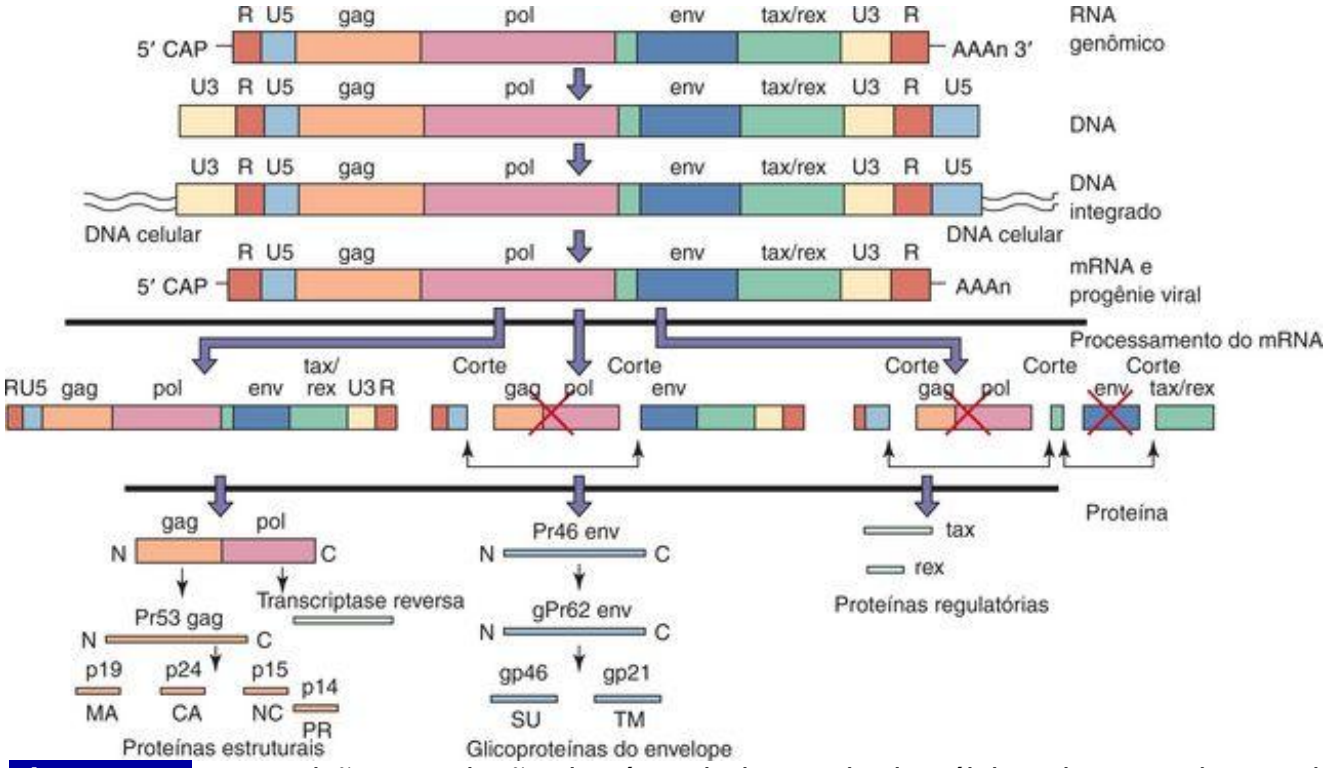


Figura 64-7 Transcrição e tradução do vírus da leucemia de célula T humana (HTLV-1). (Uma abordagem similar, porém mais complexa, é usada para o vírus da imunodeficiência humana [HIV]). Todos os RNAs mensageiros (mRNAs) de HTLV-1 e HIV incluem a terminação 5 do genoma. O mRNA para tax e rex requer a excisão de duas sequências *(X vermelho)*, as sequências gag-pol e env. Os outros mRNAs, incluindo o mRNA de env, requerem a excisão de uma sequência. A tradução destes mRNAs produz poliproteínas, que são subsequentemente clivadas. Nomenclatura dos genes: *env*, glicoproteína do envelope; *gag*, gene do antígeno de grupo; *pol*, polimerase; *rex*, regulador do processamento; *tax*, transativador. Nomenclatura das proteínas: C, porção carboxiterminal do peptídeo; CA, capsídeo; MA, matriz; N, porção aminoterminal; NC, nucleocapsídeo; PR, protease; SU, componente de superfície; TM, componente transmembrana da glicoproteína do envelope. Prefixos: gp, glicoproteína; gPr, poliproteína precursora glicosilada; p, proteína; PR, poliproteína precursora.

A transcriptase reversa é muito suscetível a erros. Por exemplo, a taxa de erros da transcriptase reversa do HIV é de um erro a cada 2.000 bases, ou aproximadamente cinco erros por genoma (HIV, 9.000 pares de bases), o equivalente a pelo menos um erro de digitação a cada página deste texto, porém diferente em cada livro. Esta instabilidade genética do HIV é responsável por promover a geração de novas amostras do vírus durante a doença de uma pessoa, uma propriedade que pode alterar a patogenicidade do vírus e promover escape à resposta imune.

O cDNA de fita dupla é então transportado para o núcleo e inserido no cromossomo do hospedeiro com a ajuda de uma enzima, a **integrase**, codificada pelo vírus e transportada no vírion. A integração requer o crescimento celular, mas o cDNA do HIV e de outros lentivírus pode permanecer no núcleo e citoplasma na forma de um DNA circular não integrado até que a célula seja ativada.

Uma vez integrado, se inicia a fase tardia e o DNA viral (chamado de **provírus**) é transcrito como um gene celular pela RNA polimerase II do hospedeiro. A transcrição do genoma produz um RNA total que, nos retrovírus simples, é processado formando vários mRNAs, que contêm apenas as sequências do gene *gag, gag-pol* ou *env*. Os transcritos completos do genoma podem ser capturados dentro de novos vírions.

Pelo fato de o pró-vírus atuar como um gene celular, sua replicação depende da extensão da metilação do DNA viral e da taxa de crescimento celular, mas principalmente da capacidade da célula de reconhecer as sequências promotoras e amplificadoras codificadas na região LTR. A estimulação da célula, em resposta a outras infecções (através da ação das citocinas ou mitógenos), produz fatores de transcrição que se ligam às LTR e podem ativar a transcrição

do vírus. Se o vírus codifica oncogenes virais, pode promover o crescimento celular e estimular a transcrição e, portanto, a replicação viral. *A capacidade de uma célula transcrever o genoma retroviral é o segundo principal determinante do tropismo tecidual e faixa de hospedeiros de um retrovírus*.

HTLV e HIV são retrovírus complexos e passam por duas fases de transcrição. Durante a fase inicial, o HTLV-I expressa duas proteínas, **tax** e **rex**, que regulam a replicação viral. Diferente dos outros mRNAs virais, o mRNA para tax e rex requer mais de uma etapa de processamento. O gene *rex* codifica duas proteínas que se ligam a uma estrutura no mRNA viral; com isso, impede o processamento posterior e promove o transporte do mRNA para o citoplasma. O mRNA de tax/rex, processado duas vezes, é expresso precocemente (em uma baixa concentração de rex) e as proteínas estruturais são expressas tardiamente (alta concentração de rex). Na fase tardia da infecção, rex amplifica seletivamente a expressão dos genes estruturais processados uma vez, que são necessários em abundância. A proteína tax é um **ativador transcricional** e amplifica a transcrição do genoma viral a partir da sequência do gene promotor na LTR 5′. Tax também ativa outros genes, incluindo interleucina-2 (IL-2), IL-3, fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos e o receptor de IL-2. A ativação desses genes promove o crescimento da célula T infectada.

A replicação do HIV é regulada por seis **produtos genéticos "acessórios"** (Tab. 64-2). O **tat**, como o tax, é um transativador da transcrição de genes virais e celulares. O rev atua como a proteína rex regulando e promovendo o transporte do mRNA viral para o citoplasma. A proteína **nef** reduz a expressão de CD4 na superfície celular e moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC I), altera as vias de sinalização de células T, regula a citotoxicidade do vírus e é requerida para manter altas cargas virais. A proteína nef parece ser essencial em provocar a progressão da infecção para AIDS. A proteína **vif** promove a montagem e maturação viral, também se liga a uma proteína celular antiviral (APOBEC-3G) para impedi-la de hipermutar o cDNA, ajudando o vírus a se replicar em células mieloides e outras. O **vpu** reduz a expressão de CD4 na superfície celular e amplifica a liberação do vírion. O **vpr** (vpx no HIV-2) é importante para o transporte de cDNA para o núcleo e para a replicação viral em células que não crescem como os macrófagos. VPR também paralisa a célula na fase G2 do ciclo de crescimento, que é provavelmente ótimo para a replicação do HIV. A célula também controla a replicação do HIV, e a ativação da célula T por uma citocina, mitógeno ou antígeno também promove a replicação viral.

As proteínas traduzidas a partir dos mRNAs gag, gag-pol e env são sintetizadas como poliproteínas e em seguida clivadas para proteínas funcionais (Fig. 64-7). As glicoproteínas virais são sintetizadas, glicosiladas e processadas pelo retículo endoplasmático e aparelho de Golgi. Estas glicoproteínas são então clivadas em subunidades que atravessam a membrana e subunidades extracelulares da proteína de ligação viral, que se associam para formar trímeros e migrar para a membrana plasmática.

As poliproteínas gag e gag-pol são aciladas e então se ligam à região da membrana plasmática que contém as glicoproteínas de envelope. A associação de duas cópias do genoma e moléculas do RNA de transferência celular promove o brotamento do vírion. Após o envelopamento e saída da célula, a protease viral cliva as poliproteínas gag e gag-pol para liberar a transcriptase reversa e formar o cerne do vírion, garantindo a inclusão desses componentes no vírion. A etapa da protease é requerida para a produção de vírions infecciosos, e é alvo de drogas antivirais.

O envelopamento e liberação de retrovírus ocorrem na superfície celular. No brotamento, o envelope do HIV capta proteínas celulares, inclusive moléculas do MHC. A replicação e o brotamento dos retrovírus não necessariamente destroem a célula. O HIV também pode se disseminar de célula a célula através da produção de células gigantes multinucleadas, ou sincícios. Os sincícios são frágeis, e sua formação aumenta a atividade citolítica do vírus.

Vírus da Imunodeficiência Humana

Patogênese e Imunidade

O principal determinante na patogênese e doença causadas por HIV é o **tropismo do vírus por células T e macrófagos que expressam CD4** (Quadro 64-2 e Fig. 64-8). A imunossupressão induzida pelo HIV (AIDS) resulta da redução no número de células T CD4, o que dizima as funções auxiliares e de hipersensibilidade tardia (DTH) da resposta imune.

Quadro 64-2 Mecanismos Patológicos do HIV

O vírus da imunodeficiência humana infecta principalmente células T CD4 e células da linhagem dos macrófagos (p. ex., monócitos, macrófagos, macrófagos alveolares pulmonares, células dendríticas da pele e células microgliais do cérebro).

O vírus causa infecção lítica de células T CD4 e infecção persistente pouco produtiva de células da linhagem dos macrófagos.

O vírus provoca a formação de sincícios, em células expressando grande quantidade de antígeno CD4 (células T), com subsequente lise celular.

O vírus altera a função de células T e macrófagos.

O vírus reduz os números das células T CD4 e a manutenção auxiliadora para células T CD8 e para a função de macrófagos.

Os números das células T CD8 e a função dos macrófagos diminuem.

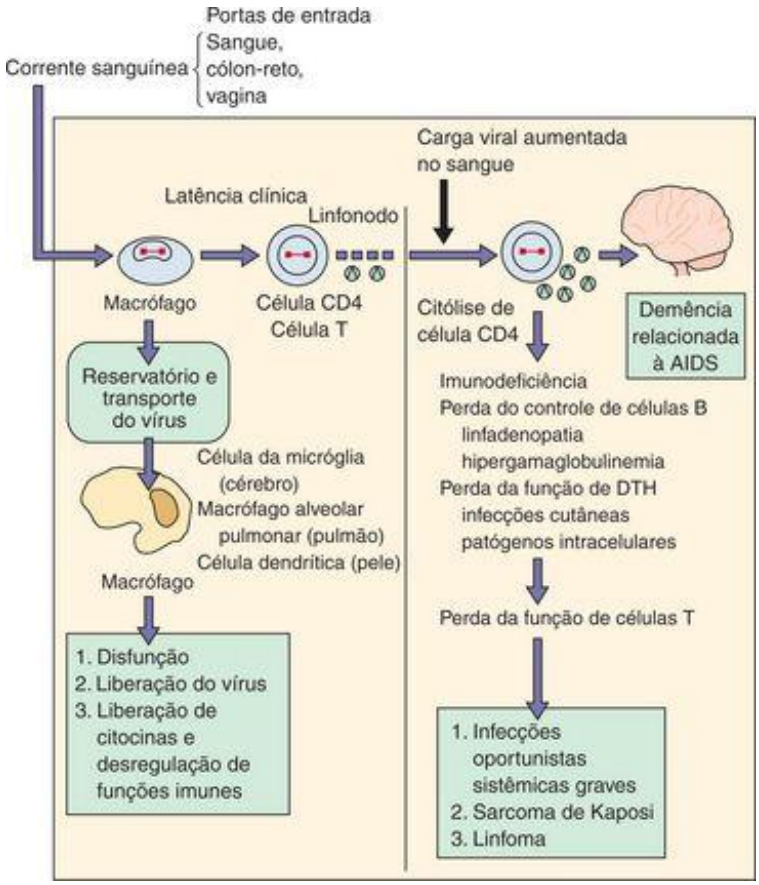


Figura 64-8 Patogênese do vírus da imunodeficiência humana (HIV). O HIV causa infecções líticas e latentes de células T CD4, infecções persistente de células da família de monócitos-macrófagos e afeta a função de neurônios. Os resultados destas ações são a imunodeficiência e demência relacionada à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS).

DTH, hipersensibilidade tardia.

(Redesenhado de Fauci AS: Science 239:617-622, 1988.)

Durante a transmissão sexual, o HIV infecta uma superfície de mucosa, entra e rapidamente infecta células do tecido linfoide associado à mucosa (MALT). Os estágios iniciais de infecção são mediados pelos vírus M-trópicos, que se ligam ao CD4 e ao receptor de quimocinas CCR5 e infectam células dendríticas e outras células da linhagem de monócitos-macrófagos, assim como células T do sangue periférico. Indivíduos deficientes do receptor CCR5 também são mais resistentes à infecção por HIV, e a ligação de CCR5 é um alvo para drogas antivirais. O HIV se liga e pode permanecer na superfície de células dendríticas (DCs), incluindo DCs foliculares através de uma molécula de lectina, a DC-SIGN, promovendo assim a infecção de células T CD4. Macrófagos e DCs são infectados persistentemente pelo HIV, e são provavelmente os principais reservatórios e meios de distribuição do HIV (Cavalo de Troia). A mutação do gene *env* para a gp120 muda o tropismo do vírus de M-trópico (R5) para T-trópico (vírus X4). A gp120 do vírus T-trópico se liga ao CD4 e ao receptor de quimiocinas CXCR4. Alguns vírus podem usar ambos os receptores (R5X4). Tardiamente, com a progressão da doença, ocorre preferência de ligação ao receptor CXCR4, que está correlacionado com a progressão da doença.

Reduções no número de células T CD4 podem resultar da citólise direta induzida pelo HIV, citólise imune induzida por células T citotóxicas ou ativação crônica em resposta ao grande desafio dos antígenos do HIV, levando a uma rápida diferenciação terminal e morte de células T. A eliminação de células T expressando CCR5 depleta de células T CD4 o tecido linfoide associado ao intestino. O desenvolvimento dos sintomas da AIDS se correlaciona com a liberação aumentada do vírus no sangue, um aumento do vírus T-trópico e uma diminuição das células T CD4. Assim se observa um decréscimo subsequente do número total de células T (células expressando CD3), devido à ausência da função do T CD4 (o chamado T *helper* ou T auxiliar) (Fig. 64-9).

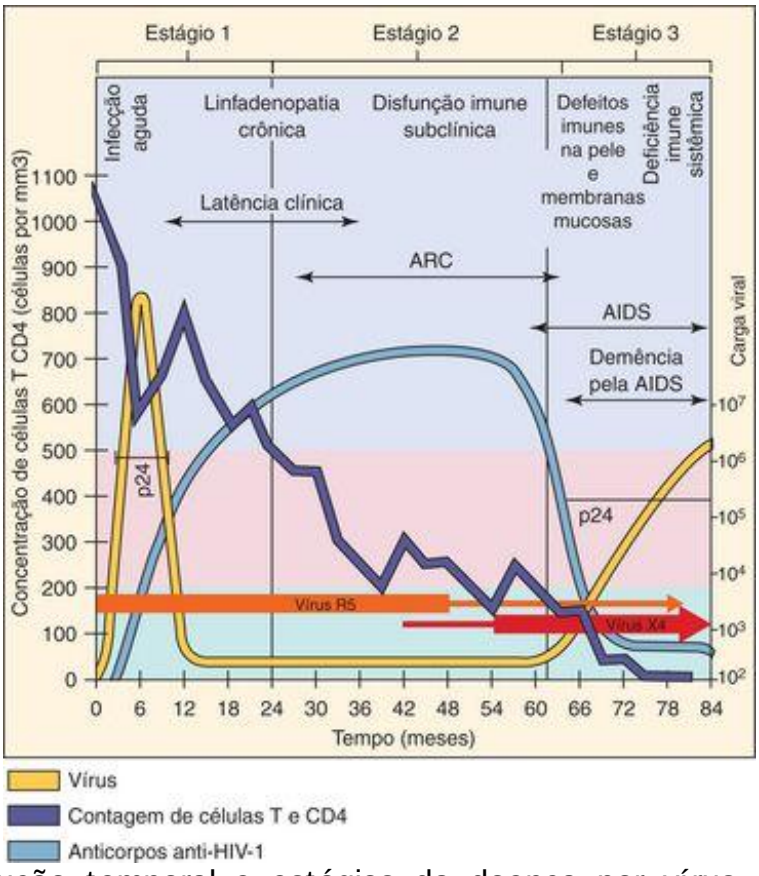


Figura 64-9 Evolução temporal e estágios da doença por vírus da imunodeficiência humana (HIV). Um longo período de latência clínica se segue aos sintomas iniciais semelhantes à mononucleose. A infecção inicial é com o vírus R5-M-trópico, e mais tarde

surge o vírus X4-T-Trópico. A diminuição progressiva no número de células T CD4, mesmo durante o período de latência, permite a ocorrência de infecções oportunistas. Os estágios da doença por HIV são definidos pelos níveis de células T CD4 e pela ocorrência de doenças oportunistas. ARC, complexo relacionado à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS).

(Redesenhado de Redfield RR, Buske DS: Sci Am 259:90-98, 1988, atualizado em 1996.)

O HIV induz diversos efeitos citopatológicos que podem destruir a célula T infectada (Tab. 64-3). Estes incluem um acúmulo de cópias do genoma de DNA circular não integrado, um aumento na permeabilidade da membrana plasmática, formação de sincícios e indução de apoptose (morte celular programada). A capacidade relativa do HIV de destruir a célula-alvo se correlaciona à quantidade de CD4 expressa pela célula. Os macrófagos podem ser poupados da ação citolítica do HIV porque expressam menos CD4 que as células T. As proteínas acessórias do HIV são importantes para a replicação e virulência. A proteína nef parece ser essencial para promover a progressão da infecção por HIV para AIDS. Indivíduos infectados com mutantes naturais de nef e primatas infectados com mutantes do vírus da imunodeficiência símia, que não possuem nef, apresentaram um tempo de sobrevida maior que o esperado (não progressores).

Tabela 64-3 Meios de Evasão do Sistema Imune pelo HIV

Característica	Função
Infecção de linfócitos e macrófagos	Inativação de elementos-chave da defesa imune
Inativação de células CD4 auxiliares	Perda do ativador do sistema imune e da hipersensibilidade tardia
Variação antigênica de gp120	Evasão da detecção por anticorpos
Intensa glicosilação de gp120	Evasão da detecção por anticorpos

A resposta imune contra o HIV restringe a infecção viral, mas contribui para a patogênese. Anticorpos neutralizantes são gerados contra gp120 e participam de respostas de citotoxicidade celular dependente de anticorpos. O vírus recoberto por anticorpos, entretanto, é infeccioso e é capturado por macrófagos. As células T CD8 são fundamentais para o controle da progressão da doença pelo HIV. Estas células podem destruir células infectadas por ação citotóxica direta e pela produção de fatores supressores que restringem a replicação viral, incluindo quimiocinas que também bloqueiam a ligação do vírus ao seu coreceptor. Entretanto, as células T CD8 requerem ativação por células T CD4, seu número diminui juntamente com o de células T CD4 e essa redução se correlaciona com a progressão para AIDS, sendo um indicador dessa progressão.

O HIV possui diversas maneiras de escapar ao controle imune. A mais significativa é a capacidade do vírus sofrer mutações e, portanto, alterar sua antigenicidade e escapar à eliminação por anticorpos. O HIV compromete todo o sistema imune por atacar as células T CD4. A infecção persistente de macrófagos e células T CD4 em repouso mantém o vírus em células e tecidos imunologicamente privilegiados (p. ex., sistema nervoso central e órgãos genitais) (Tab. 64-3).

A evolução da doença por HIV é paralela à redução no número de células T CD4 e ao aumento da carga viral no sangue (Fig. 64-9). Após a transmissão sexual, o HIV infecta e elimina as células T CD4 do tecido linfoide associado ao intestino (GALT- *gut-associated lymphoid tissue*). Durante a fase aguda da infecção ocorre uma grande expansão na produção viral (10^7 partículas por mL de plasma). A proliferação de células T e respostas contra as células linfoides e mieloides infectadas promovem uma síndrome semelhante à mononucleose. Os níveis de vírus no sangue diminuem durante um período clinicamente latente, mas a replicação viral continua nos linfonodos. O vírus também permanece latente em macrófagos e células T em repouso. Mais tarde na doença, a viremia aumenta, os níveis de CD4 são reduzidos significativamente, assim como os níveis de CD8, o vírus T-trópico aumenta, a estrutura dos linfonodos é destruída e o paciente se torna imunossuprimido.

O papel central das células T CD4 auxiliares na iniciação de uma resposta imune e de DTH (hipersensibilidade tardia - *delayed-type hypersensitivity*) é indicado pela extensão da perda da resposta imune causada pela infecção por HIV (Fig. 64-10). Células T CD4 ativadas iniciam respostas imunes pela liberação de citocinas necessárias para a ativação de macrófagos, outras células T, células B e células *natural killer*, NK. Quando as células T CD4 não estão disponíveis ou funcionais (número menor que 200 CD4 por microlitro), respostas imunes contra antígenos específicos (especialmente respostas imunecelulares) são incapacitadas, e as respostas humorais se tornam descontroladas. A perda das células T CD4 responsáveis pela ativação de macrófagos e da DTH permite o crescimento de muitas das infecções intracelulares oportunistas características da AIDS (p. ex., fungos e bactérias intracelulares). A diminuição do número de células T CD8 e a incapacidade de ativação destas células aumentam o potencial de recorrência dos vírus latentes, incluindo a leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML – *progressive multifocal leukoencephalopathy*) por poliomavírus JC, infecções por HSV, VZV e CMV, e, ainda, linfomas associados à EBV e sarcoma de Kaposi associado a HHV8.

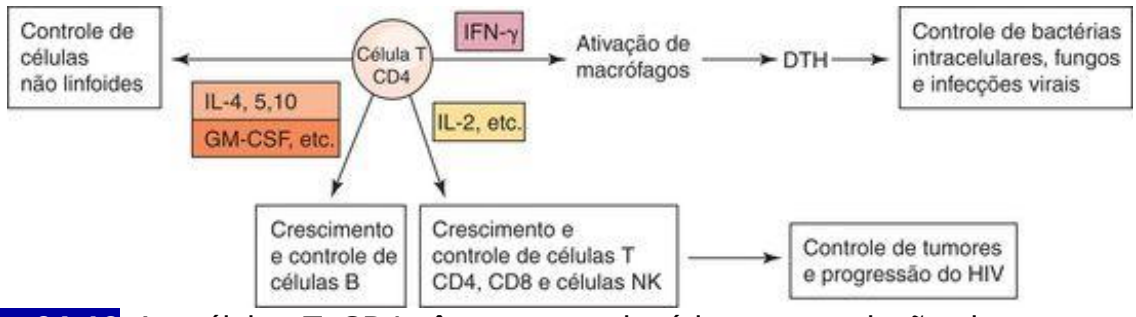


Figura 64-10 As células T CD4 têm um papel crítico na regulação da resposta imune humana por mediarem a liberação de fatores solúveis e a resposta de hipersensibilidade tardia (DTH) contra patógenos intracelulares. A perda de células T CD4 induzida pelo vírus da imunodeficiência humana resulta na perda das funções apresentadas, especialmente as respostas de DTH e o controle por linfocinas das respostas imunes.

Além da imunodepressão, o HIV também pode causar anormalidades neurológicas. As células da micróglia e macrófagos são os tipos celulares predominantemente infectados por HIV no cérebro. Monócitos e células da micróglia infectados podem liberar substâncias neurotóxicas ou fatores quimiotáxicos que promovem respostas inflamatórias e morte de neurônios no cérebro. A imunossupressão também põe o indivíduo sob risco de infecções oportunistas do cérebro.

Epidemiologia

A AIDS foi primeiramente descrita em homossexuais masculinos nos Estados Unidos, mas se disseminou em proporções epidêmicas pela população (Quadro 64-3). Em 2006, estimou-se que 6,6 milhões de novas infecções por HIV ocorriam por ano, com 3,5 milhões de mortes por ano sendo atribuídas a AIDS (de acordo com dados do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS [UNAIDS] e da Organização Mundial de Saúde [OMS]) (Figs. 64-11 e 64-12).

Quadro 64-3 Epidemiologia das Infecções por HIV

Doença/Fatores Virais

O vírus envelopado é facilmente inativado e deve ser transmitido por líquidos corporais.

A doença apresenta um longo período prodrômico.

O vírus pode ser liberado antes do desenvolvimento de sintomas identificáveis.

Transmissão

O vírus está presente no sangue, no sêmen e nas secreções vaginais. Ver a Tabela 64-4 quanto aos modos de transmissão.

Quem Está sob Risco?

Usuário de drogas intravenosas, pessoas sexualmente ativas com muitos parceiros (homossexuais e heterossexuais), prostitutas, neonatos de mães HIV-positivas. Receptores de sangue e transplante de órgãos e hemofílicos antes de 1985 (antes dos programas de pré-triagem).

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Há uma epidemia mundial em expansão.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Drogas antivirais limitam a progressão da doença.

As vacinas para prevenção e tratamento estão em ensaios clínicos.

O sexo seguro e monogâmico ajuda limitar a disseminação.

Devem ser usadas agulhas de injeção estéreis.

Programas de triagem em larga escala para transfusões de sangue, transplantes de órgãos e fatores da coagulação usados por hemofílicos.

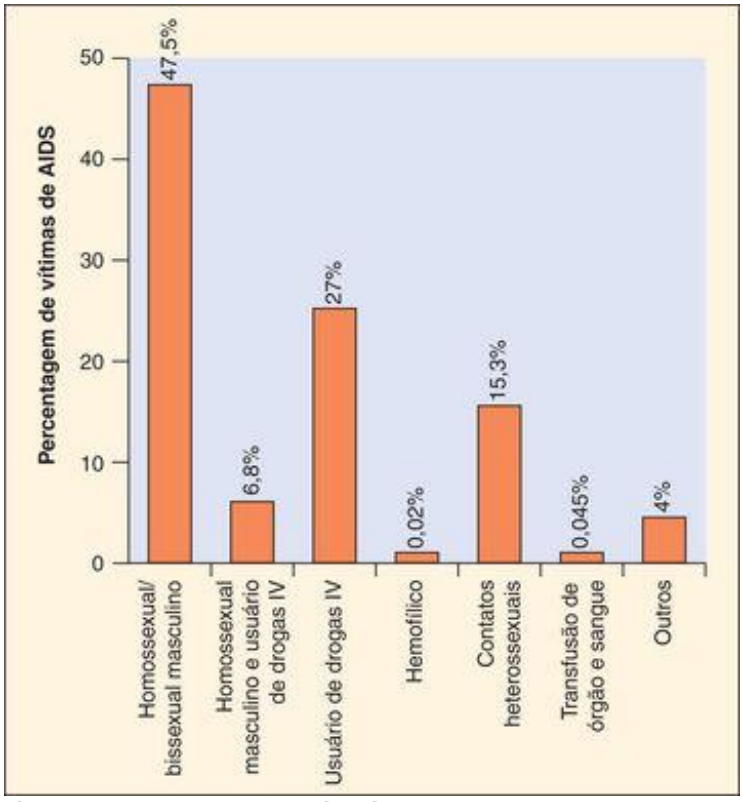


Figura 64-11 Estatísticas relacionadas à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) nos Estados Unidos, em dezembro de 2005. As percentagens de casos de AIDS estão apresentadas por categoria de exposição para homens, mulheres e crianças com menos de 13 anos de idade. Nos Estados Unidos, ao contrário da África e outras partes do mundo, os homossexuais masculinos representam a categoria de maior exposição. Entretanto, usuários de drogas intravenosas (IV) e parceiros heterossexuais estão se tornando mais prevalentes.

(De the Centers for Disease Control and Prevention, HIV/AIDS surveillance report online: disponível em http://www.cdc.gov/hiv/topics/surveillance/basic.htm#exposure)

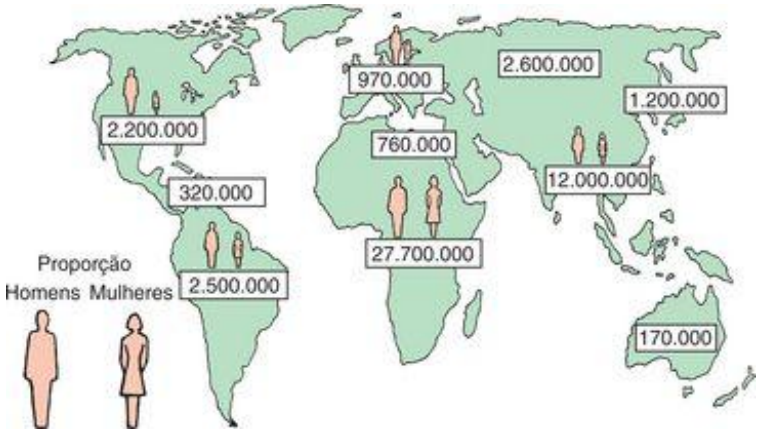


Figura 64-12 Estimativas (limite superior) do número de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no final de 2006. A estimativa cumulativa global total de adultos infectados pelo HIV em 2006 foi de aproximadamente 47 milhões: novas infecções, 6,6 milhões; mortes, 3,5 milhões. As taxas de infecção variam amplamente em diferentes regiões do mundo. As maiores taxas ocorrem na África subsaariana.

(Modificado de AIDS epidemic update [2006, online]: Disponível em http://data.unaids.org/pub/EpiReport/2006/12-Maps_2006_EpiUpdate_eng.pdf.)

Acredita-se que o HIV seja derivado de um vírus de imunodeficiência símia, sendo geneticamente muito similar a um vírus de chimpanzé. De fato, o HIV-2 é semelhante ao vírus da imunodeficiência símia. A primeira infecção humana ocorreu na África na década de 1930, porém permaneceu não notificada nas áreas rurais. A migração de pessoas infectadas para as cidades, após os anos de 1960, trouxe o vírus para os centros populacionais, tendo a aceitação cultural da prostituição contribuído para sua disseminação através da população.

Clades e Distribuição Geográfica

As infecções por HIV-1 estão se espalhando pelo mundo, com o maior número de casos de AIDS sendo encontrado na África subsaariana, mas um número crescente de casos está sendo relatado na Ásia, nos Estados Unidos e no resto do mundo (Fig. 64-12). O HIV-2 é mais prevalente na África (especialmente na oeste da África) do que nos Estados Unidos e em outras partes do mundo. A transmissão heterossexual é a principal forma de disseminação do HIV-1 e HIV-2 na África, sendo homens e mulheres igualmente acometidos por esses vírus. O HIV-2 produz uma doença semelhante a AIDS, porém com menor gravidade. Existem três principais genótipos do HIV-1, denominados M (principal), N e O, e 11 subtipos, ou **clades**, de M, denominados A-K (para o HIV-2, A-F). As denominações são baseadas em diferenças na sequência de seus genes env e *gag* e herdam a antigenicidade e o reconhecimento imune da gp120 e de proteínas do capsídeo desses vírus. Os diferentes clades têm diferentes distribuições geográficas ao redor do mundo.

Transmissão

A presença do **HIV no sangue, sêmen, e em secreções vaginais** de pessoas infectadas, aliado ao **longo e assintomático período de infecção** são fatores que têm promovido a disseminação da doença através do contato sexual, como da exposição a sangue contaminado e seus produtos (Tab. 64-4). Os fetos e recém-nascidos comumente adquirem o vírus de uma mãe infectada. O HIV, contudo, *não* é transmitido por contato casual, toque, abraço, beijo, tosse, espirro, picadas de insetos, água, comida, utensílios, toaletes, piscinas ou banhos públicos.

Tabela 64-4 Transmissão da Infecção por HIV

Vias	Transmissão Específica
Vias Conhecidas de Transmissão	
Inoculação no sangue	Transmissão de sangue e produtos sanguíneos
	Compartilhamento de agulhas entre usuários de drogas intravenosas
	Acidente perfurocortante, ferida aberta e exposição de membrana mucosa em profissionais da saúde
	Agulhas de tatuagem
Transmissão sexual	Intercurso anal e vaginal
Transmissão perinatal	Transmissão intrauterina
	Transmissão perinatal
	Leite materno
Vias não Envolvidas na Transmissão	
Contato pessoal próximo	Membros da família
	Profissionais da saúde não expostos a sangue

Populações sob Alto Risco

Pessoas sexualmente ativas (homossexuais ou heterossexuais), usuários de drogas intravenosas e seus parceiros sexuais e recém-nascidos de mães HIV-positivas estão sob maior risco de infecções por HIV, com negros e hispânicos representados de forma desproporcional em meio à população HIV-positiva.

Conforme observado, a AIDS foi inicialmente descrita em homossexuais jovens e promíscuos do sexo masculino, sendo ainda prevalente na comunidade gay. Sexo anal é um meio eficiente de transmissão viral. Contudo, a transmissão heterossexual por intercurso vaginal e o abuso de drogas intravenosas têm se tornado as principais vias pela qual o HIV está se espalhando pela população em geral. A prevalência do HIV entre usuários de drogas deriva do uso compartilhado de agulhas de seringas contaminadas, uma prática comum em lugares apropriados. Somente em Nova York, mais de 80% dos usuários de drogas intravenosas possuem anticorpos contra HIV, e essas pessoas constituem, atualmente, a principal fonte de transmissão heterossexual e congênita do vírus. Agulhas ou tintas para tatuagem contaminadas são outros meios potenciais pelos quais o HIV pode ser transmitido.

Antes de 1985, pessoas que recebiam transfusões sanguíneas ou transplantes de órgãos, e hemofílicos que recebiam fatores de coagulação de *pools* sanguíneos estavam sob alto risco de infecção por HIV. O HIV foi disseminado em vários países por profissionais de saúde utilizando agulhas de seringas ou instrumentos compartilhados esterilizados de forma não adequada. O teste adequado do suprimento sanguíneo e de tecidos de transplantes, tanto nos Estados Unidos como em outras partes do mundo, praticamente eliminou o risco da

transmissão do HIV através de transfusões sanguíneas (Fig. 64-12). Hemofílicos que recebem fatores de coagulação são protegidos ainda mais pelo tratamento adequado do fator (aquecimento prolongado) no intuito de exterminar o vírus, ou pelo uso de proteínas fabricadas por engenharia genética.

Profissionais de saúde estão sob risco de infecção pelo HIV pela ocorrência de acidentes perfurocortantes ou pela exposição da pele lesada e membranas mucosas ao sangue contaminado. Felizmente, estudos envolvendo vítimas de acidentes perfurocortantes têm mostrado que a soroconversão ocorre em menos de 1% daqueles expostos a sangue HIV-positivo.

Síndromes Clínicas

A AIDS é uma das epidemias mais devastadoras já relatadas. A maioria das pessoas infectadas por HIV se torna sintomática, e a enorme maioria sucumbirá à doença se não for tratada. A doença por HIV progride de uma doença assintomática não específica para imunossupressão profunda, chamada de **AIDS plena** (Caso Clínico 64-1; Fig. 64-9). As doenças relacionadas à AIDS consistem principalmente em infecções oportunistas, cânceres e efeitos diretos do HIV no sistema nervoso central (Tab. 64-5). Embora raros, há casos de sobreviventes por muito tempo. Alguns destes casos resultam da infecção por amostras de HIV que não apresentam a proteína funcional nef. A resistência ao vírus se correlaciona à falta de expressão do correceptor de quimiocinas para o vírus.

Caso Clínico 64-1 Um Caso no Princípio de HIV-AIDS

Eltiott et al. (Ann Int Med 98:290-293, 1983) relataram que em julho de 1981, um homem de 27 anos de idade se queixou de disúria, febre, frios, suores noturnos, fraqueza, dispneia, tosse com escarro branco, anorexia e uma perda do peso de 8kg. Nos últimos 7 anos, ele vem recebendo até quatro infusões mensais de concentrado do fator VIII para corrigir seu hemofilia. Não esteve exposto a qualquer outro fator de risco para a infecção por HIV. Em agosto, infiltrados pulmonares eram visíveis pelo raios X de tórax e em setembro testes sanguíneos foram realizados com os seguintes resultados: hemoglobina 10,7g/dL, leucócitos 4.200/mm^3, com 50% de polimorfonucleares, 2% de formas em bastão, 36% de linfócitos, e 12% de monócitos. Anticorpos do isotipo IgG contra CMV, EBV, toxoplasma, HBsAg e HBc estavam presentes. Uma deficiência imune foi sugerida por falta de resposta aos testes cutâneos para tuberculina, caxumba e *Candida*. A presença de *Pneumocystis jirovecii* em uma coloração metenamina prata de um espécime de biópsia pulmonar transbronquial fez com que se iniciasse o tratamento oral com trimetoprim/sulfametoxazol. Os episódios de *Candida albicans* levaram ao tratamento com cetoconazol. Em maio de 1982, o desenvolvimento do esplenomegalia e linfoadenopatia levou o paciente a admissão ao hospital, com uma contagem de leucócitos de 2.100/mm^3 e de linfócitos de apenas 11%. Neste período, *Mycobacterium avium-intracellulare* foi detectado na medula óssea, nos linfonodos e granulomas, e a contagem total de linfócitos de 448/mm^3, comparada um valor normal de 2.668/mm^3; os níveis não eram responsivos à estimulação por mitógenos. Em julho 1982, a contagem total de linfócitos caiu para 220/mm^3, com 45/mm^3 de células T CD3-positivo (normal 1.725 e 64, respectivamente) e uma relação CD4/CD8 de 1:4 (normal 2,2:1). O paciente continuou a se deteriorar e morreu no final de setembro de 1982. Citomegalovírus foi isolado do pulmão e do fígado e *M. avium-intracellulare* da maioria das amostras de tecidos. Em 1981, a AIDS era uma doença recentemente descrita e o HIV não tinha sido descoberto. Anticorpos monoclonais e imunofenotipagem eram tecnologias novas. O paciente adquiriu a infecção por HIV de concentrado do fator VIII em um momento antes da triagem rotineira de suprimentos sanguíneos.

Tabela 64-5 Doenças Indicadoras de AIDS*

Infecção	Doença
Infecções	

oportunistas	
Protozoárias	Toxoplasmose cerebral
	Criptosporidiose com diarreia
	Isosporíase com diarreia
Fúngicas	Candidose do esôfago, traqueia e pulmões
	Pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (previamente chamado de *Pneumocystis carinii*)
	Criptococose (extrapulmonar)
	Histoplasmose (disseminada)
	Coccidioidomicose (disseminada)
Virais	Doença por citomegalovírus
	Infecção por vírus herpes simples (persistente ou disseminada)
	Leucoencefalopatia multifocal progressiva
	Tricoleucoplasia causada por vírus Epstein-Barr
Bacterianas	Complexo *Mycobacterium avium-intracellulare* (disseminado)
	Qualquer doença micobacteriana “atípica”
	Tuberculose extrapulmonar
	Septicemia por *Salmonella* (recorrente)
	Infecções bacterianas piogênicas (múltiplas ou recorrentes)
Neoplasias oportunistas	Sarcoma de Kaposi
	Linfoma cerebral primário
	Outros linfomas não Hodgkin
Outras	Síndrome caquética por HIV
	Encefalopatia por HIV
	Pneumonia intersticial linfoide

HIV, vírus da imunodeficiência humana.

***** *Manifestações da infecção por HIV que definem a síndrome da imunodeficiência adquirida, conforme os critérios do CDC (Centers for Disease Control and Prevention)*.

Modificado de Belshe RB: Textbook of Human Virology, 2nd ed. St Louis, Mosby, 1991.

Os sintomas iniciais após a infecção por HIV (fase aguda, 2 a 4 semanas após a infecção) podem se assemelhar aos de gripe ou mononucleose infecciosa, com meningite “asséptica” ou um exantema ocorrendo até 3 meses após a infecção (Quadro 64 4). Como na mononucleose, os sintomas derivam de respostas imunes desencadeadas por uma infecção disseminada de células linfoides. Estes sintomas desaparecem espontaneamente após 2 a 3 semanas e são seguidos por um período de infecção assintomática ou linfadenopatia generalizada persistente que pode durar muitos anos. Neste período, o vírus se replica nos linfonodos.

Quadro 64-4 Terapias Antivirais Potenciais contra a Infecção por HIV

Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos

Azidotimidina (AZT) (Zidovudina/Retrovir)

Didesoxicitidina (ddC) (Zalcitabina)

Didesoxiinosina (ddI) (Didanosina)

d4T (Estavudina)

3TC (Lamivudina)

Fumarato de tenofovir disoproxil (classe de adenosina) (Viread)

ABC (Abacavir)

FTC (Emtricitabina [Emtriva])

Inibidores da Transcriptase Reversa não Nucleosídeos

Nevirapina (Viramune)

Delaviridina (Rescriptor)

Efavirenz (Sustiva)

Inibidores de Proteases

Saquinavir

Tipranavir

Danuravir

Ritonavir (Norvir)

Indinavir (Crixivan)

Lopinavir (Kaletra)

Nelfinavir (Viracept)

Amprenavir (Agenerase)

Fosamprenavir (Lexiva)

Atazanavir (Reyataz)

Tipranavrir (Aptivus)

Inibidores de Ligação e Fusão

Inibidor de CCR5 (maraviroc)

T-20 (Enfuviritida/Fuzeon)

Inibidor de Integrase

Raltegravir (isentress)

Exemplos de Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART)[1]

Abacavir/zidovudina/lamivudina (Trizivir)

NNRTI + 2(NRTI)

Efavirenz + tenofovir + emtricitabina

Nevirapina +abacavir + lamivudina

2PI + 2(NRTI)

Atazanavir + ritonavir +zidovudina +lamivudina

Efavirenz + emtricitabina + fumarato de tenofovir disoproxil (Atripla)

[1] http://aidsinfo.nih.contentfiles/AdultandAdolescentGL.pdf

A deterioração da resposta imune é indicada por um aumento da suscetibilidade a patógenos oportunistas, especialmente aqueles controlados por células T CD4, macrófagos ativados, células T CD8 e respostas DTH (p. ex., leveduras, herpes e outros vírus de DNA ou bactérias intracelulares). O início dos sintomas se correlaciona com uma redução no número de células T CD4 para menos de 450/μL e níveis aumentados do vírus (quando determinados por técnicas relacionadas à reação em cadeia da polimerase [PCR]) e da proteína p24 no sangue. A AIDS plena ocorre quando a **contagem de células T CD4 é menor que 200/μL** (frequentemente 50/μL), a carga viral é maior que 75.000 cópias por mL e envolve o início de doenças mais significativas, incluindo a síndrome caquética por HIV (perda de peso e diarreia por mais de 1 mês) e a ocorrência de doenças indicativas, como **sarcoma de Kaposi** ou doenças oportunistas específicas, especialmente **pneumonia pneumocística**, infecção pelo **complexo *Mycobacterium avium-intracellulare*** e **doença grave por citomegalovírus** (Tab. 64-5).

A AIDS pode se manifestar de diferentes maneiras, incluindo linfadenopatia e febre, infecções oportunistas, tumores e demência relacionada à doença.

Linfadenopatia e Febre

Linfadenopatia e febre podem ocorrer, e esta combinação de achados clínicos foi chamada de **complexo relacionado à AIDS** (**ARC – *AIDS-related complex***). É um processo que se desenvolve de maneira insidiosa e pode ser acompanhado por perda de peso e mal-estar. Estes achados podem persistir indefinidamente ou progredir. Os sintomas também podem incluir infecções oportunistas, diarreia, sudorese noturna e fadiga. A síndrome caquética é chamada de ***slim disease*** na África.

Infecções Oportunistas

Infecções normalmente benignas por agentes como *Candida albicans* e outros fungos, vírus de DNA capazes de causar doença recorrente, parasitas e bactérias de crescimento intracelular causam doenças significativas após a depleção das células T CD4 por HIV (Tab. 64-5) . **Pneumonia pneumocística** (**PCP**) **induzida por *Pneumocystis jirovecii*** (antigamente chamado de *Pneumocystis carinii)* é um sinal característico da AIDS. Candidiose oral, toxoplasmose cerebral e meningite criptocócica também ocorrem com frequência, assim como infecções virais prolongadas e graves, incluindo varíola contagiosa de molusco; poliomavírus (vírus JC causando leucoencefalopatia multifocal progressiva); recorrências por herpesvírus (p. ex., vírus herpes simples, vírus varicela-zóster, vírus Epstein-Barr [EBV, tricoleucoplasia oral, linfomas associados a EBV]); e citomegalovírus (especialmente retinite, pneumonia e doença colônica). Tuberculose e outras doenças micobacterianas e diarreia causada por patógenos comuns (espécies de *Salmonella, Shigella* e *Campylobacter)* e agentes incomuns (criptosporídios, micobactérias e espécies de *Amoeba)* também são problemas comuns.

Neoplasias

O tumor mais notável que se desenvolve em pacientes com AIDS é o sarcoma de Kaposi, associado ao herpesvírus humano 8, um câncer de pele raro e normalmente benigno que se dissemina envolvendo órgãos viscerais de pacientes imunodeficientes. Linfoma não Hodgkin e linfomas relacionados à EBV também são prevalentes.

Demência Relacionada à AIDS

A demência relacionada à AIDS pode resultar de infecção oportunista ou da infecção de macrófagos e células da micróglia do cérebro por HIV. Pacientes com esta condição podem sofrer uma lenta deterioração de suas capacidades intelectuais e apresentar outros sinais de transtorno neurológico, semelhantes aos dos estágios iniciais da doença de Alzheimer. A deterioração neurológica pode resultar da infecção por uma das muitas infecções oportunistas.

Diagnóstico Laboratorial

Testes para detectar a infecção por HIV são realizados por uma das quatro razões: (1) identificar indivíduos com a infecção, para que a terapia medicamentosa antiviral possa ser iniciada; (2) identificar portadores que possam transmitir a infecção a outros (especialmente doadores de sangue ou órgãos, gestantes e parceiros sexuais); (3) acompanhar o curso da doença e confirmar o diagnóstico de AIDS; ou (4) avaliar a eficácia do tratamento (Tab. 64-6). A natureza crônica da doença permite o uso de testes sorológicos para documentar a infecção pelo HIV, às vezes auxiliados pela detecção e quantificação genômica através de técnicas que envolvem PCR ou outras técnicas de biologia molecular. Infelizmente, testes sorológicos não identificam indivíduos recém-infectados. O HIV é bastante difícil de crescer em cultura de tecidos, e, portanto, o isolamento viral não é rotineiramente realizado. Infecção recente ou doença em estágio terminal se caracterizam pela presença de grandes quantidades de RNA viral em amostras de sangue, antígeno viral p24 ou a enzima transcriptase reversa (Fig. 64-9). O RNA viral (dentro dos vírions) no sangue pode ser detectado pela reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR), PCR em tempo real e métodos correlatos. Níveis sanguíneos de RNA viral são também úteis para monitorar o sucesso do tratamento com drogas antivirais.

Tabela 64-6 Análise Laboratorial do HIV

Teste	Propósito
Sorologia	
Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA)	Triagem inicial
Aglutinação em látex	Triagem inicial
Teste oral rápido de anticorpos	Triagem inicial
Análise por *Western blot*	Teste confirmatório
Imunofluorescência	Teste confirmatório
RT-PCR para RNA do vírion	Detecção do vírus no sangue
RT-PCR em tempo real	Quantificação do vírus no sangue
DNA em cadeia ramificada (b-DNA)	Quantificação do vírus no sangue
Antígeno p24	Marcador inicial da infecção
Isolamento do vírus	Teste indisponível de imediato
Relação de células T CD4:CD8	Correlato da doença por vírus da imunodeficiência humana

RT-PCR, reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa.

Genômica

Novos métodos de detecção e quantificação do genoma do HIV no sangue se tornaram a linha mestra para o seguimento do curso da infecção pelo HIV e da eficácia do tratamento antiviral. Após a conversão do RNA viral em DNA com uma transcriptase reversa (fornecida pelo laboratório), o cDNA do genoma pode ser detectado por PCR e quantificado por PCR em tempo real, teste b-DNA (*branched-DNA* ou DNA ramificado*)* e outros métodos (Cap. 16). A determinação da carga viral (quantidade de genoma viral no sangue) é um excelente indicador do curso da doença e da eficácia do tratamento.

Sorologia

Anticorpos contra o HIV podem ser gerados lentamente, levando 4 a 8 semanas na maioria dos pacientes; entretanto, pode levar 6 meses ou mais em até 5% dos infectados (Fig. 64-9). Técnicas de ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) ou de aglutinação são utilizadas rotineiramente para triagem sorológica. O teste de ELISA, entretanto, pode gerar resultados falso-positivos e não irá detectar uma infecção recente. Ensaios mais específicos, como a análise por *Western blot*, são usados em seguida para confirmação dos resultados soropositivos. O teste de *Western blot* (Cap. 50, Fig. 50-7) demonstra a presença de anticorpos contra antígenos (p24 e p31) e glicoproteínas (gp41 e gp120/160) virais. Testes rápidos de triagem estão disponíveis para detecção de anticorpos específicos no sangue ou fluido oral, obtido por um *swab* das gengivas.

Estudos Imunológicos

O estágio de uma infecção pelo HIV pode ser inferido através de uma análise das subpopulações de células T. O número absoluto de linfócitos T CD4 e a razão CD4/CD8 são anomalamente baixas em pessoas infectadas pelo HIV. A concentração particular de linfócitos T CD4 identifica o estágio da AIDS. A decisão de iniciar o tratamento é habitualmente baseada na contagem de células T CD4.

Tratamento, Prevenção e Controle

Há um esforço intenso no mundo para o desenvolvimento de drogas e vacinas efetivas contra o HIV. As principais terapias anti-HIV (até o ano 2007) estão listadas no Quadro 64-5. As drogas anti-HIV aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos podem ser classificadas como inibidores de **ligação, fusão-penetração, transcriptase reversa (análogos ou não análogos de nucleosídeos), integrase ou protease**. Dois novos alvos foram recentemente aprovados pela FDA para somarem no ataque contra a infecção pelo HIV: um inibidor de ligação ao CCR5 (maraviroc) e um inibidor de integrase (raltegravir).

Quadro 64-5 Resumo Clínico

Um paciente de 32 anos de idade, ex-viciado em heroína, apresentou uma doença semelhante à mononucleose durante 2 semanas. Teve uma recaída com sudorese noturna ocasional e febre por 3 anos, e apresentou afta, retinite por citomegalovírus e pneumonia pneumocística. Sua contagem de células T CD4 foi menos de 220 por µL. Ele iniciou a terapia antirretroviral altamente ativa.

A inibição da ligação do HIV ao correceptor CCR5 com o uso de um agonista (maraviroc), ou da fusão entre envelope viral e membrana celular por um peptídeo (T-20: enfuvirtide) que bloqueia a ação da molécula gp41, impedem o evento inicial da infecção. A inibição da integrase previne todos os eventos subsequentes na replicação do vírus. A inibição da transcriptase reversa evita o início da replicação viral, bloqueando a síntese de cDNA. A azidotimidina (AZT), dideoxinosina (ddI), dideoxicitidina (ddC) e outros análogos nucleosídicos são fosforilados por enzimas celulares e são incorporados ao cDNA pela transcriptase reversa, causando a parada da síntese da cadeia de DNA. Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídicos (nevirapine) inibem a enzima por outros mecanismos. Inibidores de protease bloqueiam a morfogênese do vírion por inibir a clivagem das poliproteínas gag e gag-pol. O vírion resultante é inativo. A maioria das drogas anti-HIV tem efeitos colaterais consideráveis, e a busca por novas drogas anti-HIV continua. Cada uma das etapas do ciclo replicativo e todas as proteínas virais estão sendo visadas como alvos no desenvolvimento de novas drogas anti-HIV.

O AZT foi a primeira terapia anti-HIV bem-sucedida. Embora ainda seja dado para crianças nascidas de mães HIV-positivas durante 6 semanas no pós-parto, o uso isolado do AZT como monoterapia está em desuso. A terapia anti-HIV é atualmente administrado como um coquetel de várias drogas antivirais, sendo denominada **terapia antirretroviral altamente ativa (HAART)** (Quadro 64-4). O uso de uma mistura de drogas com diferentes mecanismos de ação apresenta um potencial menor de haver resistência. A terapia multidroga pode abaixar os níveis sanguíneos do vírus a aproximadamente zero e reduzir a morbidade e mortalidade em muitos pacientes com AIDS avançada. Existem vários esquemas diferentes, cuja escolha depende do nível de tolerância do paciente aos efeitos colaterais, custo, adesão ao tratamento, possibilidade de gestação, tipo de contracepção, horários de trabalho, coinfecções, interações medicamentosas etc. Alguns esquemas HAART são combinados em uma única pílula, facilitando a adesão. O tratamento deve ser iniciado para indivíduos apresentando doenças definidoras de AIDS, sintomas de AIDS ou quando as células T CD4 caírem abaixo de 200 células por microlitro. Pode-se também considerar o tratamento se a carga viral está muito alta (>100.000), mesmo se os valores de CD4 estiverem >350 por microlitro. A terapia é também sugerida para profilaxia pós-exposição (p. ex., acidentes com agulha), se o HIV for detectado no paciente-fonte. O HAART é caro e pode exigir uso de várias pílulas por dia. Essas drogas são frequentemente difíceis de tolerar e cada droga tem seus próprios efeitos colaterais. A adaptação do HAART para cada paciente pode minimizar os efeitos colaterais das drogas, facilitar o regime de tomadas e permitir que o paciente volte a ter saúde e um estilo de vida próximo ao normal.

Educação

A principal maneira pela qual a infecção por HIV pode ser controlada é educando a população sobre os métodos de transmissão e as medidas que podem reduzir a disseminação viral. Por exemplo, relacionamentos monogâmicos, prática de sexo segura e uso de preservativos reduzem a possibilidade de exposição. Visto que agulhas contaminadas são a principal causa de infecção por HIV em usuários de drogas intravenosas, as pessoas devem aprender que agulhas não devem ser compartilhadas. A reutilização de agulhas contaminadas em clínicas foi a fonte de surtos de AIDS no antigo bloco soviético e outros países. Em alguns lugares, esforços têm sido feitos no sentido de fornecer equipamento estéril para usuários de drogas intravenosas. Uma campanha bem-sucedida de educação anti-HIV em Uganda é citada como mais efetiva do que as drogas antivirais em salvar vidas.

Triagem de Sangue, Produtos de Sangue e Órgãos

Doadores em potencial de sangue e órgãos são selecionados antes de doarem sangue, tecido e hemoderivados. Aqueles com testes positivos para HIV não podem doar sangue. Pacientes que antecipam a necessidade futura de sangue, como os que aguardam uma cirurgia eletiva, devem considerar doação antecipada de sangue. Para limitar a epidemia mundial, a triagem de sangue deve ser realizada também em nações em desenvolvimento.

Controle de Infecção

Os procedimentos de controle de infecção por HIV são os mesmos usados para o vírus da hepatite B. Incluem precauções universais para sangue e fluidos corporais, baseados na prerrogativa de que todos os pacientes são infectantes quanto ao HIV ou outros patógenos transmissíveis pelo sangue. As precauções incluem uso de vestimentas protetoras (p. ex., luvas, máscara, avental) e uso de outras barreiras para prevenir a exposição a produtos de sangue. Seringas e instrumentos cirúrgicos não devem ser jamais reutilizados, a menos que cuidadosamente desinfetados. Superfícies contaminadas devem ser desinfetadas com água sanitária a 10%, etanol a 70% ou isopropanol, glutaraldeído a 2%, formaldeído a 4% ou peróxido de hidrogênio a 6%. A lavagem de roupas com água quente e detergente é suficiente para inativar o HIV.

Desenvolvimento de Vacina

Nenhuma vacina contra o HIV está disponível, apesar de muitos ensaios clínicos. Uma vacina efetiva deve impedir a transmissão do vírus por adultos e infectar crianças nascidas de mães HIV-positivas; também bloquearia a progressão da doença.

A maioria das vacinas em investigação usa a gp120 ou seu precursor, gp160, como imunógeno para induzir anticorpos neutralizantes. O gene para essa proteína foi clonado, expresso em diferentes sistemas de células eucarióticas (p. ex., leveduras, baculovírus) e desenvolvido como uma vacina de subunidade. O gene *env* também foi incorporado aos vírus vacínia, canaripox e outros vírus carreadores para criar vacinas híbridas. Epítopos específicos e antígenos de células T do produto do gene *gag* também estão sendo investigados como possíveis vacinas peptídicas. A criação de vacinas de DNA consistindo de vetores de expressão eucariótica (plasmídeos), contendo o gene para gp160 ou outros genes do HIV, é a estratégia mais recente para imunização. Vacinas híbridas e de DNA têm potencial de deflagrar uma resposta imuneprotetora tanto humoral quanto celular.

O desenvolvimento de uma vacina contra o HIV vai de encontro a uma série de problemas inerentes ao vírus. Por exemplo, a proteção inicial requereria a produção de anticorpos secretórios para impedir a aquisição e a transmissão sexual do vírus. Tanto os anticorpos quanto a imunidade celular são necessários para proteção e resolução da infecção por HIV. Embora uma vacina com vírus vivo atenuado fosse ideal (p. ex., com deleção do gene *nef*), esses vírus ainda apresentaram alguma virulência em testes realizados com primatas. A imunidade humoral protetora é difícil de ser estabelecida, pois a antigenicidade da gp120 é diferente para vírus em diferentes cepas de HIV e se altera constantemente por mutação durante a infecção do indivíduo. Outro problema é que o vírus pode se propagar através de sincícios e permanecer latente, dessa forma se protegendo da ação dos anticorpos. O HIV também infecta e danifica as células requeridas para iniciar uma resposta imune. O teste da vacina seria um problema, pois o HIV causa uma doença humana, e um acompanhamento a longo prazo seria necessário para monitorar a eficácia da vacina.

Vírus da Leucemia de Célula T Humana e outros Retrovírus Oncogênicos

Os *Oncovirinae* originalmente chamados de **vírus tumorais de RNA** têm sido associados ao desenvolvimento de leucemias, sarcomas e linfomas em vários animais. Esses vírus não são citolíticos. Os membros dessa família são distinguidos pelo mecanismo de transformação celular e pela duração do período de latência entre a infecção e o desenvolvimento da doença (Tab. 64-7)

Tabela 64-7 Mecanismos de Oncogênese dos Retrovírus

Doença	Velocidade	Efeito
Leucemia aguda ou sarcoma	Rápida: oncogene	Efeito direto Fornecimento de proteínas promotoras do crescimento

Leucemia	Lenta: transativação	Efeito indireto Proteína de transativação (tax) ou sequências promotoras de repetições terminais longas que amplificam a expressão de genes de crescimento celular

O s **vírus do sarcoma e da leucemia aguda** incorporaram versões modificadas de genes celulares (proto-oncogenes) que codificam fatores controladores do crescimento em seus genomas **(v-onc)**. Estes incluem genes que codificam hormônios de crescimento, receptores de hormônios de crescimento, proteínas quinases, proteínas de ligação de trifosfato de guanosina e proteínas nucleares de ligação de DNA. Estes vírus podem causar a transformação relativamente rápida de células e são altamente oncogênicos. *Nenhum vírus humano desse tipo foi identificado*.

Pelo menos 35 diferentes oncogenes virais foram identificados (Tab. 64-8). A transformação resulta da superprodução ou atividade alterada do produto de um oncogene estimulador de crescimento. O aumento do crescimento celular promove a transcrição, que também promove replicação viral. A incorporação do oncogene em muitos desses vírus provoca a substituição das sequências codificadoras dos genes *gag, pol* ou *env*, de forma que a maioria destes vírus se torna defeituosa, necessitando de vírus auxiliares para a replicação. Muitos desses vírus permanecem endógenos e são transmitidos verticalmente através da linhagem germinativa do animal.

Tabela 64-8 Exemplos Representativos de Oncogenes

Função	Oncogeme	Vírus
Tirosina quinase	*Src*	Vírus do sarcoma de Rous
	Abl	Vírus da leucemia murina de Abelson
	Fes	Vírus do sarcoma felino ST
Receptores de fatores de crescimento	*erb*-B (receptor de EGF)	Vírus da eritroblastose aviária
	erb-A (receptor de hormônio tireoidiano)	Vírus da eritroblastose aviária
Proteínas de ligação de trifosfato de guanosina	Ha-*ras*	Vírus do sarcoma murino de Harvey
	Ki-*ras*	Vírus do sarcoma murino de Kirsten
Proteínas nucleares	*Myc*	Vírus da mielocitomatose aviária
	Myb	Vírus da mieloblastose aviária
	Fos	Vírus do osteossarcoma murino FBJ
	jun	Vírus do sarcoma aviário 17

Baseados em dados extraídos de Jawetz E, et al: Medical Microbiology, 18th ed. Los Altos, Calif, Appleton Er Lange, 1989.

Os **vírus da leucemia**, incluindo HTLV-1, são competentes em termos de replicação, mas não podem transformar células *in vitro*. Eles causam câncer após um **longo período de latência** de pelo menos 30 anos. Os vírus da leucemia promovem crescimento celular de maneiras mais indiretas do que os vírus codificadores de oncogenes. No caso do HTLV-1, um regulador transcricional, tax, é produzido, que é capaz de ativar promotores na região LTR e genes celulares específicos (incluindo genes controladores de crescimento e de citocinas, como IL-2 e fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos) para promover a proliferação descontrolada daquela célula. Alternativamente, ao se integrarem próximo aos genes controladores do crescimento celular, sequências gênicas amplificadoras e promotoras codificadas pela região LTR viral podem promover a expressão de proteínas estimuladoras de crescimento. O crescimento celular descontrolado pode ser suficiente para transformar a célula infectada em neoplásica ou promover outras aberrações genéticas por um longo período. Esses vírus estão também associados a desordens neurológicas não neoplásicas e

outras doenças. Por exemplo, o HTLV-1 causa **leucemia linfocítica aguda de célula T do adulto** (**ATLL – *adult acute T-cell lymphocytic leukemia***) e **mielopatia associada ao HTLV-1** (**paraparesia espástica tropical**), uma doença neurológica não oncogênica.

Os oncovírus humanos incluem HTLV-1, HTLV-2 e HTLV-5, mas somente o HTLV-1 foi definitivamente associado à doença (*i.e.*, ATLL). O HTLV-2 foi isolado de formas atípicas de tricoleucemia, e o HTLV-5 foi isolado de linfoma cutâneo maligno. O HTLV-1 e o HTLV-2 compartilham até 50% de homologia.

Patogênese e Imunidade

O HTLV-1 está associado a células e é transmitido, dentro das células, através de transfusão sanguínea, atividade sexual ou amamentação. O vírus cai na corrente sanguínea e infecta as células T CD4 auxiliares e participantes da DTH. Essas células T têm tendência a se localizar na pele, contribuindo para os sintomas da ATLL. Os neurônios também expressam receptores para o HTLV-1.

O HTLV é competente para replicação, desde que os genes gag, pol e env sejam transcritos, traduzidos e processados, como descrito anteriormente. Além disso, para executar sua ação sobre os genes virais, a proteína tax ativa os genes celulares para o fator de crescimento de células T, IL-2 e seu receptor (IL-2R), que induzem proliferação da célula infectada. Um gene recentemente descoberto e sua proteína HBZ limitam a atividade de tax, promovendo a sobrevida da célula. O vírus pode permanecer latente ou se replicar lentamente durante muitos anos, mas pode também induzir uma expansão clonal descontrolada de determinados clones de células T. Ocorre um longo período de latência (aproximadamente 30 anos) até o surgimento de leucemia.

Embora o vírus possa induzir uma expansão policlonal descontrolada de células T, a leucemia de células T do adulto induzida pelo HTLV-1 é usualmente monoclonal. Aberrações cromossomais e rearranjos no gene β do receptor de célula T podem se acumular nas células com crescimento estimulado por HTLV, podendo ser a causa da transição para leucemia.

Anticorpos são induzidos contra a gp46 e outras proteínas do HTLV-1. A infecção pelo HTLV-1 também causa immunossupressão.

Epidemiologia

O HTLV-1 é transmitido e adquirido pelas mesmas vias que o HIV. É endêmico no sul do Japão, Caribe, África Central e entre afro-americanos do sudeste dos Estados Unidos. Nas regiões endêmicas do Japão, as crianças adquirem o HTLV-1 das suas mães na amamentação, enquanto os adultos são infectados sexualmente. A frequência de pessoas soropositivas em algumas regiões do Japão pode chegar a 35% (Okinawa), com o dobro da mortalidade por leucemia comparando com outras regiões. O abuso de drogas intravenosas e transfusão de sangue estão se tornando as vias mais importantes de transmissão do vírus nos Estados Unidos, onde os grupos de alto risco para a infecção por HTLV-1 são os mesmos para a infecção por HIV, e a soroprevalência do HTLV-1 está se aproximando à do HIV.

Síndromes Clínicas

A infecção pelo HTLV é usualmente assintomática, mas pode progredir para ATLL em aproximadamente uma a cada 20 pessoas ao longo de um período de 30 a 50 anos. A ATLL causada pelo HTLV-1 é uma neoplasia das células T CD4 auxiliadoras que pode ser aguda ou crônica. As células malignas têm sido chamadas “células em flor”, porque são pleomórficas e contêm um núcleo lobulado. Além de uma contagem elevada de glóbulos brancos no sangue, essa forma de ATLL é caracterizada por lesões cutâneas similares às observadas em outra leucemia, a síndrome de Sézary. A ATLL é geralmente fatal dentro de 1 ano após o diagnóstico, independente do tratamento. O HTLV-1 pode também causar outras doenças, incluindo uveíte, dermatite infecciosa associada à HTLV e outras desordens inflamatórias.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção pelo HTLV-1 é detectada utilizando-se ELISA para pesquisar antígenos específicos do vírus no sangue, RT-PCR para RNA viral. Testes ELISA também podem ser utilizados para detectar anticorpos antivirais específicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Uma combinação de AZT e interferon-α tem sido efetiva em alguns pacientes com ATLL. Entretanto, nenhum tratamento foi aprovado para o manejo da infecção por HTLV-1.

As medidas usadas para limitar a disseminação do HTLV-1 são as mesmas usadas para limitar a transmissão pelo HIV. Precauções sexuais, triagem de suprimentos de sangue, e o aumento da atenção quanto aos riscos potenciais e às doenças, são maneiras de evitar a transmissão do vírus. Triagens de rotina para HTLV-1, HIV, vírus da hepatite B e vírus da hepatite C são realizadas para proteger os suprimentos de sangue. Entretanto, uma infecção da criança a partir da mãe é muito difícil de controlar.

Retrovírus Endógenos

Diferentes retrovírus se integraram a cromossomos humanos e animais, se tornando parte deles. De fato, as sequências de retrovírus podem compor pelo menos 1% do genoma humano. Sequências completas ou parciais de pró-vírus contendo sequências gênicas similares àquela de HTLV, vírus de tumor mamário de camundongo e outros retrovírus podem ser identificadas em humanos. Esses vírus endógenos geralmente perdem sua capacidade de se replicar por causa de deleções ou à inserção de códons de terminação ou porque eles são fracamente transcritos. Um retrovírus pode ser detectado em tecido placentário, e é ativado durante a gestação. Esse vírus pode contribuir com a função placentária.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 28 anos de idade fez diversas queixas. Ele apresentou um caso severo de candidose oral, febre baixa e episódios de diarreia intensa, perdendo 10 kg no ano anterior sem fazer dieta; e mais grave, se queixou de dificuldades respiratórias. Seus pulmões apresentaram um infiltrado bilateral ao exame radiográfico, característico de pneumonia por *Pneumocystis carinii*. Uma amostra de fezes foi positiva para *Giardia*. Ele era viciado em heroína e admitiu haver compartilhado agulhas entre usuários de drogas intravenosas.

1. Que testes laboratoriais devem ser feitos para corroborar e confirmar um diagnóstico de infecção por HIV e AIDS?

1. O diagnóstico da AIDS é confirmado pela demonstração da presença do HIV e um nível de linfócitos T CD4 abaixo de 200 células/mL. A presença do HIV é demonstrada pelos anticorpos anti-HIV detectados através da técnica de ELISA ou *Western blot*. Também demonstrar a presença de genoma viral em amostras do paciente comprova a presença do HIV no organismo. O genoma viral pode ser detectado por técnicas de biologia molecular como a RT-PCR ou outras. Os níveis de células T CD4 são medidos pela técnica de citometria de fluxo.

2. Como foi que este homem adquiriu a infecção por HIV? Quais são outros comportamentos de alto risco para a infecção por HIV?

2. O comportamento de risco descrito para este homem é ser viciado em heroína e partilhar agulhas com outros usuários. Também sexo sem uso de preservativos e com múltiplos parceiros são fatores de risco.

3. Qual foi a base imunológica para o aumento da suscetibilidade deste paciente para infecções oportunistas?

3. A diminuição das células T CD4 reduz a capacidade do organismo de produzir interferon gama, substância necessária para ativação de macrófagos e outras respostas imunes do tipo TH1. Estas respostas imunes são necessárias para controle e proteção contra infecções causadas por vírus, fungos e bactérias intracelulares.

4. Que precauções devem ser tomadas no manuseio de amostras clínicas deste paciente?

4. As amostras devem ser manipuladas com as precauções universais para manipulação de sangue, ou seja, uso de luvas, óculos de proteção e jaleco.

5. Diversas formas de vacinas contra HIV estão sendo desenvolvidas. Quais são os componentes possíveis de uma vacina contra o HIV? Quem seriam os receptores apropriados de uma vacina contra HIV?

5. O componente viral mais importante a ser incorporado em uma vacina para gerar anticorpos protetores é a glicoproteína gp120 ou sua precursora, a glicoproteína gp160. A gp120 é a proteína de ligação do vírus a célula, e anticorpos contra esta proteína neutralizariam o vírus. Interessantemente, as respostas imunes citotóxicas mediadas por células T CD8 são geradas contra outras proteínas, como as proteínas gag. Uma vacina capaz de induzir neutralização viral seria adequada para pessoas em risco de infecção, incluindo profissionais de saúde, indivíduos com múltiplos parceiros sexuais e viciados em drogas injetáveis.

Bibliografia

Antiretroviral therapy for HIV infection in 1996: Consensus statement. *J Am Med Assoc*. 1996;276:146-154.

Arts EJ, Wainberg MA. Human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and early events in reverse transcription. *Adv Virus Res*. 1996;46:99-166.

Caldwell JC, Caldwell P. The African AIDS epidemic. *Sci Am*. 1996;274:62-68.

Centers for Disease Control and Prevention. Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2001;50(RR11):1-42.

Christian Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS, HIV Medicine (2006, online): Disponível em http://www.HIVMedicine.com (a Flying Publisher website).

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed, Washington, DC: ASM Press, 2003.

Knipe DM, Howley PM. Virology, 4th ed, New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Kra¨usslich HG. Morphogenesis and maturation of retroviruses. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 214*. Berlin: Springer-Verlag; 1996:1-344.

Levy JA. HIV and the Pathogenesis of AIDS, 7th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Lo¨wer R. The pathogenic potential of endogenous retroviruses: Facts and fantasies. *Trends Microbiol*. 1999;7:350-356.

Morse SA, et al. Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS, 3rd ed., St. Louis: Mosby, 2003.

Ng VL, McGrath MS. Human T-cell leukemia virus involvement in adult T-cell leukemia. *Cancer Bull*. 1988;40:276-280.

Oldstone MBA, Vitkovic L. HIV and dementia. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 202*. Berlin: Springer-Verlag; 1995:1-279.

Stine GJ. AIDS Update 2008. New York: McGraw-Hill, 2008.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.

Yeni G, et al. Antiretroviral therapy in adults: Updated recommendations of the International AIDS Society, USA Panel. *J Am Med Assoc*. 2004;292:251-265.

Sites

AIDS Education Global Information System, general information (on-line): Disponível em. www.aegis.com.
HIV InSite (on-line): Disponível em. http://hivinsite.ucsf.edu.
National Institute of Allergy and Infectious Diseases (on-line): Disponível em. http://www.niaid.nih.gov/spotlight/daids.
NIAID fact sheet (on-line) NIAID fact sheet (on-line): Disponível em. http://www.niaid.nih.gov/publications/aids.htm.
Treatment options (on-line) Treatment options (on-line): Disponível em. www.hivatis.org.
CDC online Disponível em. http://www.cdc.gov/hiv/topics/surveillance/index.htm.
UN AIDS (on-line): Disponível em. http://www.unaids.org/en/HIV_data/default.asp.
World Health Organization UNAIDS, HIV/AIDS information and data (online): Disponível em. http://www.unaids.org/.
Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS, HIV Medicine. Flying Publisher, 2006 (livro on-line): Disponível em. http://www.hivmedicine.com/.
Wainscoat B, Salas C, Rich JD, Human T cell lymphotropic viruses. (2006, online): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic1038.htm.
Bartlett's guide to medical management Bartlett's guide to medical management of HIV (on-line): Disponível em http://bartletthiv.com
DHHS guidelines for HIV therapy (on-line): Disponível em http://aidsinfo.nih.govOther sites: http://aids.about.com/ and http://www.HIVMedicine.com

65 Vírus da Hepatite

O alfabeto dos vírus da hepatite inclui pelo menos seis vírus, de A até E e G (Tab. 65-1). Embora o órgão-alvo para cada um deles seja o fígado e os sintomas básicos da hepatite sejam similares, esses vírus são significativamente diferentes em sua estrutura, modo de replicação, modo de transmissão, tempo de duração da doença e sequelas que causam. O **vírus da hepatite A (HAV)** e o **vírus da hepatite B (HBV)** são os vírus da hepatite clássica e os **vírus da hepatite C, G, E** e o **vírus da hepatite D (HDV)**, ou agente delta, são chamados de **vírus da hepatite não A e não B (NANBH)**. Existem também outros agentes não A e não B adicionais.

Tabela 65-1 Aspectos Comparativos dos Vírus da Hepatite

Tabela 65-1. Aspectos Comparativos dos Vírus da Hepatite

Aspecto	Hepatite A	Hepatite B	Hepatite C	Hepatite D	Hepatite E
Nome comum	"Infecciosa"	"Do soro"	"Não A, não B pós-transfusão"	"Agente delta"	"Não A, não B entérica"
Estrutura do vírus	Picornavírus; capsídeo, RNA	Hepadnavírus; envelope, DNA	Flavivírus; envelope, RNA	Semelhante a viroides; envelope, DNA circular	Capsídeo semelhante à Calicivírus, RNA
Transmissão	Fecal-oral	Parenteral, sexual	Parenteral, sexual	Parenteral, sexual	Fecal-oral
Início	Abrupto	Insidioso	Insidioso	Abrupto	Abrupto
Período de incubação (dias)	15-50	45-160	14-180	15-64	15-50
Gravidade	Leve	Às vezes intensa	Geralmente subclínica; 70% de cronicidade	Coinfecção com HBV às vezes intensa; superinfecção com HBV frequentemente intensa	Pacientes normais, leve; gestantes, intensa
Mortalidade	< 0,5%	1% - 2%	~4%	Alta a muito alta	Pacientes normais: 1%-2%; Gestantes: 20%
Cronicidade / estado de portador	Não	Sim	Sim	Sim	Não
Outras associações da doença	Nenhuma	Carcinoma hepatocelular primário, cirrose	Carcinoma hepatocelular primário, cirrose	Cirrose, hepatite fulminante	Nenhuma
Diagnóstico Laboratorial	Sintomas e IgM anti-HAV	Sintomas e níveis séricos de HBsAg, HBeAg e anti-HBc IgM	Sintomas e ELISA anti-HCV	ELISA anti-HDV	—

ELISA: imunoensaio absorvente enzimático; HAV: vírus da hepatite A; HCV: vírus da hepatite C; HDV: vírus da hepatite D; IgM: imunoglobulina M.

Cada um dos vírus da hepatite infecta e danifica o fígado, causando os **sintomas clássicos de icterícia e a liberação de enzimas hepáticas**. O vírus específico causador da doença pode ser distinguido pela sorologia, curso e natureza da desordem. Esses vírus têm disseminação facilitada, pois as pessoas infectadas são contagiosas antes de apresentar sintomas ou mesmo sem mostrá-los.

A **hepatite A**, às vezes conhecida como **hepatite infecciosa**: (1) é causada por um picornavírus, um vírus de ácido ribonucleico (RNA); (2) é disseminada pela via fecal-oral; (3) tem um período de incubação de aproximadamente 1 mês, após o qual os sintomas ictéricos se manifestam abruptamente; (4) não causa doença hepática crônica; e (5) raramente é fatal.

A **hepatite B**, anteriormente conhecida como **hepatite do soro**: (1) é causada por um hepadnavírus com genoma de ácido desoxirribonucleico (DNA); (2) é disseminada por via parenteral, pelo sangue ou por agulhas contaminadas, por contato sexual e por via perinatal; (3) tem período médio de incubação de aproximadamente 3 meses, após o que os sintomas ictéricos se manifestam insidiosamente; (4) é acompanhada de hepatite crônica em 5% a 10% dos pacientes; e (5) tem associação causal com carcinoma hepatocelular primário (PHC – *primary hepatocellular carcinoma*). Mais de um terço da população mundial já foi infectada com o HBV, resultando em 1 a 2 milhões de óbitos por ano. A incidência do HBV está diminuindo, especialmente em lactentes, por causa do desenvolvimento e uso da vacina de subunidade de HBV.

O **vírus da hepatite C (HCV)** também prevalece em todo o mundo, com mais de 170 milhões de portadores da doença. O HCV é disseminado pelas mesmas vias que o HBV, porém tem mais propensão para causar a doença crônica. O HCV é um flavivírus com genoma de RNA. O **vírus da hepatite G** é também um flavivírus e causa infecções crônicas. O **vírus da hepatite E (HEV)** é um vírus entérico encapsidado com genoma de RNA, pertencente a sua própria família, mas a doença causada por este vírus lembra a causada pelo HAV.

A **hepatite D**, ou **hepatite delta**, é peculiar, pois exige replicação ativa do HBV como "vírus auxiliar" e ocorre somente em pacientes portadores de infecção por HBV ativa. O HBV fornece um revestimento para o RNA do HDV e seus antígenos. O agente delta exacerba os sintomas causados pelo HBV.

Vírus da Hepatite A

O HAV causa hepatite infecciosa e se dissemina pela via fecal-oral. As infecções por esse vírus resultam, com frequência, do consumo de água, frutos do mar e outros alimentos contaminados. O HAV é um **picornavírus** e foi anteriormente conhecido como *enterovírus 72*, mas está agora classificado em um novo gênero, o *Heparnavirus*, com base em seu genoma único.

Estrutura

O HAV tem um **capsídeo nu (sem envelope), em formato de icosaedro**, com 27nm cercando um genoma de **RNA de fita simples** e de polaridade positiva consistindo em cerca de 7.470 nucleotídeos (Fig. 65-1). O genoma do HAV tem uma proteína VPg anexa à extremidade 5′ e poliadenosina anexa à extremidade 3′. O capsídeo é ainda mais estável a ácidos e outros tratamentos que os demais picornavírus (Quadro 65-1). Existe apenas um sorotipo de HAV.

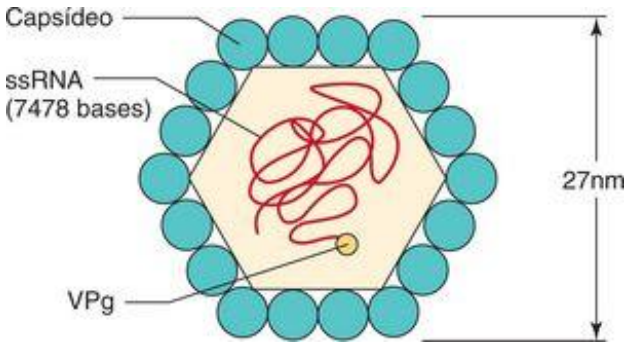


Figura 65-1 A estrutura do picornavírus do vírus da hepatite A. O capsídeo icosaédrico é constituído de quatro polipeptídeos (VP1 a VP4). Dentro do capsídeo há um RNA de filamento único e polaridade positiva (ssRNA) que possui uma proteína viral genômica (VPg) na terminação 5′.

Quadro 65-1 Propriedades Características do Vírus da Hepatite A

Estável em:
- Ácido em pH 1
- Solventes (éter, clorofórmio)
- Detergentes
- Água salgada; lençóis freáticos (meses)
- Dessecação (estável)

Temperatura
- 4°C: semanas
- 56°C durante 30 minutos: estável
- 61°C durante 20 minutos: inativação parcial

Inativado por:
- Tratamento da água potável com cloro
- Formalina (0,35%, 37°C, 72 horas)
- Ácido peracético (2%, 4 horas)
- β-propiolactona (0,25%, 1 hora)
- Radiação ultravioleta (2μW/cm^2/min)

Replicação

O HAV se replica como os outros picornavírus (Cap. 56), interagindo especificamente com um receptor expresso nas células hepáticas e em alguns outros tipos de células. Entretanto, diferentemente dos outros picornavírus, o HAV não é citolítico e é liberado por exocitose. Isolados laboratoriais de HAV foram adaptados para crescer em linhas celulares primárias e contínuas oriundas de rins de macacos, mas isolados clínicos têm dificuldade de crescer em cultura celular.

Patogênese

O HAV é ingerido e provavelmente penetra na corrente sanguínea pela orofaringe ou pelo revestimento epitelial dos intestinos para atingir seu alvo, as células parenquimatosas do fígado (Fig. 65.2). O vírus se replica em hepatócitos e células de Kupffer. É produzido nessas células e liberado na bile e daí para as fezes. O vírus é excretado em grande quantidade nas fezes e isso se dá cerca de 10 dias antes do aparecimento dos sintomas de icterícia ou da detecção do anticorpo.

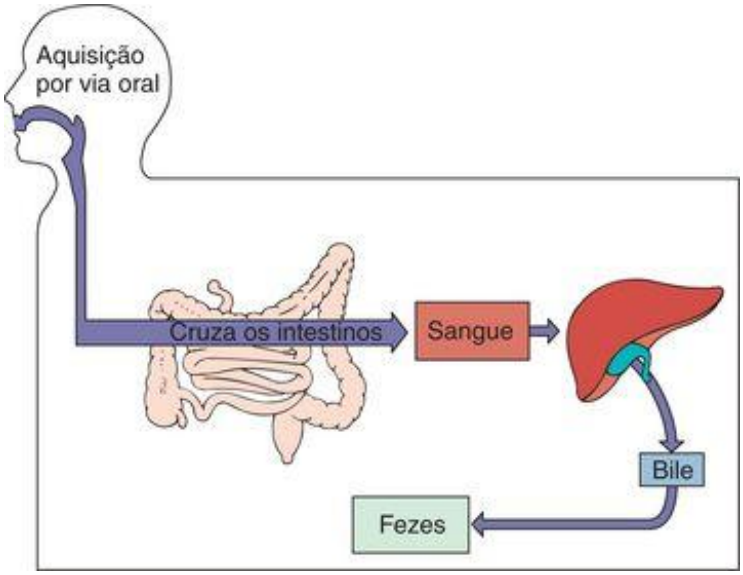


Figura 65-2 Disseminação do vírus da hepatite A no corpo.

A replicação do HAV no fígado é lenta, sem que haja produção de efeitos citopáticos aparentes. Embora o interferon limite a replicação viral, as células *natural killer* e as células T citotóxicas são exigidas para a eliminação das células infectadas. O anticorpo, o complemento e a citotoxicidade celular dependente de anticorpo também facilitam a liberação do vírus e a indução da imunopatologia. O quadro de icterícia resultante dos danos causados ao fígado ocorre quando as respostas imunes mediadas por células e anticorpos contra o vírus são detectadas. A proteção do anticorpo contra a reinfecção é vitalícia.

A doença hepática causada pela infecção por HAV não é distinguível, em termos histológicos, daquela causada pelo HBV. O quadro é, muito provavelmente, causado por imunopatologia e não por citopatologia induzida por vírus. Entretanto, diferentemente do HBV, o HAV não pode iniciar uma infecção crônica e não está associado ao câncer hepático.

Epidemiologia

Cerca de 40% dos casos agudos de hepatite são causados por HAV (Quadro 65-2). O vírus se espalha facilmente em uma comunidade, pois a maioria das pessoas infectadas é contagiosa 10 a 14 dias antes do aparecimento dos sintomas; 90% das crianças infectadas e entre 25% e 50% dos adultos infectados são portadores de infecções **não aparentes, mas produtivas**.

Quadro 65-2 Epidemiologia do vírus da Hepatite A e do vírus da Hepatite E

O HAV encontrado em frutos do mar é proveniente de água contaminada por detritos.

Fatores da Doença Virais

Os capsídeos virais são muito resistentes à inativação.

O período contagioso se estende antes até depois dos sintomas.

O vírus pode causar propagação assintomática.

Transmissão

O vírus pode ser transmitido pela via fecal-oral.

A ingestão de alimentos e água contaminada pode causar infecção.

O vírus é liberado nas fezes em concentrações elevadas e disseminado pela via **fecal-oral**, propagando em água e alimentos contaminados e nas mãos sujas. O HAV é resistente a detergentes, ácidos (pH = 1) e temperaturas de até 60°C, podendo sobreviver por muitos meses em água fresca e água salgada. Esgoto sanitário sem tratamento ou não tratado adequadamente pode infectar o suprimento de água e contaminar os frutos do mar. Esses alimentos, e especialmente mariscos, ostras e mexilhões, são fontes importantes do vírus, pois são eficientes em filtração e podem concentrar as partículas virais até de soluções diluídas. Isso pode ser exemplificado por uma epidemia de HAV ocorrida em Xangai, na China, em 1988, quando 300 mil pessoas foram infectadas com o vírus por causa do consumo de mariscos colhidos em águas poluídas.

Os surtos de HAV se originam geralmente de uma fonte comum (p. ex., suprimento de água, restaurantes, creches). A excreção assintomática e um período de incubação longo (15 a 40 dias) tornam difícil a identificação dessa fonte. Os ambientes de creches são as fontes principais de disseminação do vírus entre colegas e seus pais. Outro problema adicional é o fato de que as crianças e funcionários que permanecem nesses locais podem ser transitórios e, portanto, o número de contatos com risco de contrair a infecção por HAV em um único desses centros pode ser significativo.

A incidência relativamente alta de infecção por HAV está diretamente relacionada às condições de higiene insatisfatórias e às aglomerações. Muitas pessoas infectadas com HAV em países emergentes são crianças que apresentam doença leve e posterior proteção imune vitalícia contra a reinfecção. Nas populações de países mais desenvolvidos, a infecção ocorre mais tarde na vida. A taxa de soropositividade entre adultos varia de menos de 13% da população na Suécia para até 88% em Taiwan e 97% na Iugoslávia, com taxa entre 41% e 44% nos EUA.

Síndromes Clínicas

Os sintomas causados pelo HAV são muito parecidos aos da infecção por HBV e resultam do dano hepático mediado pelo sistema imune. Como observado, a doença é geralmente mais leve nas crianças que nos adultos e é normalmente assintomática. Os **sintomas ocorrem abruptamente**: 15 a 50 dias após a exposição e se intensificam durante 4 a 6 dias antes da fase ictérica (Fig. 65-3). Os sintomas iniciais incluem febre, fadiga, náusea, perda de apetite e dores abdominais. Urina escura (bilirrubinemia), fezes pálidas e a icterícia podem ser acompanhadas de dor abdominal e prurido. A icterícia é observada em 70% a 80% dos adultos, mas apenas em 10% das crianças (com menos de 6 anos de idade). Em geral, os sintomas enfraquecem durante o período da icterícia. A propagação viral nas fezes precede o início dos sintomas em aproximadamente 14 dias, mas é suspensa antes do desaparecimento desses sintomas. A recuperação completa ocorre em 99% dos casos, dentro de 2 a 4 semanas do início da doença.

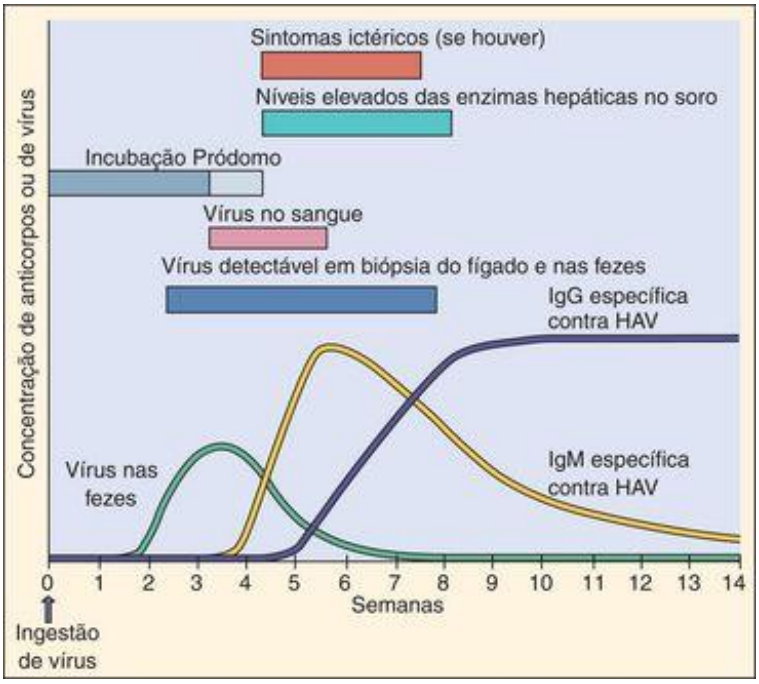


Figura 65-3 Evolução temporal da infecção pelo vírus da Hepatite A.

A hepatite fulminante na infecção por HAV ocorre em 1 a 3 pessoas em cada 1.000 e está associada a uma taxa de mortalidade de 80%. Ao contrário do HBV, os sintomas associados ao complexo imune (p. ex., artrite, erupção) raramente ocorrem em pessoas portadoras da doença por HAV.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por HAV é feito, geralmente, com base na duração dos sintomas clínicos, na identificação de uma fonte de infecção conhecida e, de modo mais confiável, nos resultados obtidos de testes sorológicos específicos. A melhor maneira de demonstrar uma infecção aguda por HAV é pelo achado de imunoglobulina M (IgM) anti-HAV, medida por imunoensaio enzimático absorvente (ELISA) ou radioimunoensaio. O vírus não é isolado, pois não existem disponíveis sistemas eficientes de cultura de tecidos para crescimento viral.

Tratamento, Prevenção e Controle

A disseminação do HAV é reduzida diminuindo-se a disseminação do vírus pela via fecal-oral. Ao mesmo tempo, é preciso evitar o consumo de água ou alimentos potencialmente contaminados, especialmente frutos do mar não cozidos. A lavagem apropriada das mãos, especialmente em centros de cuidados diários, hospitais de doenças mentais e outras instalações de atendimento, é vital. O tratamento da água de beber com cloro é, em geral, suficiente para matar os vírus.

A **profilaxia com globulina sérica imune** administrada antes, ou logo no início do período de incubação (*i.e.*, menos de 2 semanas após a exposição), tem eficácia de 80% a 90% na prevenção da doença.

As **vacinas de HAV inativo** foram aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration) nos EUA e estão disponíveis para todas as crianças e para adultos com alto risco de infecção, especialmente viajantes para áreas endêmicas. A vacina é administrada às crianças aos 2 anos de idade e podem ser administradas aos adultos junto com a vacina de HBV. Uma vacina com vírus vivo de HAV foi desenvolvida na China. Existe apenas um sorotipo de HAV e esse vírus só infecta o homem, fatores que ajudam a assegurar o sucesso de um programa de

imunização.

Vírus da Hepatite B

O HBV é o principal membro dos **hepadnavírus**. Outros membros dessa família (Quadro 65-3) incluem os vírus da hepatite da marmota, do esquilo e do pato. Esses vírus possuem tropismos limitados de tecidos e de faixas de hospedeiros. O HBV infecta o fígado e, em menor escala, os rins e o pâncreas só de seres humanos e de chimpanzés. Os avanços em biologia molecular tornaram possível o estudo do HBV, apesar da faixa limitada de hospedeiros do vírus e da dificuldade representada pelos sistemas de cultura celular usados no isolamento desse vírus.

Quadro 65-3 Propriedades Características dos Hepadnavírus

HBsAg: antígeno de superfície da hepatite B; HBV: vírus da Hepatite B

O vírus tem um vírion envelopado contendo genoma de DNA circular, de filamento duplo parcial.

A replicação ocorre por meio de um intermediário de RNA circular.

O vírus codifica e carrega uma transcriptase reversa.

O vírus codifica várias proteínas (HBsAg [L, M, S]; HBe/HBc) que compartilham sequências genéticas, mas com iniciadores diferentes na estrutura.

O HBV tem tropismo estrito de tecido para o fígado.

As células infectadas com HBV produzem e liberam grandes quantidades de partículas de HBsAg sem DNA.

O genoma do HBV pode se integrar no cromossomo do hospedeiro.

Estrutura

O HBV é um vírus de DNA envelopado, pequeno e com várias propriedades incomuns (Fig. 65-4). Especificamente, o **genoma é um DNA pequeno, circular, de filamento parcialmente duplo** e de apenas 3.200 bases. Embora sendo um vírus de DNA, ele codifica uma **transcriptase reversa** e se replica por meio de um **intermediário de RNA**.

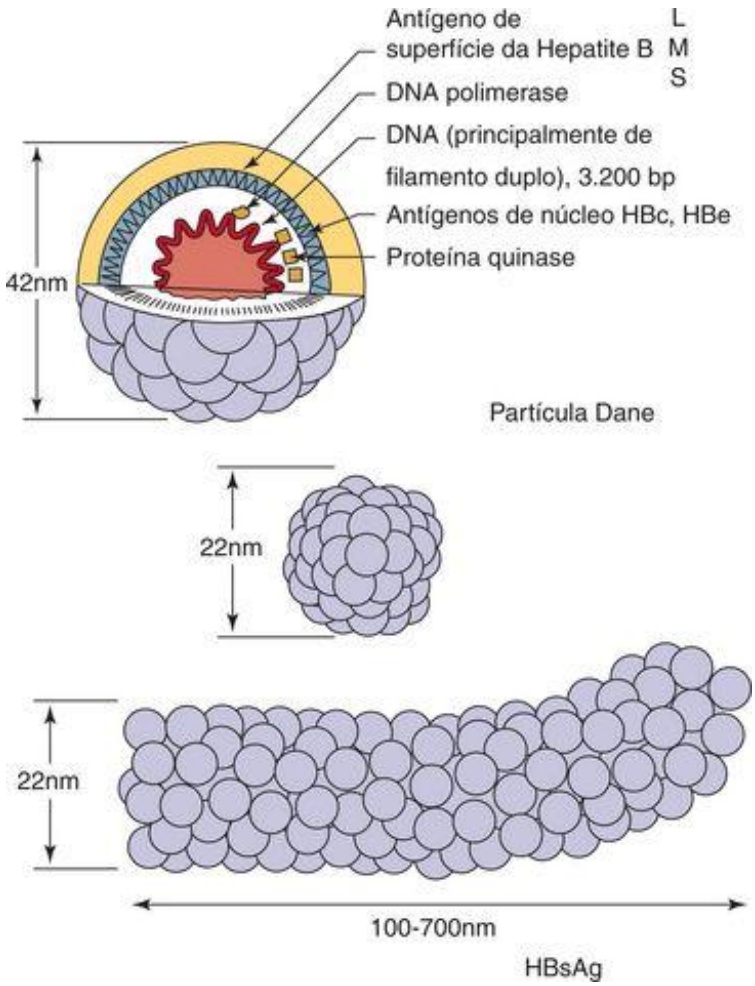


Figura 65-4 Vírus da Hepatite B (partícula Dane) e partículas de antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg). O HBsAg esférico consiste, principalmente, na forma S do HBsAg, com um pouco de M. O HBsAg da fibra contém as formas S, M e L. bp: pares de base; L, gp42; M, gp36 e S, gp27.

O vírion, também chamado de **partícula Dane**, tem 42nm de diâmetro e sua estabilidade é incomum para um vírus envelopado. Ele resiste ao tratamento com éter, pH baixo, congelamento e aquecimento moderado. Essas características ajudam na transmissão da doença de pessoa a pessoa e impedem a desinfecção.

O **vírion** do HBV **inclui uma proteína quinase e uma polimerase** com atividade de transcriptase reversa e de ribonuclease H, como uma proteína P anexa ao genoma. Tudo isso é cercado por um capsídeo icosaédrico formado pelo **antígeno do cerne do vírus da hepatite B (HBcAg – *hepatitis B core antigen*)** e por um envelope contendo três formas da glicoproteína **antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg – *hepatitis B surface antigen*)**. Uma proteína do **antígeno "e" do vírus da hepatite B (HBeAg – *hepatitis B "e" antigen*)** compartilha a maioria de sua sequência de proteínas com o HBcAg, mas é processado de maneira diferente pela célula, secretado principalmente no soro, não sendo capaz de automontagem (como um antígeno de capsídeo) e expressando determinantes antigênicas diferentes.

As **partículas contendo HBsAg** são liberadas no soro de pessoas infectadas e superam o número dos vírions reais. Essas partículas podem ser esféricas (embora menores que a partícula Dane) ou filamentosas (Fig. 65-4). São imunogênicas e foram processadas na primeira vacina comercial contra o HBV.

O HBsAg, originalmente denominado de *antígeno Austrália*, inclui três glicoproteínas (L, M e S) codificadas pelo mesmo gene e lidas na mesma estrutura, mas traduzidas em proteínas de diferentes códons inicializadores AUG. A glicoproteína S (gp27; 24 a 27kDa) está completamente contida na glicoproteína M (gp36: 33 a 36kDa), que está contida na glicoproteína L (gp42: 39 a 42kDa); todas compartilham as mesmas sequências de aminoácido C-terminal. Todas as três formas de HBsAg são encontradas no vírion. A glicoproteína S é o componente principal das partículas de HBsAg; por si só, ele se autoassocia às particulas esféricas de 22nm que são liberadas das células. As partículas filamentosas do HBsAg encontradas no soro contêm principalmente essa glicoproteína S, mas também pequenas quantidades das glicoproteínas M e L, além de outras proteínas e lipídios. Em uma orientação, a glicoproteína L liga o vírus a receptores nas células hepáticas e em outra orientação ele liga o revestimento à capsídeo para montar o vírion. As glicoproteínas do HBsAg contêm os determinantes específicos ao grupo (denominados **a**) e específicos ao tipo (denominados **d** ou **y** e **w** ou **r**). As combinações desses antígenos (p. ex., ady e adw) resultam em oito subtipos de HBV que são marcadores epidemiológicos muito úteis.

Replicação

A replicação de HBV é única por várias razões (Quadro 65-1). Primeiro, o HBV tem tropismo distintamente definido para o fígado. Seu genoma pequeno também necessita de economia, como ilustrado pelo padrão de sua transcrição e tradução. Além disso, o *HBV se replica por meio de um intermediário de RNA e produz e libera partículas antigênicas (HBsAg)* (Fig. 65-5).

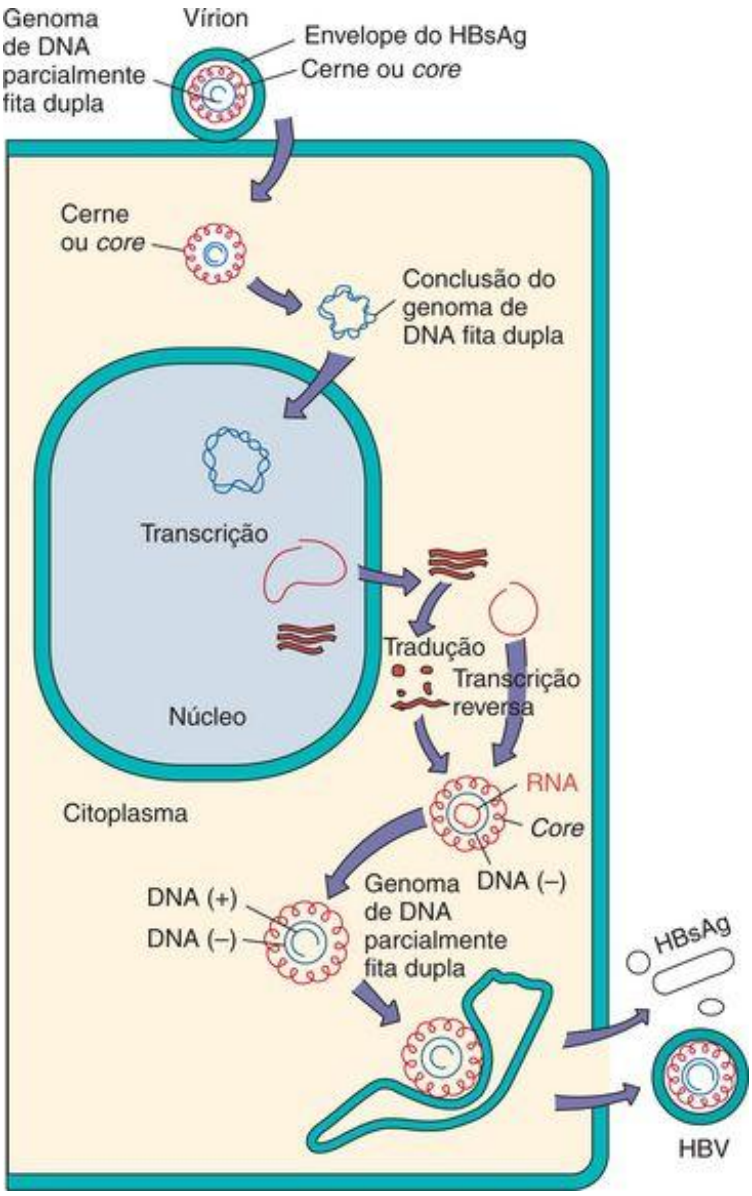


Figura 65-5 Replicação do vírus da hepatite B. Após penetrar no hepatócito e desnudar o cerne do nucleocapsídeo, o genoma do DNA parcialmente fita dupla é completado por enzimas e então liberado ao núcleo. A transcrição do genoma produz 4 RNAs mensageiros (mRNAs), incluindo um mRNA maior que o genoma (3.500 bases). O mRNA então se move para o citoplasma e é traduzido em proteína. As proteínas do cerne se formam ao redor do mRNA de base 3.500 e o DNA de polaridade negativa é sintetizado pela transcriptase reversa. O RNA é então degradado enquanto o DNA de polaridade positiva (+) é sintetizado. O cerne é envelopado antes do acabamento do DNA de polaridade positiva e então liberado por exocitose.

A ligação do HBV aos hepatócitos é mediada por glicoproteínas de HBsAg. Vários receptores celulares hepáticos já foram sugeridos, incluindo o receptor de transferrina, o receptor da asialoglicoproteína e a anexina V hepática humana. Não se conhece o mecanismo de entrada, mas o HBsAg adere à albumina sérica humana polimerizada e a outras proteínas

séricas e essa interação pode facilitar a ligação e a absorção do vírus pelo fígado.

Ao penetrar na célula, o filamento parcial de DNA do genoma é completado ao ser integrado a um círculo de DNA de filamento duplo completo e o genoma é enviado ao núcleo. A transcrição do genoma é controlada por elementos de transcrição celular encontrados nos hepatócitos. O DNA é transcrito a partir de diferentes pontos de partida no círculo, mas possui a mesma terminação 3′. Existem três classes principais (2.100, 2.400 e 3.500 bases) e duas classes menores (900 bases) de RNAs mensageiros com sobreposição (mRNAs) (Fig. 65-6). O mRNA de 3.500 bases é maior que o genoma. Ele codifica os antígenos HBc e HBe, a polimerase, um iniciador proteico para a replicação do DNA e atua como molde para a replicação do genoma. O HBe e o HBc são proteínas relacionadas que são traduzidas de diferentes códons de iniciação (*start codons*), em fase, de mRNAs intimamente associados. Isso causa diferenças em seu processamento e estrutura, com a liberação do HBe e a incorporação do HBc no vírion. De forma semelhante, o mRNA de 2.100 bases codifica as glicoproteínas pequena e média a partir de diferentes códons de iniciação em fase. O mRNA de 2.400 bases, que codifica a grande glicoproteína, se sobrepõe ao mRNA de 2.100 bases. O mRNA de 900 bases codifica a proteína X que promove a replicação viral como transativadora de transcrição e como proteína quinase.

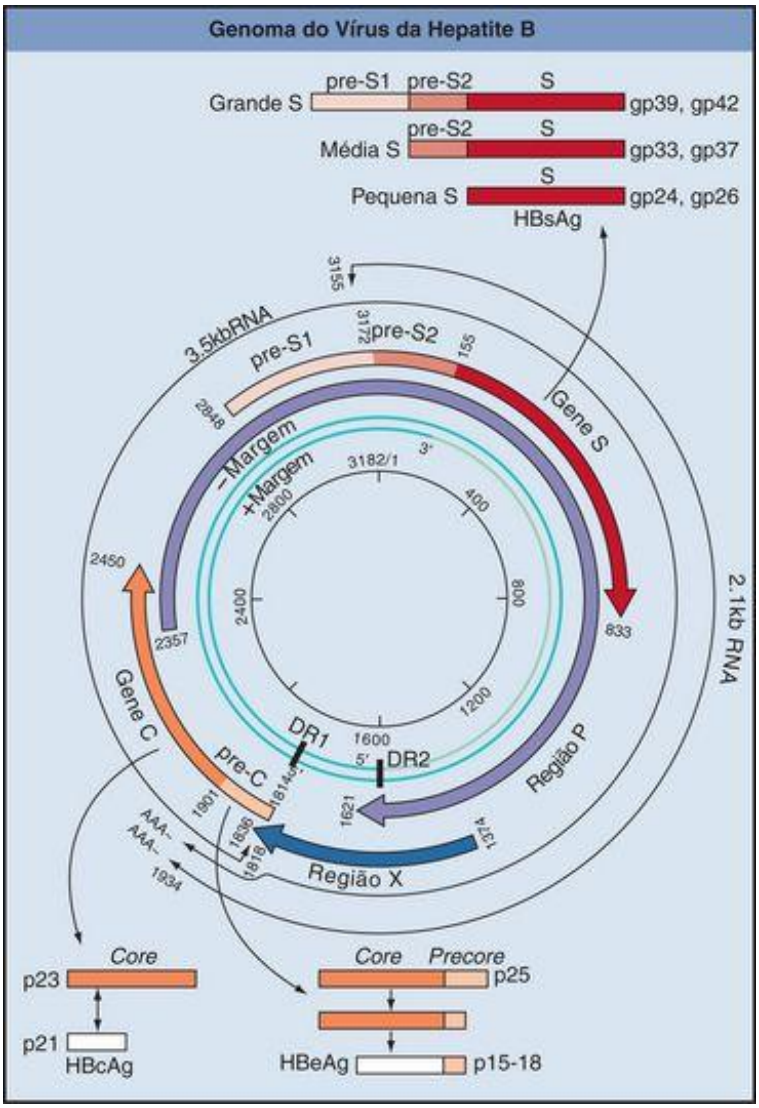


Figura 65-6 DNA, RNA, mRNA e proteínas do vírus da Hepatite B (HBV). Os círculos internos verdes representam o genoma do DNA com o número do nucleotídeo no centro. DR1 e DR2 são sequências de repetição direta de DNA e são importantes para replicação e integração do genoma. O transcrito com base de 3.500 (*círculo externo de linha escura e fina*) é maior que o genoma e serve de molde para a replicação do genoma. Os arcos em negrito representam mRNA para proteínas virais. Observe que várias proteínas são traduzidas a partir do mesmo mRNA, mas de diferentes códons AUG e que ocorre sobreposição de mRNAs diferentes. AAA: poliA 3′ na extremidade do mRNA; C, mRNA C (HbcAg); E, mRNA E (HbeAg); I,

glicoproteína grande; m, glicoproteína média; P, iniciador da polimerase para replicação; s, glicoproteína pequena; S, mRNA S (HBsAg); X, mRNA.

(Modificado de Armstrong D, Cohen J: Infectious Diseases; St. Louis, Mosby, 1999.)

A replicação do genoma usa o mRNA de 3.500 bases, maior que o genoma. Esse mensageiro é empacotado no nucleocapsídeo que contém a DNA polimerase dependente de RNA (proteína P). Essa polimerase possui atividade **transcriptase reversa** e atividade de ribonuclease H, mas o HBV não tem a atividade de integrase dos retrovírus. O RNA com 3.500 bases atua como molde e DNA de fita negativa é sintetizada com o uso de um iniciador proteico da proteína P, que permanece covalentemente ligada à extremidade 5′. Depois o RNA é degradado pela atividade da ribonuclease H enquanto o DNA de filamento positivo é sintetizado a partir do molde de DNA de polaridade negativa. Entretanto, esse processo é interrompido por envolvimento do nucleocapsídeo contendo HBsAg nas membranas intracelulares, capturando assim os genomas contendo círculos de RNA-DNA com extensões diferentes de RNA. A degradação continuada do restante do RNA no vírion resulta em um genoma de DNA de filamento parcialmente duplo. O vírion é então liberado do hepatócito por exocitose sem matar a célula, e não por lise celular.

O genoma completo pode também ser integrado à cromatina da célula hospedeira. O HBsAg, e não outras proteínas, pode ser detectado com frequência no citoplasma de células contendo DNA de HBV integrado. O significado do DNA integrado na replicação do vírus não é conhecido, mas o DNA viral integrado foi encontrado em carcinomas hepatocelulares.

Patogênese e Imunidade

O HBV pode causar doença aguda ou crônica, sintomática ou assintomática. A determinação de qual doença ocorrerá parece depender da resposta imune da pessoa à infecção (Fig. 65-7). *A detecção dos dois componentes HBsAg e HBeAg do vírion no sangue indica a existência de uma infecção ativa em andamento*. As partículas de HBsAg continuam a ser liberadas no sangue, mesmo depois que a liberação do vírion foi concluída e até que a infecção seja resolvida.

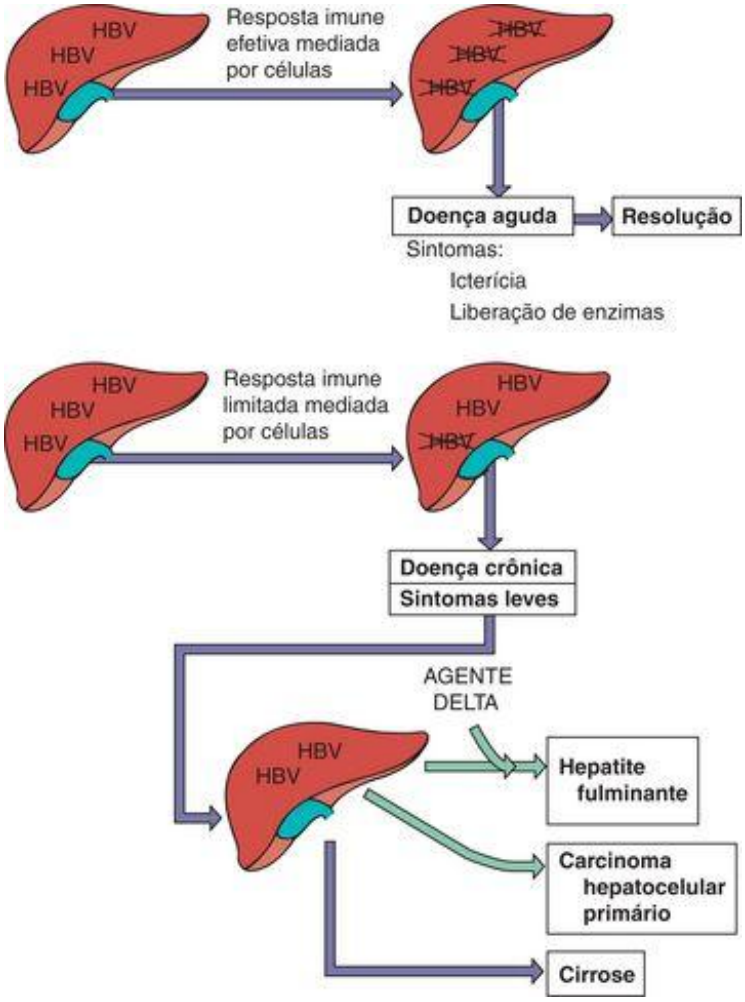


Figura 65-7 Principais determinantes da infecção aguda e crônica pelo vírus da hepatite B (HBV). O HBV infecta o fígado, mas não causa citopatologia direta. A lise imunemediada pela imunidade celular das células infectadas produz os sintomas e resolve a infecção. A imunidade insuficiente pode levar à doença crônica por HBV, que predispõe a pessoa a consequências mais graves. As *setas púrpura* indicam os sintomas; as *setas verdes* indicam uma consequência possível.

A principal fonte de vírus infecciosos é o sangue, mas o HBV pode ser encontrado no sêmen, na saliva, no leite materno, nas secreções vaginais e menstruais e no fluido amniótico. A maneira mais eficiente de adquirir HBV é a injeção do vírus na corrente sanguínea (Fig. 65-8). Vias mais comuns, embora menos eficientes de infecção são o contato sexual e o parto.

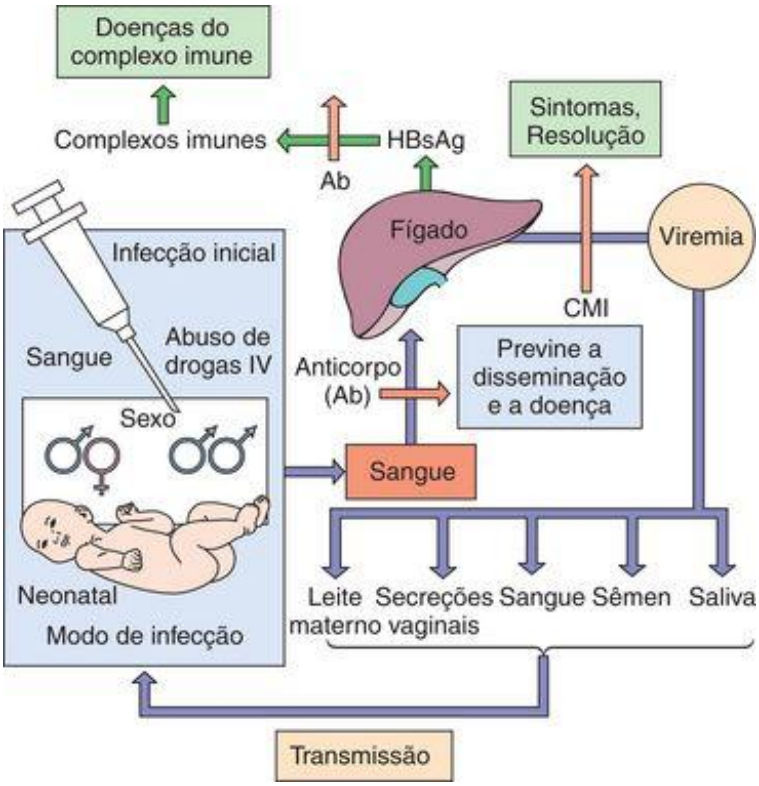


Figura 65-8 Disseminação do vírus da Hepatite B (HBV) no corpo. A infecção inicial com HBV ocorre via parenteral, sexo hetero e homossexual e parto. O vírus então se dissemina para o fígado, se replica, induz a viremia e é transmitido em várias secreções corporais, além do sangue, para reiniciar o ciclo. Os sintomas são causados pela imunidade mediada por células (CMI) e por complexos imunes entre anticorpo e antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg). IV: intravenoso.

O vírus começa a se replicar no fígado dentro de 3 dias após sua aquisição, mas, como observado, os sintomas podem não ser percebidos antes de 45 dias ou mais, dependendo da dose infecciosa, da via de infecção e da própria pessoa. O vírus se replica em hepatócitos com efeito citopático mínimo. A infecção prossegue por um período relativamente longo sem causar dano hepático (p. ex., elevação dos níveis de enzimas hepáticas) ou sintomas.

Nesse período, cópias do genoma do HBV se integram à cromatina dos hepatócitos e permanecem latentes. A construção intracelular de formas filamentosas de HBsAg pode produzir a citopatologia hepatocitária em aspecto de "vidro fosco" (*ground-glass*) característica da infecção por HBV.

A imunidade mediada por células e a inflamação respondem pelos sintomas e resolução efetiva da infecção por HBV ao eliminar o hepatócito infectado. Os epítopos do antígeno HBc são proeminentes antígenos para ascélulas T. Uma resposta insuficiente das células T à infecção resulta, geralmente, na ocorrência de sintomas leves, na inabilidade de resolver a infecção e no desenvolvimento de hepatite crônica (Fig. 65-7). O anticorpo (como aquele gerado pela vacinação) pode proteger contra a infecção inicial ao prevenir o envio do vírus ao fígado. Mais tarde, no curso da infecção, a grande quantidade de HBsAg no soro adere a e bloqueia a ação do anticorpo neutralizante, o que limita sua capacidade de resolver a infecção. Os complexos imunes formados entre o HBsAg e os anti-HBs contribuem para o desenvolvimento de reações de hipersensibilidade (tipo III), levando a problemas como vasculite, artralgia, erupção cutânea e dano renal.

Os lactentes e as crianças pequenas possuem resposta imunecelular imatura e têm menos capacidade de resolver a infecção, mas sofrem menos dano ao tecido e sintomas mais leves. Cerca de 90% dos lactentes infectados por via perinatal se tornam portadores crônicos do vírus. A replicação viral persiste nessas pessoas por longos períodos.

Durante a fase aguda da infecção, o parênquima hepático mostra alterações degenerativas consistindo em edema e necrose celular, especialmente nos hepatócitos que cercam a veia central de um lóbulo hepático. O infiltrado de células inflamatórias é composto principalmente de linfócitos. A resolução da infecção permite a regeneração do parênquima. As

infecções fulminantes, a ativação de infecções crônicas ou a coinfecção com o agente delta pode levar a dano hepático permanente e à cirrose.

Epidemiologia

Nos EUA, mais de 12 milhões de pessoas foram infectadas com HBV (1 em 20) com 5.000 mortes por ano. No mundo, 1 em cada 3 pessoas já foi infectada com o HBV, com cerca de 1 milhão de mortes por ano. Nas nações em desenvolvimento, cerca de 15% da população pode ser infectada durante o nascimento ou na infância. Taxas elevadas de soropositividade são observadas na Itália, Grécia, África e Sudoeste da Ásia (Fig. 65-9). Em algumas áreas do mundo (sul da África e sudeste da Ásia) a taxa de soroconversão chega a 50%. O carcinoma hepatocelular primário (PHC), uma sequela em longo prazo da infecção, também é endêmico nessas regiões.

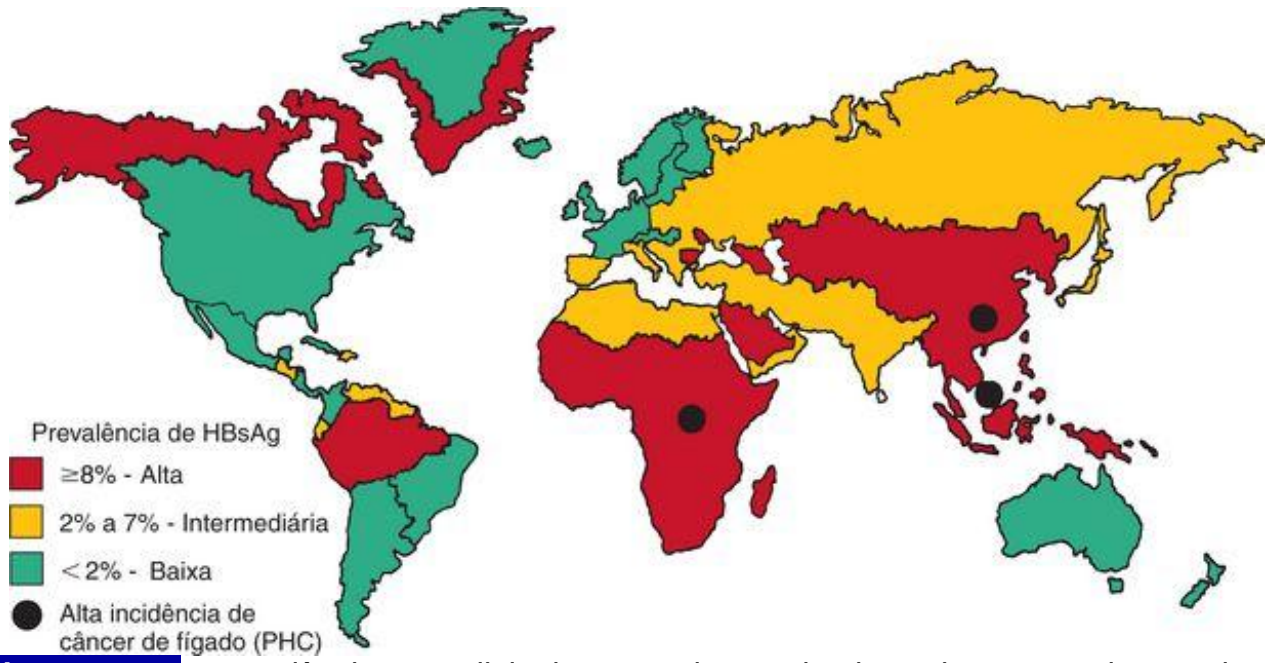


Figura 65-9 Prevalência mundial de portadores de hepatite B e de carcinoma hepatocelular primário.

(Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.).

A grande quantidade de portadores crônicos assintomáticos com o vírus no sangue e em outras secreções do corpo estimula a disseminação do vírus. Nos EUA, de 0,1% a 0,5% da população geral é portadora crônica, mas essa proporção é muito baixa em comparação com as várias áreas do mundo. O quadro de portador pode ser vitalício.

O vírus é disseminado por via sexual, parenteral e perinatal. A transmissão ocorre por meio do sangue contaminado e de componentes do sangue por transfusão, compartilhamento de agulhas, acupuntura, "piercings" da orelha ou tatuagem, ou então por contato pessoal íntimo envolvendo a troca de sêmen, saliva e secreções vaginais (p. ex., sexo, parto) (Fig. 65-8). O pessoal de cuidados médicos corre risco em incidentes envolvendo picadas de agulhas ou instrumentos afiados. As pessoas com risco específico estão indicadas no Quadro 65-4. A promiscuidade sexual e o abuso de drogas são os principais fatores de risco para a infecção por HBV. Esse vírus pode ser transmitido aos bebês pelo contato com o sangue da mãe contaminada no parto e com o leite da mãe. Os bebês nascidos de mães HBV-positivas estão em risco mais alto de infecção. A triagem sorológica de unidades de doadores em bancos de sangue reduziu significativamente o risco de aquisição do vírus de sangue ou de derivados de sangue contaminados. Hábitos sexuais mais seguros adotados para prevenir a transmissão do HIV e a administração da vacina contra o HBV também foram responsáveis pela redução nos casos de transmissão de HBV.

Quadro 65-4 Grupos de Alto Risco para Infecção pelo Vírus da Hepatite B

Pessoas de regiões endêmicas (p. ex., China, partes da África, Alasca, Ilhas do Pacífico).

Bebês de mães portadoras de Hepatite B crônica.

Usuários de drogas intravenosas.

Pessoas com vários parceiros sexuais, homossexuais e heterossexuais.

Hemofílicos e outros pacientes que necessitam de tratamentos com transfusão de sangue e derivados de sangue.

Profissionais de cuidados de saúde que tenham contato com sangue.

Residentes e auxiliares de instituições para pacientes com retardo mental.

Pacientes de hemodiálise e receptores de transfusões de sangue e de transplantes de órgãos.

Uma das principais preocupações sobre o HBV é sua associação ao PHC. Esse tipo de carcinoma é, provavelmente, responsável por 250.000 a 1 milhão de mortes por ano no mundo todo; nos EUA, cerca de 5.000 mortes por ano são atribuídas ao PHC.

Infecção Aguda

Como observado, a apresentação clínica do HBV em crianças é menos intensa que em adultos e a infecção pode até ser assintomática. A doença clinicamente aparente ocorre em até 25% daqueles infectados com HBV (Figs. 65-10 a 65-12).

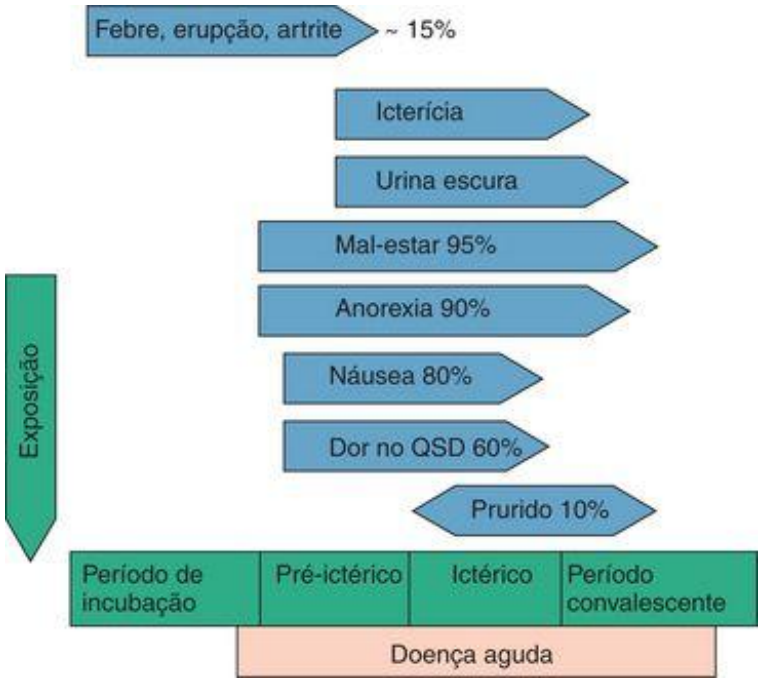


Figura 65-10 Os sintomas da infecção viral aguda típica de hepatite B estão correlacionados com os quatro períodos clínicos dessa doença. QSD: quadrante superior direito.

(Cortesia de Hoofnagle, JH: Lab Med 14:705-716, 1983)

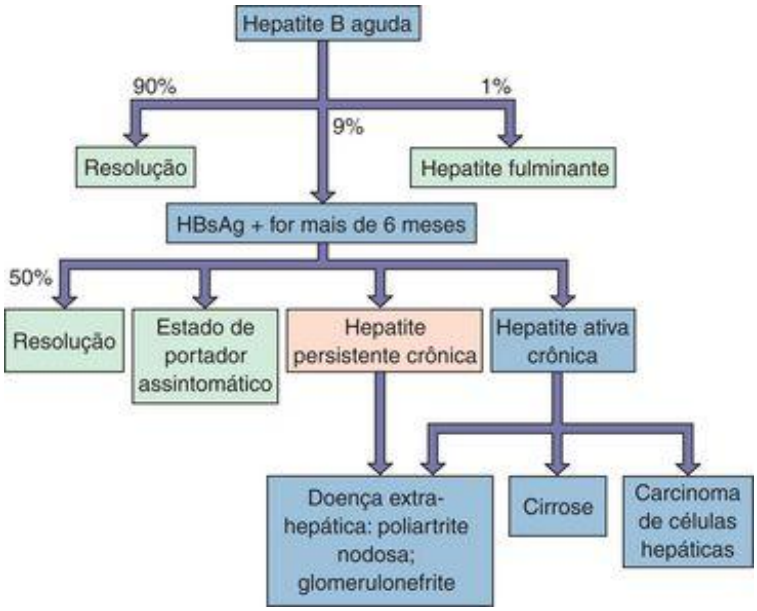


Figura 65-11 Consequências clínicas da infecção de hepatite B aguda.

(Cortesia de White DO, Fenner F: Medical Virology, 3rd. Ed. New York, Academic, 1986)

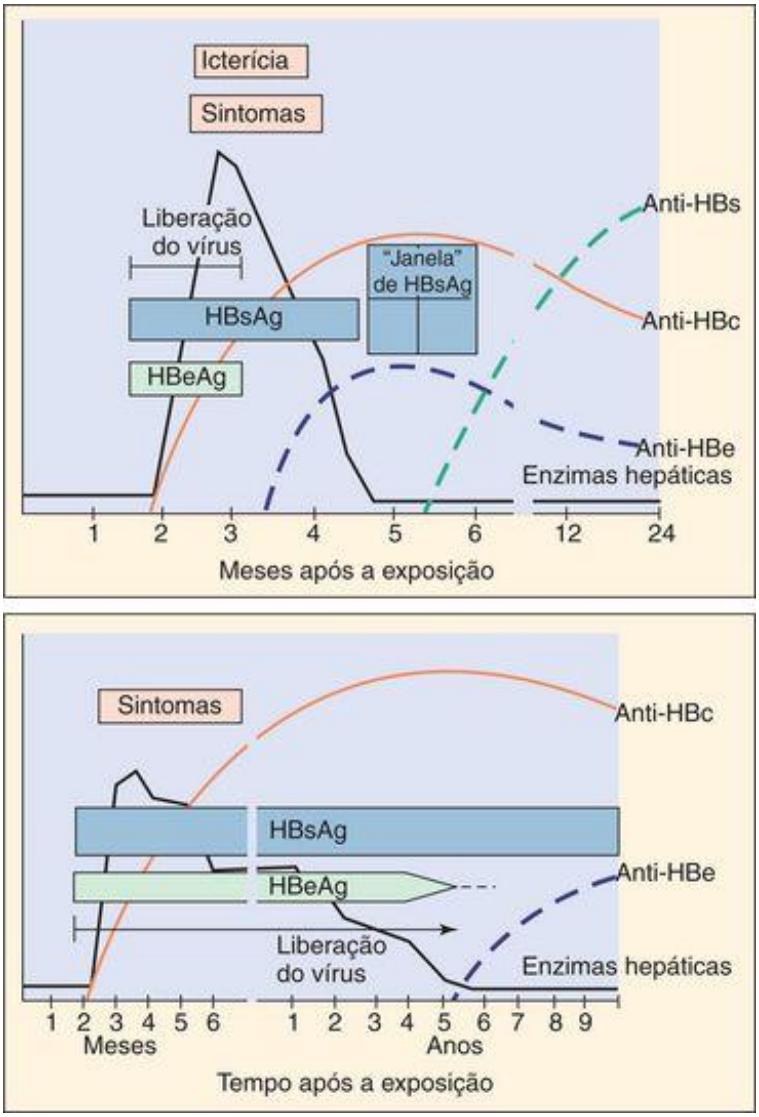


Figura 65-12 **A**, Episódios sorológicos associados ao curso típico da hepatite B aguda; **B**, Desenvolvimento do estado de portador crônico do vírus da hepatite B. O sorodiagnóstico de rotina é difícil durante a janela do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), quando HBs e anti-HBs são indetectáveis. Anti-HBs: anticorpo contra HBsAg; anti-HBc: anticorpo contra HBcAg; anti-HBe: anticorpo contra HBeAg.

(Cortesia de Hoofnagle JH: Annu Ver Med 32:1-11, 1981.)

A infecção por HBV é caracterizada por um **período longo de incubação e início insidioso**. Os sintomas durante a pródromo podem incluir febre, mal-estar e anorexia, seguidos de náusea, vômitos, desconforto abdominal e calafrios. Os sintomas ictéricos clássicos de dano hepático (p. ex., icterícia, urina escura, fezes pálidas) ocorrem logo depois. A recuperação é indicada pelo declínio da febre e pelo apetite renovado.

A hepatite fulminante ocorre em cerca de 1% dos pacientes ictéricos e pode ser fatal. A doença é marcada por sintomas mais intensos e indicação de dano hepático mais sério, como ascite e sangramento.

A infecção por HBV pode promover reações de hipersensibilidade causadas por complexos imunes de HBsAg e anticorpo. Esses complexos podem produzir erupção cutânea, poliartrite, febre, vasculite necrosante aguda e glomerulonefrite.

Infecção Crônica

A hepatite crônica ocorre em 5% a 10% das pessoas portadoras de infecções por HBV, geralmente após quadro inicial da doença leve ou não percebido. Cerca de um terço dessas pessoas apresenta hepatite crônica ativa com destruição continuada do fígado, levando à escarificação do fígado, cirrose, insuficiência hepática ou PHC. Os outros dois terços possuem hepatite passiva crônica e são menos propensos a problemas. A hepatite crônica pode ser detectada acidentalmente pela descoberta de níveis elevados de enzimas hepáticas em um perfil bioquímico de rotina. As pessoas com infecção crônica são a principal fonte de disseminação do vírus e estão em risco de doença fulminante se forem infectadas também com HDV.

Carcinoma Hepatocelular Primário

A Organização Mundial de Saúde estima que 80% de todos os casos de PHC podem ser atribuídos às infecções crônicas por HBV. O genoma do HBV está integrado às células do PHC e as células expressam antígenos ao HBV. O PHC é normalmente fatal e uma das três principais causas de mortalidade por câncer no mundo. Em Taiwan, pelo menos 15% da população é portadora do HBV e quase a metade vai a óbito por PHC ou cirrose. O PHC pode se tornar o primeiro câncer humano passível de prevenção por vacinação.

O HBV pode induzir o PHC ao promover reparo hepático e crescimento celular continuados em resposta ao dano aos tecidos ou por se integrar no cromossomo do hospedeiro e estimular diretamente o crescimento das células. Essa integração poderá estimular rearranjos genéticos ou justapor promotores virais próximos aos genes de controle do crescimento. De modo alternativo, uma proteína codificada por um gene X do HBV pode reativar (ligar) a transcrição de proteínas celulares e estimular o crescimento das células. A presença do genoma do HBV pode permitir que uma mutação subsequente promova a carcinogênese. O período de latência entre a infecção por HBV e o PHC pode variar de 9 a 35 anos.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico inicial de hepatite pode ser feito com base nos sintomas clínicos e na presença de enzimas hepáticas no sangue (Fig. 65-12). Entretanto, a sorologia da infecção por HBV descreve o curso e a natureza da doença (Tab. 65-2). As infecções agudas e crônicas por HBV podem ser diferenciadas pela presença de HBsAg e de HBeAg no soro e pelo padrão de anticorpos aos antígenos individuais do HBV.

Tabela 65-2 Interpretação dos Marcadores Sorológicos de Infecção pelo Vírus da Hepatite B

Tabela 65-2. Interpretação dos Marcadores Sorológicos de Infecção pelo Vírus da Hepatite B

	Estado Doentio					Estado Sadio	
Reatividade Sorológica	**Precoce (pré-sintomático)**	**Precoce agudo**	**Agudo**	**Crônico**	**Agudo Tardio**	**Resolvido**	**Vacinado**
Anti-HBC	–	–	–*	+	+/–	+	–
Anti-HBe	–	–	–	–	+/–	+/–-	–
Anti-HBs	–	–	–	–	–	+	+
HBeAg	–	+	+	+	–	–	–
HBsAg	+	+	+	+	+	–	–
Vírus infeccioso	+	+	+	+	+	–	–

HBeAg: antígeno e da hepatite B; HBsAg: antígeno de superfície da hepatite B.
** IgM anti-HBc deverá estar presente.*
- Anti-HBe pode ser negativo após doença crônica.

Os antígenos **HBsAg e HBeAg são secretados no sangue durante a replicação viral**. A detecção do HBeAg é o melhor correlato à presença do vírus infeccioso. Uma infecção crônica pode ser diferenciada pela descoberta continuada de HBeAg, HBsAg ou ambos e pela falta de anticorpo detectável contra esses antígenos.

Durante a fase sintomática da infecção, a detecção de anticorpos aos antígenos HBeAg e HBsAg é dificultada porque o anticorpo forma um complexo com o antígeno no soro. A melhor maneira de diagnosticar uma infecção aguda recente, especialmente durante o período em que nem o HBsAg nem o anti-HBs podem ser detectados (janela), é medir a IgM anti-HBc.

Tratamento, Prevenção e Controle

Embora não haja tratamento disponível para a infecção aguda, a **imunoglobulina da hepatite B** pode ser administrada dentro de uma semana da exposição e a bebês recém-nascidos de mães portadoras de HBsAg, para prevenir ou atenuar a doença. A infecção crônica por HBV pode ser tratada com drogas voltadas para a polimerase – por exemplo: **lamivudina (2′ 3′ dideoxi-3′-tiacitidina)**, que também é um inibidor da transcriptase reversa do HIV (vírus da imunodeficiência humana) – ou análogos de nucleosídeos, **adefovir, dipivoxil e famciclovir**. Esses tratamentos aprovados pelo FDA nos EUA são aplicados durante 1 ano. O **interferon-α** (IFN-α) também pode ser efetivo e deve ser administrado durante pelo menos 4 meses.

A transmissão do HBV no sangue ou nos derivados do sangue tem sido significativamente reduzida pela triagem do sangue de doadores quanto à presença de HBsAg e anti-HBc. Esforços complementares para prevenir a transmissão do HBV consistem em evitar a prática de sexo com um portador de HBV e estilos de vida que facilitem a disseminação do vírus. Os contatos domésticos e os parceiros sexuais de portadores de HBV estão em maior risco, como aqueles pacientes em hemodiálise, receptores de produtos à base de *pool* de plasma, profissionais de cuidados de saúde expostos a sangue e bebês nascidos de mães portadoras do HBV.

A **vacinação** é recomendada para lactentes, crianças e especialmente pessoas em grupos de alto risco (Quadro 65-4). Para recém-nascidos de mães portadoras de HBsAg e para pessoas acidentalmente expostas a sangue ou secreções de uma pessoa positiva para HBsAg, via pele ou mucosas, a vacinação é útil mesmo após a exposição. A imunização das mães deverá reduzir a incidência de transmissão a bebês e crianças mais velhas, reduzindo também o número de portadores crônicos do vírus. A prevenção do HBV crônico reduzirá a incidência de PHC.

As vacinas de HBV são vacinas de subunidade. A vacina inicial contra o HBV derivou de partículas de HBsAg de 22nm em plasma humano obtido de pessoas com infecção crônica. A vacina atual foi geneticamente construída e é produzida por inserção de um plasmídeo contendo o gene S para HBsAg em uma levedura, a *Saccharomyces cerevisiae*. A proteína se integra às partículas, intensificando sua imunogenicidade.

A vacina deve ser aplicada em uma série de três injeções, com a segunda e a terceira administradas dentro de 1 e 6 meses após a primeira dose. Mais de 95% dos indivíduos que recebem o curso total das três doses desenvolverão anticorpos de proteção. O sorotipo único e a faixa limitada de hospedeiros (homem) ajudam a assegurar o sucesso de um programa de imunização.

As **precauções universais com o sangue e os fluidos corporais** são postas em prática para limitar a exposição ao HBV. Assume-se que todos os pacientes estejam infectados. Luvas são exigidas para manusear o sangue e os fluidos corporais; o uso de vestuário de proteção e o equipamento de proteção ocular também podem ser necessários. Cuidados especiais deverão ser tomados com agulhas e instrumentos afiados. Os materiais contaminados com HBV podem ser desinfetados com soluções de hipoclorito de sódio a 10%, mas diferentemente da maioria dos vírus revestidos, o HBV não é prontamente inativado por detergentes.

Vírus da Hepatite C e G

O vírus da hepatite C foi identificado em 1989 após isolamento de um RNA viral de um chimpanzé infectado com sangue de uma pessoa portadora de NANBH. O RNA viral obtido do sangue foi convertido em DNA com transcriptase reversa, suas proteínas foram expressas e os anticorpos de pessoas com NANBH foram usados para detectar as proteínas virais. Esses estudos levaram ao desenvolvimento do teste ELISA e de outros testes genômicos para detecção do vírus, que ainda não podem ser cultivados em cultura de tecidos.

O HCV é a causa predominante da infecção pelo vírus NANBH e foi a principal causa da hepatite pós-transfusão antes da triagem de rotina do suprimento de sangue quanto à presença do HCV. Existem mais de 170 milhões de portadores do HCV no mundo e mais de 4 milhões nos EUA. O HCV é transmitido por meios similares aos do HBV, mas tem potencial ainda maior para o estabelecimento de hepatite crônica persistente. A hepatite crônica leva, com frequência, à cirrose e potencialmente ao carcinoma hepatocelular. O significado da epidemia de HCV se tornou mais aparente com o desenvolvimento de procedimentos de triagem laboratorial.

Estrutura e Replicação

O HCV é o único membro do gênero *Hepacivirus* da família ***Flaviviridae***. O vírus tem entre 30 e 60nm de diâmetro, **genoma de RNA de polaridade positiva** e é **envelopado**. O genoma do HCV (9.100 nucleotídeos) codifica 10 proteínas, incluindo duas glicoproteínas (E1, E2). As regiões hipervariáveis dentro dos genes de glicoproteína causam mutação extensa e variabilidade antigênica. Essa variabilidade torna muito difícil o desenvolvimento de uma vacina. Há seis grandes grupos de variantes (*clades*) que diferem em sua distribuição pelo mundo.

O HCV infecta somente o homem e os chimpanzés. Habilidades biológicas moleculares permitiram a expressão e o estudo da replicação do HCV. Ele adere aos receptores de superfície de CD81 (tetraspanina), que é expressa nos hepatócitos e nos linfócitos B e pode também se revestir por si próprio com lipoproteína de baixa ou de muito baixa densidade e então usar o receptor lipoproteico para absorção nos hepatócitos. O vírus se replica como outros flavivírus. O vírion é montado e brota no retículo endoplásmico, se tornando associado à célula. As proteínas do HCV inibem a apoptose e a ação do interferon-α aderindo ao receptor do fator de necrose tumoral e à proteína quinase R. Essas ações evitam a morte da célula do hospedeiro e promovem a infecção persistente.

Patogênese

A habilidade do HCV em permanecer associado à célula e prevenir a morte da célula hospedeira promove infecção persistente, mas resulta em doença hepática mais tarde na vida. As respostas imunemediadas pela célula são responsáveis tanto pela resolução da infecção quanto do dano ao tecido. A extensão da infiltração linfocítica, inflamação, fibrose da porta e periportal e da necrose lobular em biópsias hepáticas pode ser usada para classificar a intensidade da doença. Foi sugerido que o reparo contínuo do fígado e a indução do crescimento celular que ocorre durante a infecção crônica por HCV, especialmente em fígados cirróticos, são fatores predisponentes no desenvolvimento de PHC. O anticorpo ao HCV não é protetor e os achados obtidos por infecção experimental de chimpanzés indicam que a imunidade ao HCV pode não ser vitalícia.

Epidemiologia

O HCV é **transmitido principalmente em sangue infectado** e por via sexual. Os usuários de drogas injetáveis, os receptores de tatuagens, de transfusões e de órgãos transplantados e os hemofílicos que recebem os fatores VIII ou IX estão em risco máximo de infecção (Quadro 65-5). Quase todas (mais de 90%) as pessoas infectadas com HIV e que são ou eram usuários de drogas intravenosas estão infectadas com HCV. Esse vírus é especialmente prevalente na região ao sul da Itália, Espanha, Europa central, Japão e partes do Oriente Médio (p. ex., quase 20% de todos os doadores de sangue no Egito são HCV-positivos). A **alta incidência de infecções assintomáticas crônicas** promove a disseminação do vírus na população. Procedimentos de triagem levaram à redução nos níveis de transmissão do vírus por transfusão de sangue e doação de órgãos, mas a transmissão por outras vias ainda é prevalente.

Quadro 65-5 Epidemiologia dos Vírus da Hepatite B, C e D.

HBV, vírus da hepatite B; HCV: vírus da hepatite C; HDV: vírus da hepatite D

Fatores da Doença/Virais

O vírus envelopado é lábil à dessecação. O HBV é menos sensível a detergentes que outros vírus envelopados.

O vírus é liberado durante períodos assintomáticos.

O HBV (10%) e o HCV (70%) causam infecção crônica com propagação potencial.

Transmissão

No sangue, sêmen e secreções vaginais (HBV: saliva e leite materno).

Via transfusão, lesão por picada de agulha, injetáveis compartilhados por usuários de drogas ilícitas, relações sexuais e amamentação.

Quem Está sob Risco?

Crianças: doença assintomática leve com estabelecimento de infecção crônica.

Adultos: início insidioso de hepatite.

Pessoas infectadas com HBV e coinfectadas ou superinfectadas com HDV; sintomas abruptos mais intensos com possibilidade de doença fulminante.

Adultos com HBV ou HCV crônico: alto risco de cirrose e carcinoma hepatocelular primário.

Distribuição Geográfica Sazonalidade

Os vírus são encontrados no mundo todo.

Não há incidência sazonal.

Modos de Controle

Evitar o comportamento de alto risco.

HBV: **vacina** de partículas semelhantes a vírus (HBsAg).

Triagem do suprimento de sangue quanto à presença de HBV e HCV.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 65-1)

O HCV causa três tipos de doença (Fig. 65-13): (1) hepatite aguda com resolução da infecção e recuperação em 15% dos casos; (2) infecção crônica persistente com possível progressão para a doença mais tarde na vida para 70% das pessoas infectadas; e (3) progressão rápida e intensa para cirrose em 15% dos pacientes. A viremia pode ser detectada dentro de 1 a 3 semanas após uma transfusão de sangue contaminado com HCV e dura entre 4 a 6 meses em pessoas com infecção aguda, porém mais de 10 anos naqueles com infecção persistente. Em sua forma aguda, a infecção por HCV é semelhante àquela por HAV e HBV, mas a resposta inflamatória é menos intensa e os sintomas são normalmente mais leves. Com mais frequência (mais de 70%) a doença inicial é assintomática, mas estabelece doença crônica persistente. O sintoma predominante é a fadiga crônica. A doença crônica persistente geralmente progride para a hepatite crônica ativa dentro de 10 a 15 anos, para a cirrose (20% dos casos crônicos) e para a insuficiência hepática (20% dos casos cirróticos) após 20 anos. O dano hepático induzido pelo HCV pode ser exacerbado por álcool, certos medicamentos e outros vírus da hepatite que promovem a cirrose. O HCV promove o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular após 30 anos em até 5% dos pacientes cronicamente infectados.

Caso Clínico 65-1 Vírus da Hepatite C

Morsica et al. (Scand J Infect Dis 33:116-120, 2001) reportaram um caso no qual uma paciente de 35 anos foi internada com mal-estar e icterícia. Os níveis elevados de bilirrubina no sangue (71,8 µmol/L [valor normal < 17 µmol/L] e da enzima aspartato aminotransferase [AST] em 410 UI/L [valor normal < 30 UI/L]) indicavam prejuízo hepático. A sorologia foi negativa para anticorpos contra os vírus da hepatite A, B e C, vírus de Epstein-Bar, CMV e HIV-1. Entretanto, sequências de RNA genômico do HCV foram detectadas por RT-PCR. Os níveis da AST chegaram ao máximo na terceira semana após a internação e voltaram ao normal por volta da oitava semana. Nessa oitava semana, o genoma do HCV no sangue tinha níveis indetectáveis e o anticorpo anti-HCV foi detectado. Suspeitou-se de que a paciente tinha sido infectada por seu parceiro sexual, o que foi confirmado pela genotipagem de amostras virais obtidas de ambos. A confirmação foi fornecida por análise de sequência parcial do gene *E-2* dos dois isolados virais. A divergência genética de 5% detectada entre os isolados, sendo inferior à divergência de ~20% esperada para cepas não relacionadas. Antes da análise, o parceiro sexual da paciente desconhecia ser portador de infecção crônica por HCV. Mais intensamente que o HBV, que também é transmitido por meios sexuais e parenterais, o HCV causa infecções crônicas e que podem ser assintomáticas. A transmissão não percebida do vírus, como neste caso, reforça a disseminação viral. A análise molecular demonstra a instabilidade genética do genoma do HCV, um possível mecanismo para facilitar sua infecção crônica ao alterar sua aparência antigênica para escapar da resposta imune.

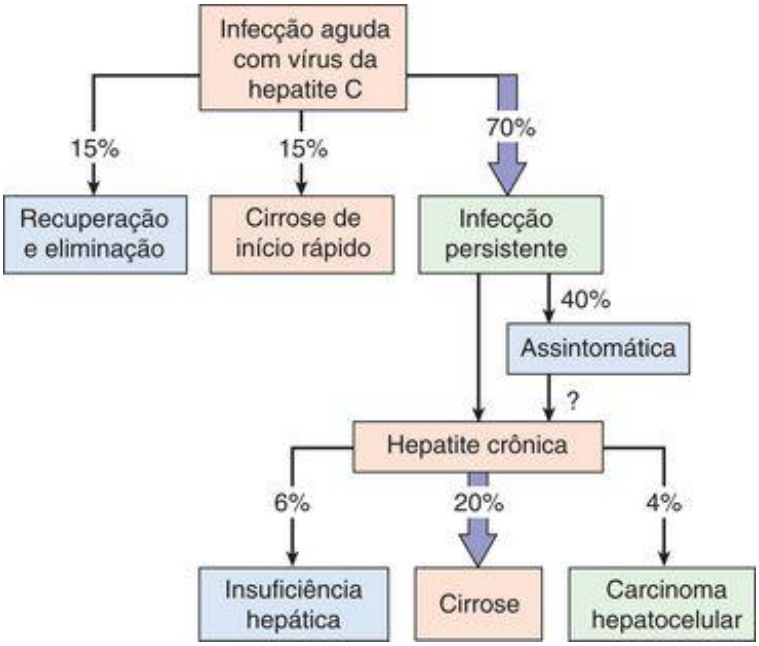


Figura 65-13 Consequências da infecção pelo vírus da hepatite C.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico e a detecção da infecção por HCV se baseiam no reconhecimento por ELISA do anticorpo anti-HCV ou detecção do genoma do RNA. A soroconversão ocorre dentro de 7 a 31 semanas da infecção. O teste ELISA é usado para triagem do suprimento de sangue de doadores normais. Assim como para o HIV, os resultados podem ser confirmados por procedimentos como *Western immunoblot*. Nem sempre o anticorpo é detectável em pessoas virêmicas, em pacientes imunocomprometidos ou naqueles submetidos a tratamento de hemodiálise. A reação da cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR), o teste b-DNA (*branched*-DNA) e outras técnicas moleculares podem detectar o RNA do HCV em pessoas soronegativas e se tornaram ferramentas-chave no diagnóstico de infecção por HCV.

Tratamento, Prevenção e Controle

O interferon-α recombinante ou peguilado (tratado com polietileno glicol para intensificar sua vida biológica), isolado ou combinado com ribavirina, é o único tratamento conhecido para o HCV. O tratamento com interferon peguilado e ribavirina por períodos estendidos pode levar a taxas de recuperação de até 50%.

Vírus da Hepatite G

O vírus da hepatite G lembra o HCV em muitos aspectos. Trata-se de um flavivírus, é transmitido pelo sangue e tem predileção por doença hepática crônica. Ele é identificado pela detecção do genoma por RT-PCR ou por outros métodos de detecção de RNA.

Vírus da Hepatite D

Cerca de 15 milhões de pessoas no mundo estão infectadas com HDV (agente delta) e o vírus é responsável por 40% dos casos de infecções de **hepatite fulminante**. O HDV é singular, pois usa o HBV e as proteínas das células-alvo para se replicar e produzir sua única proteína. Ele é um parasita viral provando que "mesmo pulgas têm pulgas". O **HBsAg é essencial para o empacotamento do vírus**. O agente delta lembra agentes satélites de vírus de plantas e viroides em seu tamanho, estrutura genômica e exigência de vírus auxiliar para replicação (Fig. 65-14).

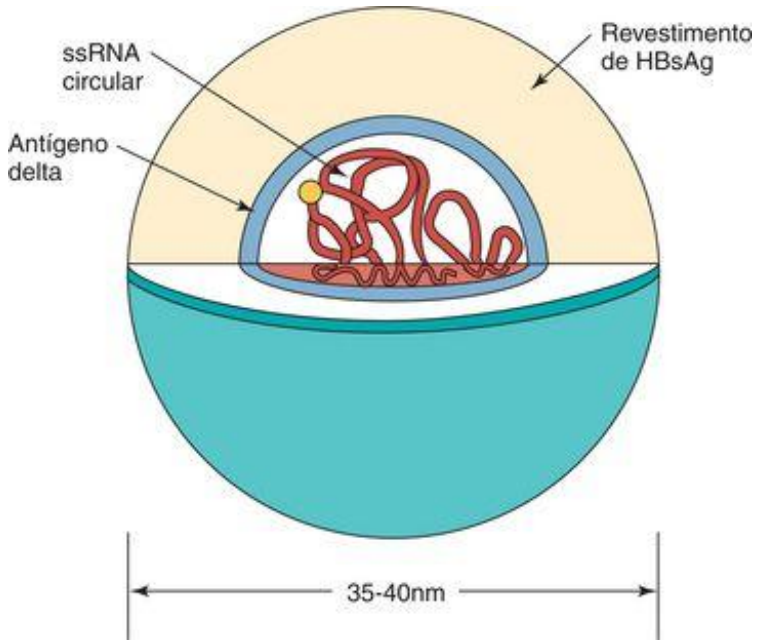


Figura 65-14 O vírion da hepatite delta.

Estrutura e Replicação

O **genoma do RNA do HDV é muito pequeno** (cerca de 1.700 nucleotídeos) e diferentemente de outros vírus, o RNA de filamento único é circular e forma um bastonete como resultado de seu pareamento extenso de base. O vírion tem quase o mesmo tamanho do vírion do HBV (35 a 37nm de diâmetro). O genoma é cercado pelo núcleo do antígeno delta que, por sua vez, é cercado por um revestimento contendo HBsAg. O **antígeno delta** existe com uma forma pequena (24kDa) ou grande (27kDa), mas a forma pequena é predominante.

O agente delta adere aos hepatócitos, e é internalizado da mesma maneira que o HBV, pois tem HBsAg em seu revestimento. Os processos de transcrição e de replicação do genoma do HDV são incomuns. A polimerase II do RNA da célula do hospedeiro faz uma cópia do RNA para replicar o genoma. Esse genoma então forma uma estrutura de RNA chamada de **ribozima**, que cliva o círculo do RNA para produzir um mRNA para o antígeno delta pequeno. O gene para o antígeno delta é mutado por uma enzima celular (adenosina desaminase ativada por RNA de filamento duplo) durante a infecção, permitindo a produção de um antígeno delta grande. A produção desse antígeno limita a replicação do vírus, mas também promove associação do genoma com o HBsAg para formar um vírion e o vírus é então liberado da célula.

Patogênese

Da mesma forma que o HBV, o agente delta é disseminado no sangue, sêmen e secreções vaginais. Entretanto, ele pode replicar e causar doença somente em pessoas com infecções ativas por HBV. Uma vez que dois agentes são transmitidos pelas mesmas vias, uma pessoa pode ser **coinfectada** com HBV e com o agente delta. Uma pessoa com HBV crônica também pode ser **superinfectada** com o agente delta. Progressão mais rápida e intensa ocorre em portadores de HBV superinfectados com HDV que em pessoas coinfectadas com HBV e o agente delta, porque durante a coinfecção o HBV precisa primeiro estabelecer sua infecção antes que o HDV possa se replicar (Fig. 65-15), enquanto a superinfecção de uma pessoa infectada com HBV permite que o agente delta se replique imediatamente.

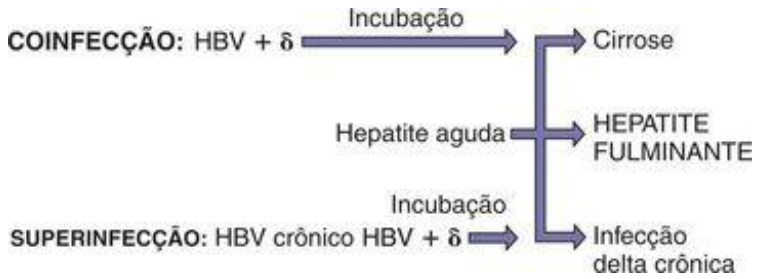


Figura 65-15 Consequências da infecção pelo vírus delta. O vírus delta (δ) exige a presença da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV). A superinfecção de uma pessoa já infectada com HBV (portador) causa progressão mais rápida e intensa que a coinfecção (*seta mais curta*).

A replicação do agente delta resulta em citotoxicidade e dano hepático. A infecção persistente por agente delta é estabelecida com frequência em portadores de HBV. Embora os anticorpos sejam produzidos contra o agente delta, a proteção provavelmente se origina da resposta imune ao HBsAg porque ele é o antígeno externo e a proteína de adesão viral para o HDV. Diferentemente da doença por HBV, o dano ao fígado ocorre como resultado do efeito citopático direto do agente delta combinado com a imunopatologia subjacente da doença por HBV.

Epidemiologia

O agente delta infecta crianças e adultos com infecção subjacente por HBV (Quadro 65-5) e as pessoas persistentemente infectadas com HBV e HDV representam uma fonte para o vírus. O agente tem distribuição mundial infectando cerca de 5% dos 3×10^8 portadores de HBV, sendo endêmico ao sul da Itália, Bacia Amazônica, partes da África e Oriente Médio. As epidemias de infecção por HDV ocorrem na América do Norte e na Europa Ocidental, geralmente em usuários de drogas ilícitas. O HDV se dissemina pelas mesmas vias que o HBV e os mesmos grupos estão em risco de infecção; estando em risco máximo usuários de drogas parenterais, hemofílicos e outros receptores de produtos de sangue. A triagem do suprimento de sangue reduziu o risco para os receptores de transfusões de derivados de sangue.

Síndromes Clínicas (Quadro 65-6)

O agente delta aumenta a intensidade das infecções por HBV. A hepatite fulminante tem mais probabilidade de se desenvolver em pessoas infectadas com o agente delta que naquelas infectadas com outros vírus de hepatite. Essa forma muito séria de hepatite causa alteração na função cerebral (encefalopatia hepática), icterícia extensa e necrose hepática significativa, que é fatal em 80% dos casos. A infecção crônica com o agente delta pode ocorrer em pessoas com HBV crônico.

Quadro 65-6 Resumos Clínicos

Hepatite A: Um paciente de 37 anos apresenta febre, calafrios, cefaleia e fadiga 4 semanas após se alimentar em um restaurante sem muita higiene. Dentro de 2 dias ele desenvolveu anorexia, vômito e dor no quadrante superior direito do abdômen, seguida de icterícia, urina e fezes escuras, que persistiram durante 12 dias. Em seguida, os sintomas diminuíram.

Hepatite B: Um usuário de drogas intravenosas (IV) de 27 anos desenvolve sintomas de hepatite 2 meses após ter compartilhado uma agulha já usada.

Hepatites B e D: Outro usuário de drogas IV desenvolve sintomas de hepatite, capacidade mental alterada e necrose hepática significativa, indo a óbito em seguida.

Hepatite C: Enzimas hepáticas elevadas foram detectadas em um indivíduo durante um exame detalhado. O HCV no sangue foi detectado por ELISA. Dez anos depois, ele sofreu cirrose e insuficiência hepática que exigiu transplante do fígado.

Diagnóstico de Laboratório

A presença do agente pode ser notada detectando-se o genoma de RNA, o antígeno delta ou os anticorpos anti-HDV. Os procedimentos por ELISA e radioimunoensaio estão disponíveis para essa detecção. O antígeno delta pode ser detectado no sangue durante a fase aguda da doença em amostra de soro tratada com detergente. Técnicas de RT-PCR podem ser usadas para detectar o genoma do vírion no sangue.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento específico conhecido para a hepatite por HDV. Uma vez que o agente delta depende do HBV para replicação e é disseminado pelas mesmas vias, a prevenção da infecção com HBV evita a infecção por HDV. A imunização com a vacina de HBV protege contra a infecção subsequente com o vírus delta. Se uma pessoa já adquiriu o HBV, a infecção com o agente delta pode ser prevenida suspendendo-se o uso intravenoso de drogas ilícitas e evitando produtos de sangue contaminado com HDV.

Vírus da Hepatite E

O HEV (E-NANBH) (E para entérico ou epidêmico) é disseminado predominantemente pela via fecal-oral, especialmente em água contaminada (Quadro 65-2). O HEV é único, mas lembra o calicivírus, pelo tamanho (27 a 34nm) e estrutura. Embora o HEV seja encontrado em todo o mundo, é mais problemático nos países emergentes. Epidemias foram informadas na Índia, Paquistão, Nepal, Burma, Norte da África e México.

Os sintomas e o curso da doença por HEV são semelhantes aos da doença por HAV; o vírus causa somente uma doença aguda. Entretanto, os sintomas para HEV podem ocorrer mais tarde que aqueles da doença por HAV. A taxa de mortalidade associada ao HEV é de 1% a 2%, aproximadamente 10 vezes aquela associada à doença por HAV. A infecção por HEV é especialmente grave em gestantes (taxa de mortalidade de aproximadamente 20%).

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 55 anos (**paciente A**) foi internado com fadiga, náusea e desconforto abdominal. Tinha febre baixa, urina amarela-escura e o abdômen distendido e sensível. Ele tinha voltado de uma viagem à Tailândia no mês anterior.

Uma paciente de 28 anos (**paciente B**) foi internada com queixas de vômito, desconforto abdominal, náusea, anorexia, urina escura e icterícia. Ela admitiu ter sido viciada em heroína anteriormente e que tinha compartilhado agulhas. Além disso, estava grávida de 3 meses.

Um paciente de 65 anos (**paciente C**) foi admitido com icterícia, náusea e vômito 6 meses após ser submetido à cirurgia para enxerto de revascularização de artéria coronária.

1. Quais dicas clínicas ou epidemiológicas teriam sido úteis no diagnóstico de hepatite A, B e C?

1. Em cada caso, o tempo e a natureza do início da doença seriam úteis para distinção de cada hepatite viral. A hepatite A tem um início agudo da doença, enquanto que o aparecimento de hepatites B e C são mais lentos e mais insidiosos.

2. Quais testes de laboratório teriam sido úteis na distinção entre as diferentes infecções de hepatite?

2. Os testes sorológicos seriam úteis para determinar a exposição recente para cada uma dos três vírus da hepatite e também para determinar o estágio da hepatite B. O vírus da hepatite C também pode ser detectado por RT-PCR (detecção do genoma viral).

3. Qual foi o meio mais provável de aquisição viral em cada um dos casos?

3. O paciente A provavelmente tem hepatite A e foi infectado por ingestão de alimentos contaminados. A paciente B pode ter hepatite B ou C adquirida por partilhar agulhas/seringas contendo sangue contaminado. O paciente C pode ter adquirido o vírus da hepatite C após uma transfusão de sangue quando ainda não se fazia triagem dos doadores para este vírus.

4. Quais precauções de saúde pessoal e pública deveriam ter sido tomadas para prevenir a transmissão do vírus em cada caso?

4. As infecções pelos vírus das hepatites A e B podem ser prevenidas pela vacinação. O risco de infecção pelos vírus da hepatites C e B pode ser reduzido pela triagem dos doadores de sangue, uso de seringas e agulhas descartáveis e esterilização cuidadosa dos equipamentos cirúrgicos. Cuidados com higiene pessoal, higienização correta dos alimentos e serviços de alimentação, locais de suprimentos de água propriamente desinfectados são importantes limitadores da disseminação dos vírus da hepatite A e E.

5. Qual dos pacientes estava suscetível à doença crônica?

5. Pacientes infectados com HBV e, especialmente, com HCV, são suscetíveis à doença crônica. A maioria dos indivíduos infectados com HCV progride para hepatite crônica.

6. Quais testes de laboratório distinguem a doença por HBV entre aguda e crônica?

6. A hepatite B aguda e crônica são sorologicamente discriminadas. A presença do antígeno de superfície (HBsAg) e antígeno “e” (HBeAg) do HBV combinados com a ausência de anticorpos para este antígenos (Anti-HBsAg e Anti-HBeAg) são bons indicadores de hepatite B crônica.

7. Como a doença por HBV pode ser prevenida? Tratada?

7. A infecção por HBV pode ser prevenida por procedimentos adequados de manuseio de sangue e componentes sanguíneos, uso de seringas e agulhas descartáveis e não compartilhamento destas entre usuários de drogas injetáveis, sexo com uso de preservativos e vacinação. A infecção crônica por HBV pode ser tratada com antivirais como a lamivudina, adefovir, dipivoxil e famciclovir. O interferon-α (IFN-α) também pode ser efetivo.

Bibliografia

Blum HE, Gerok W, Vyas GN. The molecular biology of hepatitis B virus. *Trends Genet*. 1989;5:154-158.

Cann AJ. Principles of Molecular Virology. San Diego: Academic, 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: Principles and Applications. Chichester: England, 2007.

Casey JL. Hepatitis Delta Virus. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 307*. Heidelberg: Springer-Verlag; 2006.

Catalina G, Navarro V. Hepatitis C: A challenge for the generalist. *Hosp Pract*. 2000;35:97-108.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Collier L, Oxford J. Human Virology, 3rd ed., Oxford: Oxford University Press, 2006.

Fallows DA, Goff AP. Hepadnaviruses: Current models of RNA encapsidation and reverse transcription. *Adv Virus Res*. 1996;46:167-196.

Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed, Washington, DC: ASM Press, 2003.

Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection—natural history and clinical consequences. *N Engl J Med*. 2004;350:1118-1119.

Hagedorn CH, Rice CM. The Hepatitis C Viruses. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 242*.

Berlin: Springer-Verlag; 2000.
Hoofnagle JH. Type A and type B hepatitis. *Lab Med*. 1983;14:705-716.
Knipe DM, Howley PM. Fields Virology, 4th ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
Lauer GM, Walker BD. Medical progress: Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2001;345:41-52.
Lok ASF. Chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2002;346:1682-1683.
Mason WS, Seeger C. Hepadnaviruses: Molecular biology and pathogenesis. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 162*. Berlin: Springer-Verlag; 1991.
Murray PR, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Plageman PGW. Hepatitis C virus. *Arch Virol*. 1991;120:165-180.
Robinson W, Koike K, Will H. Hepadnavirus. New York: Liss, 1987.
Strauss JH, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.
Tam AW, et al. Hepatitis E virus: Molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*. 1991;185:120-131.
Taylor JM. Hepatitis delta virus. *Virology*. 2006;344:71-76.
Voyles BA. The Biology of Viruses, 2nd ed., Boston: McGraw-Hill, 2002.

Sites

Gilroy RK, Mukhrjee S, Hepatitis A (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/MED/topic991.htm.
Hepatitis Hepatitis B Foundation: Statistics (on-line): Disponível em. http://www.hepb.org/hepb/statistics.htm.
Centers for Disease Control and Prevention, Viral Hepatitis Resource Center (on-line): Disponível em. http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/resource/index.htm.
Mukhrjee S Dhawan VK Hepatitis C (2006, on-line): Disponível em. http://www.emedicine.com/med/topic993.htm.
National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Hepatitis fact sheet on-line: Disponível em. http://www.niaid.nih.gov/publications/hepatitis.htm.
Sutphen Sutphen SK Hepatitis A and B Vaccines (on-line): Disponível em. www.medscape.com/viewprogram/7956_pnt.

66 Vírus Lentos não Convencionais: Príons

Os vírus lentos não convencionais, príons, causam encefalopatias espongiformes, que são doenças de degeneração neurológica lenta. Essas desordens incluem as doenças humanas: kuru, a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD), uma CJD variante (vCJD), a síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), a insônia familiar fatal (FFI) e a insônia fatal esporádica. Entre as doenças animais estão: o *scrapie*, encefalopatia espongiforme bovina (BSE – *bovine spongifrom encephalopathy*) – doença da vaca louca, doença debilitante crônica (em mulas, veados e alces) e encefalopatia transmissível de martas (Quadro 66-1). No final da década de 1990 ocorreram surtos da doença da vaca louca e de uma forma de transmissão rápida de CJD (vCJD) que afetou a população mais jovem (40 anos) no Reino Unido. A CJD, a FFI e a síndrome GSS também são desordens genéticas humanas.

Quadro 66-1 Doenças Causadas por Príons

Homem

Kuru

Doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD)

Variante de CJD (vCJD)

Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (síndrome GSS)

Insônia familiar fatal (FFI)

Insônia esporádica fatal

Animais

Scrapie (ovelhas e cabras)

Encefalopatia transmissível de martas

Encefalopatia espongiforme bovina (BSE; doença da vaca louca)

Doença debilitante crônica (mulas, cervos e alces)

Os príons são filtráveis e podem transmitir a doença, mas, por outro lado, não estão conformes com a definição padrão de vírus (Tab. 66-1). Diferente dos vírus convencionais, esses agentes não possuem o genoma ou a estrutura de vírion, não provocam resposta imune e são extremamente resistentes à inativação por calor, por desinfetantes e por radiação. O agente de vírus lento é uma forma mutante ou de conformação distinta de uma proteína hospedeira conhecida como **príon (uma pequena partícula infecciosa proteinácea)**, que pode transmitir a doença.

Tabela 66-1 Comparação entre Vírus Clássicos e Príons

	Vírus	**Príon**
Agentes infecciosos filtráveis	Sim	Sim
Presença de ácido nucleico	Sim	Não
Morfologia definida (microscopia eletrônica)	Sim	Não
Presença de proteína	Sim	Sim
Desinfecção por:		
Formaldeído	Sim	Não
Proteases	Alguns	Não
Calor (80°C)	A maioria	Não
Radiação ionizante e ultravioleta	Sim	Não
Doença:		
Efeito citopatológico	Sim	Não
Período de incubação	Depende do vírus	Longo
Resposta imune	Sim	Não
Produção de Interferon	Sim	Não
Resposta inflamatória	Sim	Não

Após longos períodos de incubação, esses agentes causam danos ao sistema nervoso central, levando à forma subaguda de encefalopatia espongiforme. O longo período de incubação, que pode durar até 30 anos no homem, tem dificultado o estudo desses agentes. Carlton Gajdusek ganhou o Prêmio Nobel ao demonstrar que o kuru tem etiologia infecciosa e por desenvolver um método para análise do agente. Stanley Prusiner ganhou o Nobel em 1997 por desenvolver uma infecção em um modelo de hamster para o agente de *scrapie*. Ele e seus colaboradores conseguiram purificar, caracterizar e então clonar os genes para o *scrapie* e outros agentes de príons e demonstrar que a proteína do príon (PrP) é suficiente para causar a doença.

Estrutura e Fisiologia

Suspeitou-se originalmente que os agentes virais lentos fossem vírus porque eles podiam passar por filtros que bloqueiam a passagem de partículas com mais de 100nm de diâmetro e ainda assim transmitir a doença. Porém, diferentemente dos vírus, os agentes resistem a uma ampla faixa de tratamentos químicos e físicos como: formaldeído, radiação ultravioleta e calor de até 80°C.

O protótipo desses agentes é o *scrapie*, que foi adaptado de modo a infectar hamsters. Os hamsters infectados apresentam no cérebro fibrilas associadas à doença. Essas fibrilas são infecciosas e contêm os príons. Estes, que não possuem ácido nucleico detectável, consistem em agregados de uma glicoproteína hidrofóbica resistente à protease denominada **PrP^{Sc}**(proteína de príon semelhante ao *scrapie*) (27 mil a 30 mil Da). O homem e outros animais codificam uma proteína **PrP^{C}** (proteína de príon celular) de função desconhecida que é mantida na membrana da célula por meio de uma ligação entre sua serina terminal e um lipídio especial, o glicofosfatidilinositol (proteína ligada ao GPI). A PrP^{C} é intimamente associada, ou pode ser idêntica à proteína PrP^{Sc} em sua sequência proteica, mas difere em estrutura terciária em virtude das diferenças no enovelamento das proteínas (Tab. 66-2). A PrP^{Sc} é resistente à protease, se agrega em bastonetes amiloides (fibrilas), é encontrado em vesículas citoplásmicas na célula e secretada em seguida. A PrP^{C}, por outro lado, é sensível à protease e aparece na superfície das células.

Tabela 66-2 Comparação entre Proteína de Príon do *Scrapie* (PrP^{Sc}) e Proteína de Príon Celular (Normal) (PrP^{C})

	PrP^{Sc}	**PrP^{C}**
Estrutura	Globular	Estendida
Resistência à protease	Sim	Não
Presença de fibrilas de *Scrapie*	Sim	Não
Localização dentro ou na superfície da célula	Vesículas citoplásmicas e ambiente extracelular	Membrana plasmática
Meia-vida	Dias	Horas

Muitas teorias já foram propostas para explicar como uma proteína aberrante poderia causar uma doença. A PrP^{Sc} adere à PrP^{C} na superfície celular, causando uma mudança na sua estrutura terciária e adquirindo a estrutura da PrP^{Sc}. A estrutura helicoidal alfa da PrP^{C} é alterada para uma estrutura mais semelhante à beta pregueada na PrP^{sc}, que pode ser liberada da célula e se acumular em agregados semelhantes a placas amiloides no cérebro. A célula então se reabastece de PrP^{C} e o ciclo continua. A versão humana da PrP^{C} é codificada no cromossomo 20. O fato de as placas serem constituídas de proteína do hospedeiro pode explicar a falta de uma resposta imune a esses agentes em paciente com encefalopatias

espongiformes.

Cepas diferentes de PrP^{Sc} ocorrem como resultado de mutações na PrP^{c} ou por causa de padrões alternativos de dobramento autoperpetuantes da proteína. Mutações específicas no códon 129 determinam a intensidade da doença de vCJD. A mutação de conformação, em vez de genética, é outra propriedade que diferencia os príons dos vírus. Quando a PrP^{Sc} se agrega, ela atua como um molde para transmitir sua conformação para cada nova PrP^{sc}, análogo a um molde genético (DNA ou RNA) que transmite sua sequência para um novo genoma viral. As diferentes cepas de conformação podem ter propriedades diferentes e aspectos variáveis da doença (p. ex., o período de incubação).

Patogênese

A **encefalopatia espongiforme** descreve a aparência de neurônios vacuolizados, assim como sua perda de função e falta de uma resposta imune ou inflamação (Quadro 66-2). São observadas: a vacuolização dos neurônios, a formação de placas contendo amiloides e fibrilas, a proliferação e hipertrofia dos astrócitos e a fusão de neurônios e de células gliais adjacentes (Fig. 66-1). A PrP^{Sc} é absorvida pelos neurônios e células fagocitárias, mas é difícil de se degradar, um aspecto que pode contribuir para a vacuolização do tecido cerebral. Além disso, os príons atingem concentrações elevadas no cérebro, contribuindo ainda mais para o dano aos tecidos. Os príons também podem ser isolados dos tecidos diferentes do tecido cerebral, mas somente o cérebro demonstra a presença de qualquer doença. Nenhuma inflamação ou resposta imune ao agente é gerada, o que distingue essa doença da encefalopatia viral clássica. Um marcador de proteína (proteína cerebral 14-3-3) pode ser detectado no líquido cefalorraquidiano de pessoas sintomáticas.

Quadro 66-2 Características Patogênicas dos Vírus Lentos não Convencionais

Ausência de efeito citopatológico *in vitro*
Tempo longo de duplicação de pelo menos 5,2 dias.
Longo período de incubação.
Causam vacuolização de neurônios (espongiformes) semelhantes a placas amiloides, gliose.
Os sintomas incluem perda de controle muscular, calafrios, tremores, demência.
Ausência de antigenicidade.
Ausência de inflamação.
Ausência de resposta imune.
Ausência de produção de interferon.

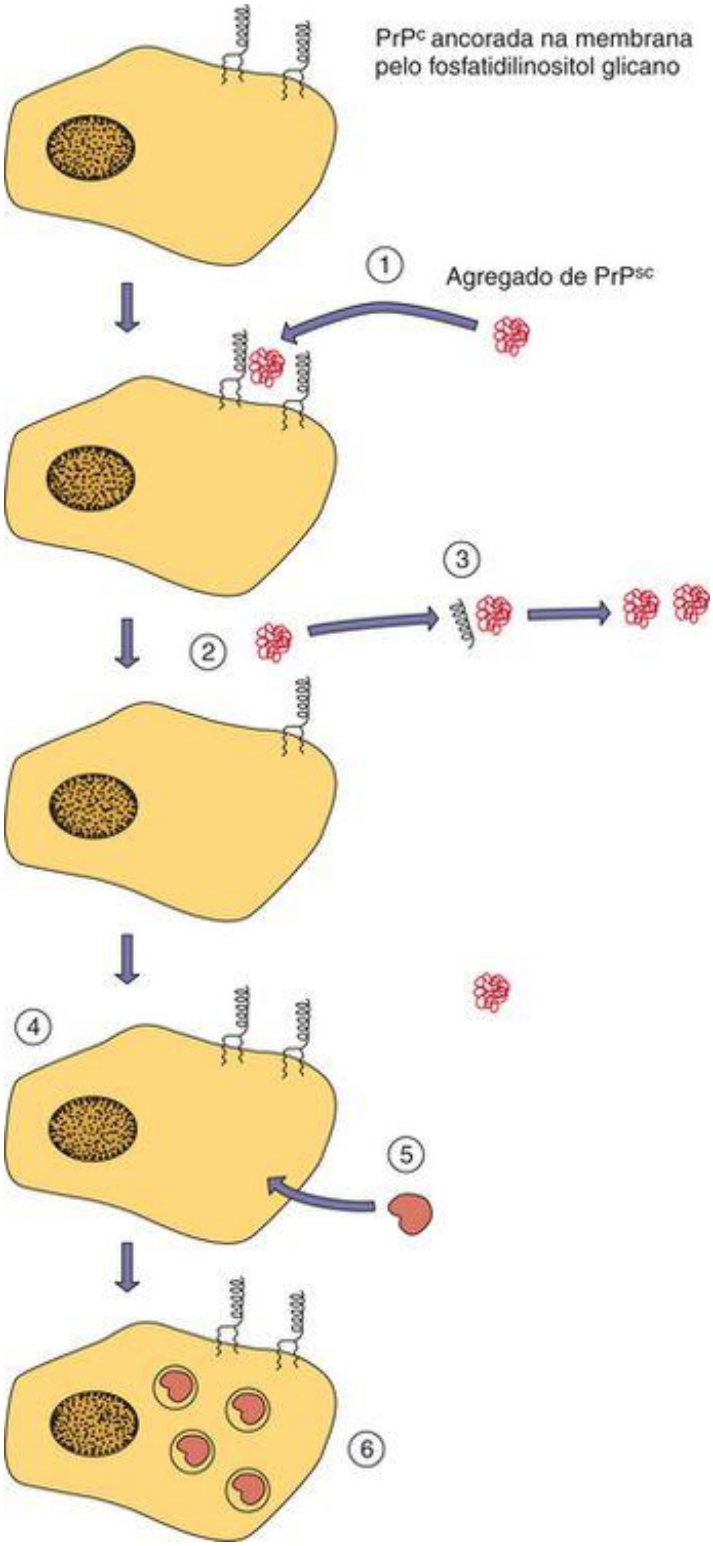


Figura 66-1 Modelo para proliferação de príons. PrP^{c} é uma proteína celular normal que fica ancorada na membrana da célula pelo fosfatidilinositol glicano. A PrP^{Sc} é uma proteína globular hidrofóbica que se agrega com ela mesma e com a PrP^{c} na superfície da célula *(1)*. A PrP^{c} adquire a conformação da PrP^{Sc}, é liberada da célula *(2)* e é convertida em PrP^{Sc}. *(3)* A célula sintetiza a nova proteína PrP^{c}*(4)* e o ciclo se repete. Uma forma de PrP^{Sc} é internalizada por neurônios *(5)* e se acumula *(6)*, dando à célula a aparência espongiforme. Outros modelos já foram propostos.

O período de incubação para CJD e kuru pode se prolongar por até 30 anos, mas uma vez manifestados os sintomas, o paciente vai a óbito em 1 ano.

Epidemiologia

A CJD é transmitida predominantemente por: (1) injeção, (2) transplante de tecido contaminado (p. ex., córneas), (3) contato com dispositivos médicos contaminados (p. ex., eletrodos cere brais) e (4) alimentos (Quadro 66-3). A doença normalmente afeta pessoas com mais de 50 anos. CJD, FFI e síndrome GSS também são hereditárias e famílias com histórias genéticas dessas doenças já foram identificadas. As doenças são raras, mas ocorrem no mundo todo.

Quadro 66-3 Epidemiologia de Doença Causada por Príons

Doença/Fatores Virais

Os agentes são resistentes aos procedimentos padronizados de desinfecção viral.

As doenças têm períodos de incubação muito longos, de até 30 anos.

Transmissão

A transmissão é feita via **tecido infectado** ou a síndrome **pode ser herdada**.

A infecção ocorre por meio de cortes na pele, transplantes de tecidos contaminados (p. ex., córnea), uso de dispositivos médicos contaminados (p. ex., eletrodos cerebrais) e por ingestão de tecido infectado.

Quem Está sob Risco?

Mulheres e crianças da tribo Fore na Nova Guiné estavam em risco de contrair kuru.

Cirurgiões, pacientes de transplante, de neurocirurgia e outros estão em risco de contrair CJD e a síndrome GSS.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

A síndrome de GSS e a CJD apresentam ocorrência esporádica no mundo todo.

Não há incidência sazonal.

Modos de Controle

Não há tratamentos disponíveis.

A interrupção do ritual de canibalismo levou ao desaparecimento do kuru.

Eliminação do uso de produtos animais na alimentação da criação previne a transmissão da vCJD.

Para a síndrome de GSS e CJD, instrumentos neurocirúrgicos e eletrodos deverão ser desinfetados em solução de hipoclorito a 5% ou hidróxido de sódio a 1,0M ou em autoclave a 103,42kPa durante 1 hora.

CJD: doença de Creutzfeldt-Jakob; GSS: Gerstmann-Sträussler-Scheinker.

O kuru foi limitado a uma área muito pequena da Nova Guiné (área montanhosa). O nome da doença significa “calafrio” ou “tremor” e a doença foi associada a práticas canibalísticas da tribo Fore da Nova Guiné. Antes da intervenção de Gajdusek, era costume desse povo comer os corpos de seus parentes falecidos. Quando esse pesquisador iniciou seu estudo, notou que especialmente as mulheres e as crianças eram mais suscetíveis à doença e deduziu que as mulheres e as crianças preparavam os alimentos, recebiam as vísceras menos desejáveis e o cérebro para comer. O risco de infecção era, portanto, mais alto porque essa população manuseava o tecido contaminado, possibilitando ao agente a introdução pela conjuntiva ou por cortes na pele. Além disso, ingeriam o tecido neural, que continha as concentrações mais altas dos agentes do kuru. A cessação desse costume canibalista acabou com a disseminação do kuru.

Uma epidemia de BSE (doença da vaca louca) em 1980 no Reino Unido e a incidência incomum de quadros de CJD de progressão cada vez mais rápida entre adultos jovens (até 45 anos) em 1996 sinalizaram a preocupação de que a carne contaminada poderia ser a fonte dessa variante da CJD (vCJD). A infecção do gado é causada, mais provavelmente, pelo uso de derivados animais contaminados (p. ex., entranhas de carneiro, cérebro) como suplemento na alimentação do gado. A ingestão de carne contaminada talvez seja a causa dos 153 casos de vCJD, mais de 98% dos quais ocorreram no Reino Unido.

Além da infecção, as doenças causadas por príons também podem ser familiares (genéticas) ou esporádicas, sem história conhecida de exposição. A síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) e a insônia familiar fatal (FFI) são doenças familiares causadas por príons.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 66-1, Quadro 66-4)

Como observado, os agentes dos vírus lentos causam uma doença neurológica degenerativa e progressiva com período longo de incubação, mas com progressão fatal rápida após o início dossintomas (Fig. 66-2). As encefalopatias espongiformes são caracterizadas por perda de controle muscular, calafrios, abalos mioclônicos e tremores, perda de coordenação, demência de progressão rápida e morte.

Caso Clínico 66-1 Transmissão da Doença de Creutzfeld-Jakob por Transfusão

Wroe et al. (Lancet 368:2061-2067, 2006) reportaram um caso no qual um homem de 30 anos consultou o médico da família por motivo de fadiga e incapacidade de concentração. Os sintomas foram atribuídos a uma infecção do trato respiratório. Nessa época, os exames neurológicos para o paciente apresentaram resultados normais. A história foi significativa porque durante cirurgia sofrida 7 anos antes o paciente recebera transfusão de concentrado de eritrócitos, incluindo sangue de um doador que faleceu 1 ano mais tarde com uma variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (vCJD). Após 6 meses da consulta inicial, o paciente já apresentava dificuldades para manter o equilíbrio, tendência a cambalear, alguns problemas de memória, tremor nas mãos e "dor em queimação" nas pernas. Nessa ocasião, não havia evidência de alterações na visão ou no estado mental. Após mais 6 semanas, se observou deterioração do estado mental e da memória do paciente, o equilíbrio e a deambulação se tornaram difíceis e dolorosos, a investigação por ressonância magnética e o eletroencefalograma indicaram alterações e um exame de sangue mostrou a presença da proteína de príon da vCJD (PrP^{Sc}). O estado mental do paciente e sua habilidade física continuaram a declinar; ele se tornou mudo, acamado, mal-responsivo e faleceu 8 anos e 8 meses após a transfusão. O teste *Western immunoblot* de amostras da autópsia do cérebro e das amígdalas acusou a presença da proteína PrP^{Sc}. No cérebro foram observadas placas de PrP e um quadro de encefalopatia espongiforme.

Em virtude do longo período de incubação para doenças causadas por príons, é difícil prevenir a transmissão de CJD por transfusão. A variante da CJD tem início mais rápido e este caso mostra a progressão clássica por cinco estágios: (1) incubação (6 anos); (2) pródromo de fadiga e dificuldade de concentração (18 meses); (3) declínio neurológico progressivo (9 meses); (4) fase neurológica tardia (4 meses); e (5) fase terminal. A análise por *immunoblot* da proteína príon pode diferenciar a PrP^{Sc} da proteína normal em amostras que podem ser obtidas das amígdalas do paciente (ou do cérebro, na autópsia).

Quadro 66-4 Resumos Clínicos

CJD: Um paciente de 63 anos se queixou de memória fraca e dificuldade com a visão e a coordenação muscular. Durante o ano seguinte, ele desenvolveu demência senil e movimentos bruscos irregulares, perda progressiva da função muscular e faleceu.

vCJD: Um paciente de 25 anos é examinado por um psiquiatra por causa de ansiedade e depressão. Após 2 meses, ele apresenta problemas de equilíbrio, de controle muscular, além de dificuldades de memória. Desenvolve mioclonia e falece em 12 meses da manifestação da doença.

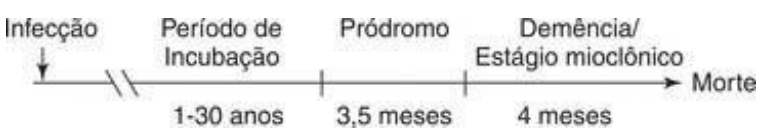


Figura 66-2 Progressão da doença transmissível de Creutzfeldt-Jakob.

Diagnóstico Laboratorial

Não há métodos para a detecção direta de príons em tecidos por meio da microscopia eletrônica, detecção de antígenos ou sondas de ácido nucleico. Da mesma forma, não há testes sorológicos que possam detectar anticorpos contra príons. O diagnóstico inicial deve ser feito com base no quadro clínico. A confirmação do diagnóstico pode ser feita pela detecção de uma forma de PrP proteinase K-resistente em *Western blot* usando anticorpos contra PrP em biópsia de amígdala. Na autópsia, podem ser observadas placas amiloides características, vacúolos espongiformes e a PrP detectada por imuno-histologia.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento para kuru ou CJD. Os agentes causadores também não são flexíveis aos procedimentos de desinfecção usados para outros vírus, incluindo formaldeído, detergentes e radiação ionizante. Para descontaminação pode-se aplicar autoclave a 103,42kPa durante 1 hora (em vez de 20 minutos) ou o tratamento com solução de hipoclorito a 5% ou hidróxido de sódio a 1M. Uma vez que esses agentes podem ser transmitidos nos instrumentos ou nos eletrodos cerebrais, esses itens deverão ser cuidadosamente desinfetados antes de ser usados.

O surto de BSE e de vCJD no Reino Unido promoveu a criação de legislação para interditar o uso de produtos animais na alimentação da criação e estimulou monitoramento mais cuidadoso do gado.

Estudo de Caso e Questões

Uma paciente de 70 anos se apresentou com queixas de cefaleias intensas, parecendo entorpecida e apática, além de tremor constante na mão direita. Um mês depois, sofreu perda de memória e momentos de confusão. O quadro continuou a deteriorar e após 2 meses do início dos sintomas foi obtido um traçado de eletroencefalografia anormal mostrando complexos periódicos bifásico e trifásico de ondas lentas. Aos 3 meses a paciente estava em estado semelhante ao coma. Ela também apresentava abalos clônicos espontâneos e ocasionais dos braços e das pernas e uma resposta de movimento brusco mioclônico de espanto a um ruído alto. A paciente faleceu por pneumonia 4 meses após o início dos sintomas. Na autópsia não foram observadas anormalidades significativas. Ao exame microscópico foram observados: gliose astrocítica do córtex cerebral, com fibrilas e vacuolização intracelular por toda a extensão desse córtex. Não houve inchaço nem inflamação.

1. Quais as doenças neurológicas virais deveriam ter sido consideradas no diagnóstico diferencial formulado com base nos sintomas descritos? Quais outras doenças?

1. Os sinais da doença e seu início insidioso sugerem uma encefalopatia espongiforme causada por príon, como Creutzfeldt Jakob. A ausência de inflamação distingue esta doença da encefalopatia multifocal progressiva causada pelo poliomavírus JCV.

2. Quais aspectos essenciais dos achados de *post-mortem* foram característicos das doenças causadas por agentes de vírus lentos não convencionais (p. ex., encefalopatias espongiformes, príons)?

2. A ausência de inflamação e a vacuolização do tecido cerebral são indicadores fortes de doença causada por príon.

3. Quais aspectos essenciais distinguem as doenças causadas por vírus lentos não convencionais das doenças virais neurológicas mais convencionais?

3. A falta de inchaço ou inflamação distingue as doenças causadas por príons de outras doenças neurológicas.

4. Quais precauções o patologista deveria ter tomado para proteção contra infecção durante o exame *post-mortem*?

4. Os príons são muito resistentes à maioria dos procedimentos de desinfecção. O patologista deve seguir as precauções habituais para desinfecção de materiais contaminados com sangue. Todos os materiais contaminados devem ser desinfetados em solução de hipoclorito de 5% ou autoclavados durante pelo menos uma hora.

Bibliografia

Belay ED. Transmissible spongiform encephalopathies in humans. *Annu Rev Microbiol*. 1999;53:283-314.

Brown P, et al. Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease by Western blot identification. *N Engl J Med*. 1986;314:547-551.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Flint SJ, et al. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed, Washington, DC: ASM Press, 2003.

Hsich G, et al. The 14–3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med*. 1996;335:924-930.

Knipe DM, Howley PM. Fields' Virology, 4th ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Manson JC. Understanding transmission of the prion diseases. *Trends Microbiol*. 1999;7:465-467.

Prusiner SB. Molecular biology and genetics of neurodegenerative diseases caused by prions. *Adv Virus Res*. 1992;41:241-280.

Prusiner SB. Prions, Prions, Prions. In: *Curr Top Microbiol Immunol, vol 207*. Berlin: Springer-Verlag; 1996.

Sites

Freudenrich Freudenrich CC: How mad cow disease works (on-line): Disponível em. http://science.howstuffworks.com/mad-cow-disease6.htm.

National Institutes of Health: Prion disease at NIH Genetics Home Reference (on-line): Disponível em. http://ghr.nlm.nih.gov/condition=priondisease.

Prion data (on-line) Prion data (on-line): Disponível em. http://www.priondata.org.

67 O Papel dos Vírus na Doença

A maioria das infecções virais provoca sintomas leves, ou nem sequer causa sintomas, e não exige tratamento extenso. O resfriado comum, a influenza, as síndromes semelhantes à gripe e a gastroenterite são doenças virais comuns. Outras infecções virais que visam tecidos e órgãos essenciais são muito citolíticas ou induzem efeitos imunopatológicos, podendo causar doença grave e até mesmo à morte. Em geral, os sintomas e a intensidade de uma infecção viral são determinados: (1) pela habilidade do paciente em prevenir ou resolver rapidamente a infecção, antes que o vírus possa atingir órgãos importantes ou causar danos significativos; (2) pelo tecido-alvo e pela virulência do vírus; (3) pela habilidade do corpo em reparar o dano.

Os capítulos anteriores destacaram as características virais que promovem a doença. Neste capítulo, as doenças virais são discutidas quanto aos seus sintomas, ao sistema orgânico que serve de alvo e aos fatores do hospedeiro que influenciam sua apresentação.

Doenças Virais

Os principais sítios de doença viral são: trato respiratório; trato gastrointestinal; revestimentos epitelial, mucoso e endotelial da pele, boca e genitália; tecido linfoide; fígado e outros órgãos além do sistema nervoso central (SNC) (Fig. 67-1). Os exemplos apresentados neste capítulo representam as causas mais comuns de doença.

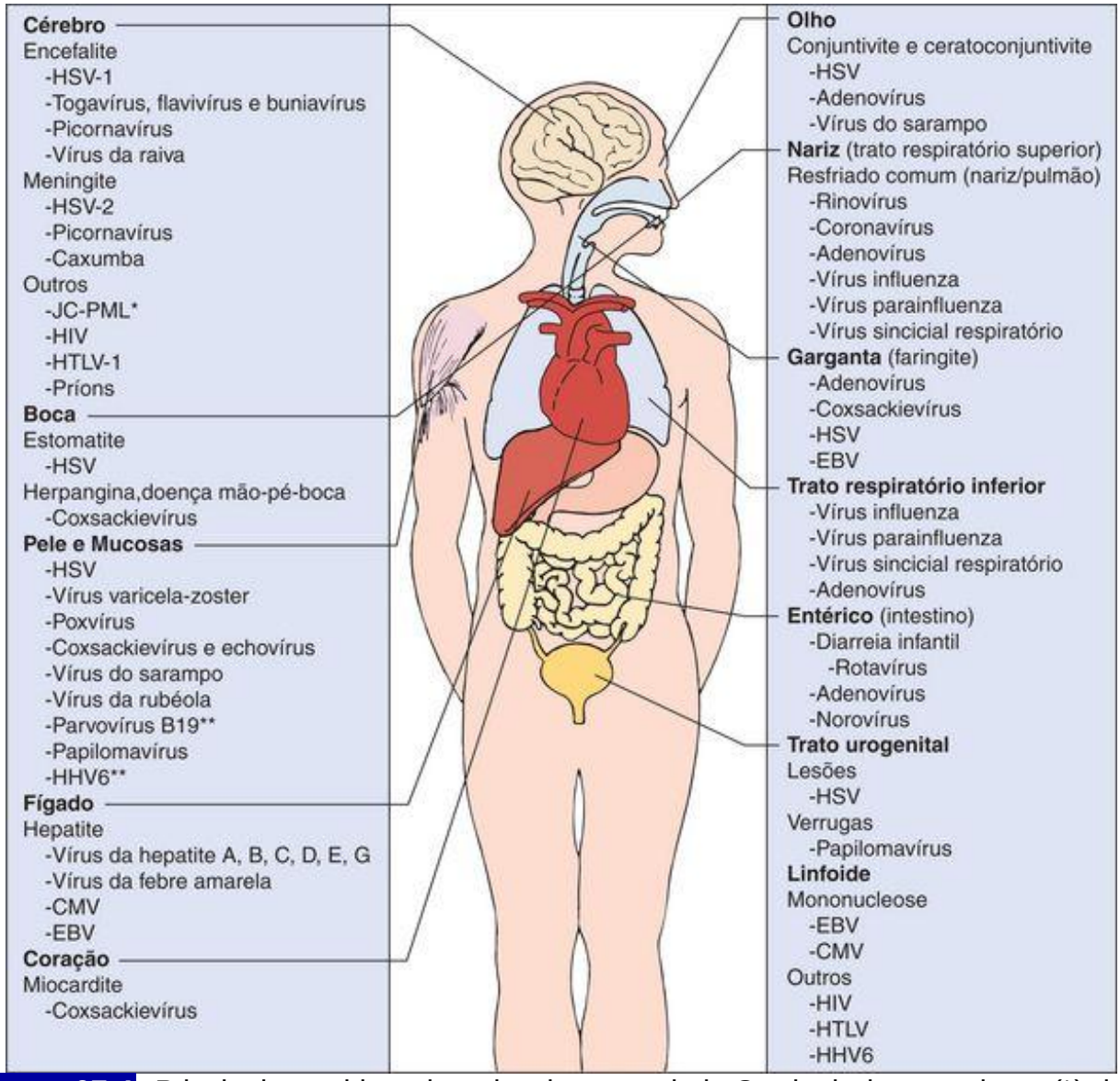


Figura 67-1 Principais tecidos-alvo de doença viral. O sinal de asterisco (*) indica leucoencefalopatia multifocal progressiva. A infecção por vírus indicada com (**) resulta em exantema imunomediado.

Infecções Orais e do Trato Respiratório

A orofaringe e o trato respiratório são os **sítios mais comuns** de infecção viral e doenças (Tab. 67-1). Os vírus são disseminados em gotículas respiratórias, aerossóis, alimentos, água e saliva, assim como por contato íntimo e pelas mãos. Os sintomas respiratórios similares podem ser causados por vários vírus diferentes. Por exemplo, a bronquiolite pode ser causada pelo vírus sincicial respiratório ou pelo vírus parainfluenza. Alternativamente, um vírus pode causar sintomas diferentes em pessoas diferentes. O vírus influenza pode causar uma infecção leve do trato respiratório superior em uma pessoa e uma pneumonia potencialmente fatal em outra.

Tabela 67-1 Doenças Orais e Respiratórias

Doença	Agente Etiológico
Resfriado comum (incluindo faringite)	Rinovírus*
	Coronavírus*
	Vírus influenza
	Vírus parainfluenza
	Vírus sincicial respiratório
	Metapneumovírus
	Adenovírus
	Enterovírus
Faringite	Vírus herpes simples
	Epstein-Barr vírus
	Adenovírus*
	Vírus Coxsackie A* (herpangina, doença da mão-pé-boca) e outros enterovírus
Crupe, amigdalite, laringite e bronquite (crianças com menos de 2 anos de idade)	Vírus parainfluenza 1*
	Vírus parainfluenza 2
	Vírus influenza
	Adenovírus

	Epstein-Barr vírus
Bronquiolite	Vírus sincicial respiratório* (lactentes)
	Metapneumovírus
	Vírus parainfluenza 3* (lactentes e crianças)
	Vírus parainfluenza 1 e 2
Pneumonia	Vírus sincicial respiratório* (lactentes)
	Metapneumovírus
	Vírus parainfluenza* (lactentes)
	Vírus influenza*
	Adenovírus
	Vírus varicela-zóster (infecção primária em adultos ou hospedeiros imunocomprometidos)
	Citomegalovírus (infecção de hospedeiro imunocomprometido)
	Sarampo

* *Agentes causais mais comuns*.

Muitas infecções virais iniciam na orofaringe ou no trato respiratório, infectam o pulmão e se disseminam sem causar sintomas respiratórios significativos. O vírus varicela-zoster (VZV) e o vírus do sarampo iniciam infecção no pulmão e podem causar pneumonia, mas geralmente provocam infecções sistêmicas levando a um exantema (erupção cutânea). Outros vírus que estabelecem a infecção primária da orofaringe ou do trato respiratório progredindo para outros sítios são: rubéola, caxumba, enterovírus e vários herpesvírus humanos – vírus herpes simples (HSV), Epstein-Barr vírus (EBV), citomegalovírus (CMV) e herpesvírus humano 6 (HHV-6).

Os sintomas e a intensidade de uma doença viral respiratória dependem da natureza do vírus, do sítio da infecção (trato respiratório superior ou inferior) e do estado de imunidade e idade da pessoa. Quadros como fibrose cística e tabagismo, que comprometem as barreiras ciliadas e mucoepiteliais contra a infecção, aumentam o risco de doença grave.

A faringite e as doenças orais são apresentações virais comuns. A maioria dos enterovírus infecta a orofaringe e a seguir progride por uma viremia para outros tecidos-alvo. Por exemplo, sintomas como faringite de início agudo, febre e lesões orais em forma de vesículas são características das infecções por coxsackievírus A (herpangina, doença da mão-pé-boca), de algumas infecções por coxsackievírus B e por echovírus. O adenovírus e os estágios iniciais da doença por Epstein-Barr vírus (EBV) são caracterizados por garganta inflamada e amigdalite com membranas exsudativas; então o EBV infecta os linfócitos B e causa mononucleose infecciosa. O HSV causa infecções primárias locais da mucosa da boca e da face (gengivoestomatite) estabelecendo uma infecção neuronal latente que pode recorrer na forma de herpes labial (bolhas febris). O HSV é também causa comum de faringite. As lesões vesiculares na mucosa bucal (manchas de Koplik) são um aspecto precoce diagnóstico da infecção do sarampo.

As infecções virais do trato respiratório superior, incluindo o resfriado comum e a faringite, respondem por pelo menos 50% do absenteísmo nas escolas e no trabalho, apesar de serem geralmente benignas. Os rinovírus e os coronavírus são as causas predominantes das infecções do trato respiratório superior. Nariz com coriza (rinite) seguida de congestão, tosse, espirros, conjuntivite, cefaleia e garganta inflamada são sintomas típicos do resfriado comum. Outras causas do resfriado comum e da faringite são sorotipos específicos dos echovírus e dos coxsackievírus, adenovírus, influenza, parainfluenza, metapneumovírus e vírus sincicial respiratório.

Amigdalite, laringite e **crupe** (laringotraqueobronquite) podem acompanhar certas

infecções virais do trato respiratório. O HSV e o coxsackievírus A também podem envolver as amígdalas, mas com lesões vesiculares. As respostas inflamatórias à infecção viral estreitam a traqueia abaixo das cordas vocais (área subglótica), resultando em laringite (nos adultos) e crupe (nas crianças). Esse estreitamento causa a perda da voz, tosse rouca e aguda e o risco, especialmente em crianças mais novas, de bloqueio das vias aéreas e choque. As crianças infectadas com vírus parainfluenza estão especialmente em risco de crupe.

As infecções virais do trato respiratório inferior também podem resultar em doença mais grave e os sintomas dessas infecções incluem: bronquiolite (inflamação dos bronquíolos), pneumonia e doenças associadas. O vírus parainfluenza, metapneumovírus e os vírus sinciciais respiratórios são problemas sérios para lactentes e crianças, mas causam somente infecções assintomáticas ou sintomas de um resfriado comum em adultos. O vírus parainfluenza 3, e especialmente as infecções por vírus sincicial respiratório são as causas principais da pneumonia ou da bronquiolite potencialmente fatais em lactentes com menos de 6 meses de idade. A infecção por esses vírus não fornece imunidade vitalícia.

O vírus influenza é, provavelmente, o mais conhecido e temido dos vírus respiratórios comuns, com a introdução anual de novas cepas assegurando sua presença em vítimas imunologicamente suscetíveis. As crianças são universalmente suscetíveis a novas cepas de vírus, enquanto as pessoas mais velhas podem ter sido imunizadas durante surto anterior da cepa anual. Apesar dessa imunização, os idosos são especialmente suscetíveis à pneumonia causada por novas cepas de vírus, pois podem não ter capacidade de montar resposta imune primária suficientemente efetiva a uma nova cepa do vírus influenza ou de reparar o dano tecidual causado pela doença. Outros possíveis agentes virais da pneumonia são: adenovírus, paramixovírus e infecções primárias por VZV em adultos.

Sintomas Sistêmicos e Semelhantes aos da Gripe

Muitas infecções virais causam os clássicos **sintomas semelhantes aos da gripe** (p. ex., febre, mal-estar, anorexia, cefaleia, dores no corpo), que são efeitos colaterais causados pelas respostas do hospedeiro à infecção. Durante a fase virêmica, muitos vírus induzem a liberação de interferon e de citocinas. Além dos vírus respiratórios, os sintomas parecidos aos da gripe podem acompanhar infecções causadas por vírus da arboencefalite, HSV tipo 2 (HSV-2) e por outros vírus.

Artrite e outras doenças inflamatórias podem resultar de respostas de hipersensibilidade imune induzidas pela infecção ou por complexos imunes contendo um antígeno viral. Por exemplo, a infecção por parvovírus B19 em adultos, a rubéola e a infecção por vários outros togavírus provocam artrite. Doenças por imunocomplexos associadas ao vírus da hepatite B crônica (HBV) podem resultar em várias apresentações, incluindo artrite e nefrite.

Infecções do Trato Gastrointestinal

Infecções do trato gastrointestinal podem resultar em gastroenterite, vômitos, diarreia ou não causar nenhum sintoma (Quadro 67-1). O vírus Norwalk, os calicivírus, astrovírus, adenovírus, reovírus e rotavírus infectam o intestino delgado, mas não o cólon, alterando a função ou prejudicando o revestimento epitelial e as vilosidades de absorção. Isso leva à absorção inadequada de água e ao desequilíbrio de eletrólitos. A diarreia resultante em crianças mais velhas e em adultos é, em geral, autolimitada e pode ser tratada com reidratação e restauração do equilíbrio eletrolítico. Esses vírus, especialmente o rotavírus, são problemas importantes para adultos e crianças em regiões com estiagem e fome.

Quadro 67-1 Vírus Gastrointestinais

Lactentes

Rotavírus A*

Adenovírus 40, 41
Coxsackievírus A24

Lactentes, Crianças e Adultos

Vírus de Norwalk*

Calicivírus
Astrovírus
Rotavírus B (surtos na China)
Reovírus

* *Causa mais comum*.

A gastroenterite viral tem efeito mais significativo em lactentes e pode exigir hospitalização. A extensão do dano aos tecidos e consequente perda de fluidos e de eletrólitos é um problema mais significativo para lactentes. O rotavírus e o adenovírus de sorotipos 40 e 41 são as principais causas de gastroenterite infantil.

A disseminação fecal-oral dos vírus entéricos é promovida pela higiene precária, predominando especialmente em creches. Surtos do vírus Norwalk e do calicivírus afetando crianças mais velhas e adultos estão geralmente associados à ingestão de um alimento ou fonte de água contaminados. Em geral, a diarreia vem acompanhada de vômitos nos pacientes infectados pelo vírus Norwalk e pelo rotavírus. Embora os enterovírus (picornavírus) sejam disseminados pela via fecal-oral, esses agentes normalmente causam apenas sintomas gastrintestinais leves ou mesmo nenhum sintoma. Em vez disso, esses vírus estabelecem uma viremia, se espalham para outros órgãos-alvo e causando a doença clínica.

Exantemas e Febres Hemorrágicas

A doença de pele induzida por vírus (Tab. 67-2) pode resultar da infecção através da mucosa ou de pequenos cortes ou abrasões na pele (HSV), como infecção secundária após o estabelecimento de uma viremia (VZV e varíola) ou como resultado da resposta inflamatória montada contra os antígenos virais (Parvovírus B19). As principais classificações de erupções cutâneas virais são: maculopapular, vesicular, nodular e hemorrágica. As **máculas** são manchas achatadas (planas) e coloridas. **Pápulas** são áreas de pele ligeiramente elevadas que podem resultar de respostas imunes ou inflamatórias, em vez dos efeitos diretos do vírus. **Nódulos** são áreas maiores e elevadas da pele. **Lesões vesiculares** são bolhas que provavelmente contêm vírus. Os papilomavírus causam verrugas e o molusco contagioso causa crescimentos semelhantes a verrugas (nódulos) ao estimular o crescimento das células da pele.

Tabela 67-2 Exantemas Virais

Quadro	Agente Etiológico
Exantema	
Exantema semelhante ao da rubéola	Vírus do sarampo
Rubéola ou sarampo alemão	Vírus da rubéola
Roséola infantil	Herpesvírus humano 6
Eritema infeccioso	Parvovírus humano B19
Exantema de Boston	Echovírus 16
Mononucleose infecciosa	Epstein-Barr vírus, citomegalovírus
Vesículas	
Herpes oral ou genital	Vírus herpes simples*
Catapora/cobreiro	Vírus varicela-zóster*
Doença da mão-pé-boca, herpangina	Coxsackievírus A*
Papilomas	
Verrugas	Papilomavírus*
Molusco	Molusco contagioso

* *Causa mais comum.*

Os exantemas clássicos da infância são a *roseola infantum* (roséola infantil ou exantema súbito [HHV-6]), a quinta doença (eritema infeccioso [parvovírus B19]) e (em crianças não vacinadas) varicela, sarampo e rubéola. O exantema é secundário à viremia e acompanhado de febre. Os exantemas também são causados por infecções por enterovírus, dengue e outras infecções causadas por flavivírus ou alfavírus. Essas erupções também são vistas, às vezes, em pacientes com mononucleose infecciosa.

O vírus da febre amarela, o vírus da dengue, o vírus Ebola, a febre de Lassa, o vírus *Sin Nombre* entre outros vírus de febre hemorrágica estabelecem a viremia e infectam o revestimento da célula endotelial dos vasos, possivelmente comprometendo a estrutura do vaso sanguíneo. A citólise viral ou imune pode então levar à maior permeabilidade ou ruptura do vaso, produzindo uma erupção hemorrágica com petéquias (hemorragias salpicadas sob a pele) e equimoses (contusões maiores) e, portanto, sangramento interno, perda de eletrólitos e choque.

Infecções do Olho

Essas infecções resultam do contato direto com um vírus ou da disseminação virêmica (Quadro 67-2). A conjuntivite (olho cor-de-rosa) é um aspecto normal de muitas infecções da infância e é característica de infecções causadas por sorotipos específicos do adenovírus (3, 4a e 7), pelo vírus do sarampo e da rubéola. A ceratoconjuntivite causada por adenovírus (8, 19a e 37), o HSV ou o VZV envolve a córnea e pode causar dano significativo. A doença causada por HSV pode recorrer, causar escarificação e cegueira. O enterovírus 70 e o coxsackievírus A24 podem causar conjuntivite hemorrágica aguda. A catarata é o aspecto clássico dos bebês nascidos com a síndrome da rubéola congênita. A coriorretinite está associada à infecção por CMV em recém-nascidos (congênita) como também em pessoas imunocomprometidas (p. ex., aquelas com a síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]).

Quadro 67-2 Infecções dos Órgãos e dos Tecidos

Fígado

Vírus da hepatite A*, B*, C*, G, D e E

Vírus da febre amarela
Epstein-Barr vírus
Hepatite em neonato ou pessoa imunocomprometida:

Citomegalovírus

Vírus herpes simples

Vírus varicela-zóster

Vírus da rubéola (síndrome da rubéola congênita)

Coração

Coxsackievírus B

Rim

Citomegalovírus

Músculo

Coxsackievírus B (pleurodinia)

Glândulas

Citomegalovírus

Vírus da caxumba

Olho

Vírus herpes simples

Adenovírus*
Vírus do sarampo
Vírus da rubéola
Enterovírus 70
Coxsackievírus A24

* *Causa mais comum*.

Infecções dos Órgãos e dos Tecidos

As infecções dos órgãos principais podem causar doença significativa ou resultar em mais disseminação ou secreção do vírus (Quadro 67-2). Os sintomas podem surgir do dano ao tecido ou das respostas inflamatórias.

O fígado é um alvo predominante para muitos vírus que o alcançam por viremia ou pelo sistema de fagócitos mononucleares (reticuloendotelial). O fígado atua como fonte para uma viremia secundária, mas também pode ser danificado pela infecção. Os vírus da hepatite A, B, C, G, D, e E e o vírus da febre amarela causam os sintomas clássicos de hepatite e estão associados com frequência à mononucleose infecciosa por EBV e às infecções por CMV. O fígado é também um alvo principal na infecção disseminada por HSV dos neonatos e dos lactentes.

O coração e outros músculos também são suscetíveis à infecção viral e aos danos decorrentes. O coxsackievírus pode causar miocardite ou pericardite em recém-nascidos, crianças e adultos. O coxsackievírus B pode infectar os músculos e causar pleurodinia (doença de Bornholm). Outros vírus (p. ex., vírus influenza, CMV) também podem infectar o coração.

A infecção das glândulas secretoras, dos órgãos sexuais acessórios e das glândulas mamárias resulta em disseminação contagiosa de CMV. Uma resposta inflamatória à infecção, como ocorre na **caxumba** (parotite, orquite), pode ser a causa dos sintomas. A infecção por CMV do rim e a reativação representam problemas para pessoas imunocomprometidas e uma razão importante para a falha do transplante renal.

Infecções do Sistema Nervoso Central

As infecções virais do cérebro e do SNC podem causar as doenças virais mais graves por causa da importância do SNC e de sua capacidade muito limitada de reparar danos (Quadro 67-3). O dano ao tecido é geralmente causado por uma combinação de patogênese viral e imunopatogênese. A maioria das infecções virais neurotrópicas, entretanto, não resulta em doença, já que o vírus não atinge o cérebro ou não causa dano suficiente ao tecido para produzir sintomas.

Quadro 67-3 Infecções do Sistema Nervoso Central

Meningite

Enterovírus
- Echovírus
- Coxsackievírus*
- Poliovírus

Vírus herpes simples 2

Adenovírus

Vírus da caxumba

Vírus da coriomeningite linfocítica

Vírus da arboencefalite

Paralisia

Poliovírus

Enterovírus 70 e 71

Coxsackievírus A7

Encefalite

Vírus herpes simples 1*

Vírus varicela-zoster

Vírus da arboencefalite*

Vírus da raiva

Coxsackievírus A e B

Poliovírus

Encefalite pós-infecciosa (mediada pelo sistema imune)

Vírus do sarampo

Vírus da caxumba

Vírus da rubéola

Vírus varicela-zóster

Vírus influenza

Outros

Vírus JC (leucoencefalopatia multifocal progressiva [em pessoas imunocomprometidas])

Variante de sarampo (panencefalite esclerosante subaguda)

Príon (encefalopatia)

Vírus da imunodeficiência humana (demência da AIDS)

Vírus linfotrópico 1 da célula T humana (paraparesia espástica tropical)

* *Causa mais comum*.

O vírus pode disseminar para o SNC através do sangue (arbovírus) ou em macrófagos (vírus da imunodeficiência humana [HIV]); também pode se espalhar a partir de uma infecção periférica dos neurônios (olfatória), ou pode infectar primeiro a pele (HSV) ou o músculo (pólio, raiva) e progredir para os neurônios de inervação. O vírus pode ter predileção por certos sítios no cérebro (p. ex., o lobo temporal é o alvo da encefalite por HSV, o corno de Ammon (hipocampo) na raiva e o corno anterior da medula espinal e os neurônios motores para o vírus da poliomielite).

As infecções virais do SNC são normalmente diferenciadas das infecções bacterianas pelo achado de células mononucleares, do baixo número de leucócitos polimorfonucleares e por níveis normais ou levemente reduzidos de glicose no líquido celaforraquidiano. A detecção por imunoensaio de antígenos específicos, de genomas virais ou do RNA mensageiro pela técnica da reação em cadeia da polimerase ou o isolamento do vírus em uma amostra de líquido cefalorraquidiano ou em espécime de biopsia confirmam o diagnóstico e identificam o agente viral. A estação do ano também facilita o diagnóstico, pois as doenças por enterovírus e por arbovírus geralmente ocorrem durante o verão, enquanto a encefalite por HSV e outras síndromes virais podem ser observadas durante todo o ano.

A **meningite asséptica** é causada por inflamação e inchaço das meninges que cobrem o cérebro e a medula espinal em resposta à infecção com enterovírus (especialmente os echovírus e o coxsackievírus), HSV-2, vírus da caxumba ou vírus da coriomeningite linfocítica. Em geral, a doença é autolimitada e, diferentemente da meningite bacteriana, cura sem sequelas a menos que o vírus tenha acesso aos neurônios e ao cérebro, infectando-os (**meningoencefalite**). O vírus ganha acesso às meninges por viremia.

A **encefalite** e a **mielite** resultam de uma combinação de patogênese viral e imunopatogênese em tecido e neurônios cerebrais e são quadros fatais ou que causam dano significativo e sequelas neurológicas permanentes. As causas potenciais da encefalite são: HSV, VZV, vírus da raiva, vírus da encefalite da Califórnia, vírus da encefalite do Oeste do Nilo e de St. Louis, vírus da caxumba, e o vírus do sarampo. O poliovírus e vários outros enterovírus causam doença paralítica (mielite).

O HSV e o VZV são vírus ubíquos e normalmente causam infecções latentes assintomáticas do SNC, mas podem também causar encefalite. A maioria das infecções por vírus da arboencefalite resulta em sintomas semelhantes aos da gripe, em vez da encefalite. A encefalite pós-sarampo e a panencefalite esclerosante subaguda eram sequelas raras do sarampo antes da vacina.

Outras síndromes neurológicas induzidas por vírus são a demência por HIV, a paraparesia espástica tropical causada pelo vírus linfotrópico 1 da célula T humana (HTLV-1), a leucoencefalopatia multifocal progressiva induzida por poliomavírus JC em indivíduos

imunocomprometidos e as encefalopatias espongiformes associadas a príons (kuru, doença de Creutzfeldt-Jakob, doença de Gerstmann-Sträussler-Scheinker). A leucoencefalopatia multifocal progressiva e as encefalopatias espongiformes têm períodos de incubação longos (vírus lentos convencionais e não convencionais).

Os linfócitos e os macrófagos não são muito permissíveis à replicação viral, mas são alvos para diversos vírus que estabelecem infecções persistentes. A replicação viral do EBV, HIV ou CMV durante a fase aguda da infecção provoca uma grande resposta de células T, resultando em **síndromes semelhantes à mononucleose**. Além disso, CMV, vírus do sarampo e infecções por HIV de células T são imunossupressoras. O HIV reduz o número de células CD4 auxiliares e das células T de hipersensibilidade tardia, comprometendo ainda mais o sistema imune. A infecção por HTLV-1 causa doença leve, mas pode levar à **leucemia de células T adulta** ou à paraparesia espástica tropical mais tarde na vida (Quadro 67-4).

Quadro 67-4 Vírus Transmitidos pelo Sangue

Hepatite B, C, G e D
Vírus da imunodeficiência humana
Vírus linfotrópico 1 da célula T humana
Citomegalovírus
Epstein-Barr vírus
Vírus da encefalite do Oeste do Nilo

Os macrófagos e as células da linhagem dos macrófagos podem ser infectados por muitos vírus. Os macrófagos atuam como veículos para disseminação do vírus por todo o corpo porque a replicação dos vírus é ineficiente nesses tipos celulares e as células geralmente não são lisadas pela infecção. Este processo promove infecções persistentes e crônicas. O macrófago é a célula-alvo primária para o vírus da dengue. Anticorpos não neutralizantes podem promover a absorção do vírus da dengue e do HIV para o interior da célula por meio de receptores Fc. Os macrófagos e as células da linhagem dos macrófagos são as células iniciais infectadas com HIV que fornecem um reservatório para o vírus além do acesso ao cérebro. Acredita-se que a demência por AIDS resulte das ações desses macrófagos infectados e das células microgliais no cérebro.

Doenças Virais Sexualmente Transmitidas

A transmissão sexual é a principal via para a disseminação de papilomavírus, HSV, CMV, HIV, HTLV-1, HBV, vírus da hepatite C (HCV) e da hepatite D (HDV) (Quadro 67-5). Esses vírus estabelecem infecções crônicas e latentes recorrentes, com liberação viral assintomática no sêmen e secreções vaginais. Essas propriedades virais estimulam a disseminação por uma via de transmissão menos usual para os vírus e que poderia ser evitada durante a doença sintomática. Os vírus também podem ser transmitidos no parto ou nos cuidados perinatais aos bebês. O papilomavírus e o HSV estabelecem infecções primárias locais com doença recorrente no mesmo sítio. As lesões e a propagação assintomática são fontes de transmissão sexual ou perinatal para o recém-nascido. O CMV e o HIV penetram na corrente sanguínea infectando as células linfoides, enquanto os vírus da hepatite se dirigem ao fígado. O CMV, o HIV e os vírus da hepatite estão presentes no sangue, no sêmen e nas secreções vaginais, podendo transmiti-los aos parceiros sexuais e aos recém-nascidos.

Quadro 67-5 Vírus Sexualmente Transmitidos

Papilomavírus humano 6, 11 e 42
Papilomavírus humano 16 e 18 (associados ao carcinoma cervical humano)
Vírus herpes simples (predominantemente HSV-2)
Citomegalovírus
Vírus da hepatite B, C e D
Vírus da imunodeficiência humana
Vírus linfotrópico 1 da célula T humana

Disseminação de Vírus por Transfusão e Transplante

HBV, HCV, HDV, HIV, HTLV-1 e CMV são transmitidos pelo sangue e por transplante de órgãos. Esses vírus também estão presentes no sêmen e são sexualmente transmitidos. A natureza crônica da infecção, a liberação viral assintomática persistente ou a infecção dos macrófagos e dos linfócitos promove a transmissão por essas vias. O vírus da encefalite do Oeste do Nilo estabelece viremia suficiente por um período suficientemente longo possibilitando a ocorrência da transmissão via transfusão. A triagem do suprimento de sangue em busca da presença de HBV, HCV, HIV e HTLV tem controlado a transmissão desses vírus nas transfusões de sangue (Quadro 67-6). Ainda não foram desenvolvidos procedimentos em larga escala para triagem de outros vírus, de modo que o risco de disseminação do CMV por essas vias ainda existe.

Quadro 67-6 Triagem do Suprimento de Sangue

Síndrome da imunodeficiência humana
Hepatite B
Hepatite C
Vírus linfotrópicos 1 e 2 da célula T humana
Vírus da encefalite do Oeste do Nilo*
Sífilis

* *Estudo iniciado em 2003 em 6 milhões de unidades, com 818 unidades positivas excluídas do uso*.

Disseminação de Vírus por Artrópodes e Animais

Muitos dos togavírus, flavivírus, buniavírus e reovírus da febre do carrapato do Colorado estabelecem viremia suficiente em pássaros ou animais para permitir a contaminação de mosquitos ou carrapatos e, subsequentemente, do homem. O arenavírus, o rabdovírus e o hantavírus são transmitidos aos seres humanos na saliva, urina, fezes ou mordida de um animal infectado (Tabela 67-3).

Tabela 67-3 Arbovírus e Zoonoses

Vírus	**Família**	**Reservatório / Vetor**
Encefalite equina oriental	Toga	Pássaros/mosquitos *Aedes*
Encefalite equina ocidental	Toga	Pássaros/mosquito *Culex*
Encefalite do Oeste do Nilo	Flavi	Pássaros/mosquito *Culex*
Encefalite de St. Louis	Flavi	Pássaros/mosquito *Culex*
Encefalite da Califórnia	Bunya	Mamíferos pequenos/ mosquito *Aedes*
Encefalite de La Crosse	Bunya	Mamíferos pequenos/ mosquito *Aedes*
Febre amarela	Flavi	Pássaros/mosquito *Aedes*
Dengue	Flavi	Macacos/mosquito *Aedes*
Febre do carrapato do Colorado	Reo	Carrapato
Coriomeningite linfocítica	Arena	Mamíferos pequenos
Febre de Lassa	Arena	Ratos
Vírus *Sin Nombre*	Hanta	Cervos, camundongos
Vírus Ebola	Filo	Desconhecidos
Raiva	Rabdo	Morcegos, raposas, guaxinins etc.

Síndromes de Possível Etiologia Viral

Várias doenças ou produzem sintomas ou apresentam características epidemiológicas ou de outra natureza que lembram aquelas das infecções virais ou podem representar sequelas de infecções virais (p. ex., respostas inflamatórias a uma infecção viral persistente). Entre elas estão: **esclerose múltipla, doença de Kawasaki, artrite, diabetes** e **síndrome da fadiga crônica**.

Infecções Crônicas e Potencialmente Oncogênicas

As infecções crônicas ocorrem quando o sistema imune tem dificuldade em resolver a infecção. Os vírus do DNA (exceto parvovírus e poxvírus) e os retrovírus causam infecções latentes com potencial para a recorrência. O CMV e outros herpesvírus, os vírus da hepatite B, C, G e D e os retrovírus causam infecções produtivas e crônicas.

HBV, HCV, EBV, HHV-8, papilomavírus e HTLV-1 estão associados a **cânceres humanos**. EBV, papilomavírus e HTLV-1 podem imortalizar as células, após o que, cofatores, aberrações cromossômicas ou ambos permitem o crescimento de um clone de célula contendo vírus e sua evolução para um câncer. Normalmente, o EBV causa mononucleose infecciosa, mas está também associado ao linfoma de Burkitt africano, ao linfoma de Hodgkin, aos linfomas em indivíduos imunocomprometidos e ao carcinoma nasofaríngeo; o HTLV-1 está associado à leucemia de células T de adultos. Muitos papilomavírus induzem um quadro de hiperplasia simples, caracterizado pelo desenvolvimento de uma verruga; entretanto, várias outras cepas de papilomavírus já foram associadas a cânceres humanos (p. ex., tipos 16 e 18 associados ao carcinoma cervical). A ação viral direta ou o dano crônico às células e reparo em fígados infectados por HBV ou HCV podem resultar em um episódio tumorigênico levando ao carcinoma hepatocelular. O HSV-2 já foi associado ao carcinoma cervical humano, mais provavelmente como cofator. A imunossupressão em pacientes com AIDS, naqueles submetidos à quimioterapia por causa do câncer ou dos receptores de transplantes também promove a produção de linfoma por EBV. A infecção por HHV-8 produz muitas citocinas que estimulam o crescimento das células e esse crescimento pode progredir para o sarcoma de Kaposi, especialmente em pacientes com AIDS.

O desenvolvimento de um programa mundial de vacinação contra o HBV não só reduzirá a disseminação da hepatite viral como também poderá prevenir a ocorrência de carcinoma hepatocelular primário. O desenvolvimento da vacina contra o papilomavírus também deverá reduzir a incidência de carcinoma cervical.

Infecções em Pacientes Imunocomprometidos

Pacientes com **imunidade mediada por células deficientes** são, em geral, mais suscetíveis à infecção por vírus envelopados (especialmente herpesvírus, vírus do sarampo e até pelo vírus da vacínia usado nas vacinações contra varíola) e à recorrência de infecções com vírus latentes (herpesvírus e papovavírus). As deficiências severas de células T também afetam a resposta de anticorpo antiviral. As imunodeficiências mediadas por células podem ser congênitas ou adquiridas. Podem resultar de defeitos genéticos (p. ex., doença de Duncan, síndrome de DiGeorge, síndrome de Wiskott-Aldrich), de leucemia ou de linfoma, de infecções (p. ex., AIDS) ou de terapia imunossupressora.

Os vírus causam apresentações atípicas e mais intensas em pessoas com imunidade comprometida. Por exemplo, as infecções com herpesvírus (p. ex., HSV, CMV, VZV) ou a vacina com vírus da vacínia para combater a varíola, que são normalmente benignos e localizados, podem progredir no local ou se disseminar e causar infecções viscerais e neurológicas potencialmente fatais. Uma infecção de sarampo pode causar pneumonia de células gigantes (sincicial) em vez da erupção característica.

As pessoas com deficiência da imunoglobulina A ou hipogamaglobulinemia (deficiência de anticorpos) apresentam mais problemas com vírus respiratórios e gastrointestinais. Pacientes portadores de hipogamaglobulinemia têm mais probabilidade de sofrer doença significativa após a infecção por vírus que progridem por viremia, incluindo a vacina de vírus vivo contra pólio, o echovírus e o VZV.

Infecções Congênitas, Neonatais e Perinatais

O desenvolvimento e o crescimento do feto são tão ordenados e rápidos que uma infecção viral pode danificar ou impedir a formação apropriada de tecidos importantes, levando o aborto ou a anormalidades congênitas. A infecção pode ocorrer no útero (pré-natal; p. ex., rubéola, parvovírus B19, CMV, HIV), durante o trânsito pelo canal de nascimento (neonatal: p. ex., HSV, HBV, CMV) ou logo após o nascimento (pós-natal: p. ex., HIV, CMV, HBV, HSV, coxsackievírus B, echovírus).

Os neonatos dependem da imunidade da mãe para protegê-los das infecções virais. Eles recebem anticorpos maternos através da placenta e posteriormente no leite materno. Esse tipo de imunidade passiva pode permanecer efetivo durante 6 meses a 1 ano após o nascimento. Esses anticorpos maternos podem: (1) proteger contra a disseminação do vírus ao feto durante uma viremia (p. ex., rubéola, B19); (2) proteger contra muitas infecções virais entéricas e do trato respiratório; (3) reduzir a intensidade de outras doenças virais após o nascimento. Entretanto, como o sistema imunecelular não está maduro ao nascer, os recém-nascidos são suscetíveis aos vírus que se disseminam por contato entre células (p. ex., HSV, VZV, CMV e HIV).

O vírus da rubéola e o CMV são exemplos de **vírus teratogênicos** que podem causar infecção congênita e anormalidades congênitas sérias. A infecção por HIV adquirida no útero ou pelo leite materno inicia uma infecção crônica que leva à linfadenopatia, déficit de crescimento ou à encefalopatia dentro de 2 anos após o nascimento. O HSV pode ser adquirido durante a passagem por um canal de parto infectado e resultar em doença disseminada potencialmente fatal. A infecção nosocomial de recém-nascidos pode ter consequências semelhantes. Se o parvovírus B19 for adquirido no útero, poderá causar aborto espontâneo.

Controle de Infecções

O controle de infecções é essencial em ambientes hospitalares e de cuidados de saúde. A disseminação de vírus respiratórios é a mais difícil de prevenir. A disseminação viral pode ser controlada das seguintes maneiras:

1. limitando o contato pessoal com fontes de infecção (p. ex., usando luvas, máscara, óculos de proteção; quarentena);

2. melhorando a higiene, a sanitização e a desinfecção;

3. assegurando que todos estejam imunizados contra as doenças comuns;

4. educando todos quanto aos itens 1, 2 e 3 de modo a reduzir os comportamentos de alto risco.

Os métodos de desinfecção variam para cada vírus e dependem da estrutura desses vírus. A maioria é inativada com etanol a 70%, hipoclorito a 15%, glutaraldeído a 2%, formaldeído a 4% ou autoclave (como descrito na diretriz "*Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B vírus to health-care and public safety workers*"„ publicada em 1989 pelo CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*). A maioria dos vírus envelopados não exige tratamento tão rigoroso e é inativada com sabão e detergentes. Outros meios de desinfecção também estão disponíveis.

Precauções "universais" especiais são exigidas para o manuseio de sangue humano, ou seja, todo sangue deverá ser considerado como contaminado com HIV ou HBV e manuseado com precaução. Além desses procedimentos, cuidados especiais devem ser tomados com agulhas de seringas e instrumental cirúrgico contaminados com sangue para prevenir picadas de agulhas e cortes. O CDC dispõe de diretrizes específicas para isso.

O controle de um surto geralmente exige identificação da fonte ou do reservatório do vírus, seguido de limpeza, quarentena, imunização ou uma combinação dessas medidas. O primeiro passo no controle de uma epidemia de gastroenterite ou de hepatite A é a identificação do alimento, água ou, possivelmente, do centro de cuidados diários que funciona como a fonte do surto.

Os programas educacionais podem promover a conformidade com os programas de imunização e ajudar as pessoas a alterarem estilos de vida associados à transmissão viral. Esses programas exerceram impacto significativo na redução da prevalência de doenças passíveis de prevenção com vacinas como varíola, pólio, sarampo, caxumba e rubéola. Espera-se que programas educacionais também promovam alterações nos estilos e hábitos de vida para restringir a disseminação do HBV e do HIV transmitidos pelo sangue e pelo sexo.

Questões

1. Quais procedimentos de desinfecção são suficientes para inativar os seguintes vírus: HAV, HBV, HSV e rinovírus?

1. O HSV é um vírus envelopado e, por isso, é rapidamente inativado por detergentes, calor ou ressecamento. Soluções de hipoclorito (15%), etanol (70%), glutaraldeído (2%), formaldeído (4%) ou uso de autoclave podem ser necessários para inativação de HAV e rinovírus (vírus não envelopados) ou do HBV (vírus envelopado, porém mais resistente à ação de detergentes).

2. Quais as precauções que os profissionais de cuidados de saúde devem tomar para se

proteger da infecção com os seguintes vírus: HBV, vírus influenza A, HSV (paroníquia herpética) e HIV?

2. A melhor maneira de prevenção contra infecção por HBV ou influenza é a vacinação. Para prevenção contra o HSV (paroníquia herpética) o uso de luvas é essencial. Proteção contra infecção pelo HIV envolve as precauções universais para o manuseio de sangue e secreções, ou seja, uso de luvas, óculos de proteção e avental.

3. Quais condições predisponentes poderiam exacerbar uma infecção com o vírus influenza A, VZV e rotavírus?

3. Condições predisponentes que poderiam agravar uma infecção por influenza A incluiriam ser imunodeprimidos ou não ter imunidade prévia e, assim sendo, incapaz de reparar o dano tecidual causado pelo vírus. Por exemplo, idosos e pessoas que possuem problemas respiratórios crônicos.

Para VZV, condições que incluem imunossupressão, especialmente de respostas imunes envolvendo as células T. Além disso, os adultos são suscetíveis à doença mais grave do que são as crianças, devido a uma resposta imune-inflamatória mais exacerbada.

Para rotavírus, as condições que incluem a desnutrição e a falta ou mau abastecimento de água. Rotavírus pode causar gastroenterite levando um indivíduo à desidratação severa e é especialmente mortal para crianças.

4. Descreva e compare a natureza e o mecanismo do desenvolvimento de exantema para sarampo, VZV, HSV (primário e recorrente) e febre amarela.

4. O exantema do sarampo é maculopapular e causado por respostas imunes mediadas por células contra as células endoteliais (infectadas pelo vírus) que revestem os pequenos vasos, o que acaba causando derramamento sanguíneo para a pele. Já no exantema causado pelo VZV, o vírus se espalha para a pele por viremia e se replica na camada epidérmica, matando as células e liberando o vírus no líquido das vesículas. No episódio recorrente (zóster), o vírus replica ao longo do comprimento do nervo causando lesões vesiculares ao longo do dermátomo inteiro. O HSV se replica na camada epidérmica da pele, mata essas células e libera o vírus no líquido das vesículas. Durante um episódio de recorrência, o vírus percorre o neurônio para infectar as células no final do nervo e causar uma lesão vesicular. No caso da febre amarela, o vírus infecta as células endoteliais dos capilares enfraquecendo estes vasos e causando derramamento de sangue e fluidos na superfície da pele e em outros órgãos do indivíduo infectado.

5. Um receptor de transplante renal submetido à terapia para imunossupressão apresenta linfoma que regride em resposta à redução dessa terapia. Descobre-se que as células do linfoma contêm EBV. Como o EBV poderia estar envolvido nesse linfoma? Por que o linfoma regride em resposta à redução da terapia de imunossupressão? Quais outras infecções virais esse paciente estaria em maior risco durante essa terapia?

5. O EBV infecta linfócitos B e pode imortalizar estas células. Na ausência de uma resposta eficiente imune mediada por células T, as células imortalizadas pelo EBV podem proliferar causando um linfoma ou leucemia. Com a redução da terapia imunossupressora, o número de células T ativas pode ser suficiente para controlar a imortalização e crescimento dos linfócitos B. Ainda, a terapia imunossupressora coloca o paciente em risco de infecções recorrentes por herpes vírus, especialmente HSV, VZV, CMV e EBV; também poliomavírus como o JCV

(causador da leucoencefalopatia multifocal progressiva) e BKV.

Bibliografia

Centers for Disease Control and Prevention: Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to health-care and public-safety workers. *Morb Mortal Wkly Rep*. 1989;38(Suppl 6):1-37.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed, St Louis: Mosby, 2004.

Ellner Emond RTD, Rowland HAK, Welsby P. Colour Atlas of Infectious Diseases, 4th ed., London: Mosby, 2003.

Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL. Krugman's Infectious Diseases of Children, 11th ed., St Louis: Mosby, 2004.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases, 3rd ed., Philadelphia: WB Saunders, 2004.

Hart CA, Broadhead RL. Color Atlas of Pediatric Infectious Diseases. St Louis: Mosby, 1992.

Haukenes G, Haaheim LR, Pattison JR. A Practical Guide to Clinical Virology. New York: Wiley, 1989.

Knipe DM, Howley PM. Fields' Virology, 4th ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.

Mims CA, et al. Medical Microbiology, 3rd ed., St. Louis: Mosby, 2005.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and Human Disease, 2nd ed., San Diego: Academic, 2007.

White DO, Fenner FJ. Medical Virology, 4th ed., Orlando Fla: Academic, 1994.

Site

All the virology on the Worldwide Web and specific viruses: Disponível em. http://www.virology.net/.

Site

All the virology on the Worldwide Web and specific viruses: Disponível em www.virology.net/

Seção 7
Micologia

68 Patogênese das Doenças Fúngicas

Embora as bases moleculares e genéticas da patogênese bacteriana e viral sejam bem conhecidas, nosso entendimento sobre a patogênese das infecções fúngicas é limitado. Relativamente poucos fungos são suficientemente virulentos para serem considerados **patógenos primários** (Tab. 68-1). Patógenos primários são capazes de iniciar uma infecção em um hospedeiro normal, aparentemente imunocompetente. Eles são capazes de colonizar o hospedeiro, encontrar um nicho microambiental com substratos nutricionais suficientes, a fim de evitar ou subverter os mecanismos de defesa do hospedeiro, e se multiplicar dentro do nicho microambiental. Entre patógenos fúngicos primários conhecidos se encontram quatro fungos ascomicetos, os patógenos dimórficos endêmicos *Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis* (e *C. posadasii*) , *Histoplasma capsulatum* e *Paracoccidioides brasiliensis*. Cada um destes microrganismos possui fatores de virulência que lhes permitem romper ativamente as defesas do hospedeiro e que habitualmente restrigem o crescimento invasivo de outros microrganismos (Tab. 68-1). Quando um grande número de conídios desses quatro fungos é inalado por humanos, mesmo se esses indivíduos forem saudáveis e imunocompetentes, habitualmente ocorre infecção e colonização, invasão tecidual e disseminação sistêmica do patógeno. Como ocorre com a maioria dos patógenos microbianos primários, estes fungos podem também agir como **patógenos oportunistas**, uma vez que as formas mais severas de cada uma destas micoses são vistas mais frequentemente em indívudos com comprometimento das defesas imune inata ou adquirida.

Tabela 68-1 Características de Patógenos Fúngicos Primários e Oportunistas

Tabela 68-1. Características de Patógenos Fúngicos Primários e Oportunistas

Organismo/Fase de Crescimento	Hábitat/Infecção	Patogênese	Fatores de Virulência Presumidos	Formas Clínicas da Micose
Patógenos Primários				
Blastomyces dermatitidis Fase saprofítica • Micélio septado e conídios Fase parasitária • Leveduras com brotamento de base larga	Hábitat saprofítico • Solo e restos orgânicos • Área endêmica sudoeste dos Estados Unidos e Vale dos Rios Ohio-Mississipi Modo de infecção • Inalação de conídios	Conídios inalados se convertem em levedura; invasão localizada do hospedeiro pela levedura provoca reação inflamatória; a levedura escapa ao reconhecimento pelos macrófagos e se dissemina através da corrente sanguínea.	• Crescimento a 37°C • Dimorfismo térmico • Modulação das interações entre a levedura e o sistema imune do hospedeiro • Geração de resposta TH2 • Desprendimento de WI-1 (BAD-1)	• Blastomicose pulmonar primária • Blastimicose pulmonar crônica • Blastomicose disseminada – Cutânea – Osso, trato genitourinário e cérebro
Coccidioides immitis (posadasii) Fase saprofítica • Hifas septadas e artroconídios Fase parasitária • Esférulas com endosporos	Hábitat saprofítico • Solo do deserto: sudoeste dos EUA, México e regiões da América Central e do Sul Modo de infecção • Inalação de artroconídios • Inoculação percutânea (rara)	Artroconídios inalados alcançam os alvéolos; convertem-se em esférulas, que geram endosporos; os endosporos são fagocitados, mas sobrevivem; grandes (60 – 100μm) esférulas escapam à fagocitose; ambiente alcalino permite a sobrevivência dentro do fagossomo.	• Crescimento a 37°C • Dimorfismo térmico • Resistência dos conídios à destruição fagocítica • Estímulo de uma resposta TH2 ineficiente • Produção de urease • Produção de proteínases extracelulares • Mimetismo molecular	• Infecção pulmonar inicial • Coccidioidomicose pulmonar crônica • Coccidioidomicose disseminada –Meningite –Osso e articulações – Trato genitourinário –Cutânea –Oftálmica
Histoplasma capsulatum Fase saprofítica • Hifas septadas, microconídios e macroconídios tuberculados Fase parasitária • Pequenas leveduras intracelulares com brotamentos	Hábitat saprofítico • Solo enriquecido com fezes de aves/morcegos • Metade oriental dos Estados Unidos, a maior parte da América Latina, partes da Ásia, Europa, Oriente Médio; a variedade *duboisii* ocorre na África Modo de infecção • Inalação de conídios	Conídios inalados se convertem em leveduras; leveduras são ingeridas por macrófagos; sobrevivem e proliferam dentro do fagossomo; algumas formas de levedura permanecem hibernantes dentro dos macrófagos, outras proliferam e destroem os macrófagos liberando células-filhas.	• Crescimento a 37°C • Dimorfismo térmico • Sobrevivência nos macrófagos • Modulação do pH do fagossomo • Captação de ferro e cálcio • Alteração da composição da parede celular	• Pulmonar clinicamente assintomática e "disseminada críptica" • Histoplasmose pulmonar aguda • Mediastinite e pericardite • Histoplasmose pulmonar crônica –Mucocutânea –Disseminada
Paracoccidioides brasiliensis Fase saprofítica • Hifas septadas, conídios Fase parasitária • Leveduras com múltiplos brotamentos	Hábitat saprofítico • Solo e vegetação • América Central e do Sul Modo de infecção • Inalação de conídios	Conídios inalados se convertem em grandes leveduras com brotamentos multipolares; ingeridos, mas não eliminados pelo macrófagos; podem permanecer hibernantes por até 40 anos; disseminação para a mucosa oral e nasofaríngea.	• Crescimento a 37°C • Dimorfismo térmico • Sobrevivência intracelular • Influências hormonais • Alterações da parede celular • Resposta TH2 ineficiente contra gp43	• Diversas manifestações clínicas • Envolvimento crônico de um único órgão • Envolvimento crônico multifocal (pulmões, boca, nariz) • Doença juvenil progressiva: linfonodos, envolvimento cutâneo e visceral

Geralmente, indivíduos saudáveis e imunocompetentes apresentam alta resitência inata à infecção fúngica, apesar de serem constantemente expostas às formas infecciosas de diversos fungos presentes como parte da microbiota endógena (endógenos) ou no ambiente (exógenos). Os patógenos fúngicos oportunistas, como *Candida, Cryptococcus* spp. e *Aspergillus* spp., somente causam infecção quando ocorrem quebras nas barreiras protetoras da pele e membranas mucosas ou quando falhas no sistema imune do hospedeiro permitem a penetração, colonização e produção no hospedeiro (Tab. 68-1). Entretanto, mesmo nas

infecções oportunistas, há fatores associados ao organismo, e não ao hospedeiro, que contribuem para a capacidade do fungo causar doença (Tab. 68-1).

Patógenos Fúngicos Primários

Todos os patógenos fúngicos primários são agentes de infecções respiratórias e nenhum deles é parasita obrigatório. Cada um tem uma **fase saprofítica** caracterizada por hifas septadas fragmentadas encontradas no solo ou vegetais em decomposição e que se disseminam pelo ar. Da mesma maneira, a **fase parasitária** de cada fungo está adaptada ao crescimento a 37°C e a reprodução assexuada, no nicho ambiental alternativo da mucosa respitaratória do hospedeiro (Cap. 73, Fig. 73-1). Esta habilidade em existir em formas morfogenéticas alternadas (dimorfismo) é uma das várias características especiais (fatores de virulência) que permitem esses fungos competirem com as condições ambientais hostis do hospedeiro (Tab. 68-1).

Blastomyces dermatitidis

Como os demais patógenos fúngicos dimórficos endêmicos, *Blastomyces dermatitidis* frequentemente causa uma infecção respiratório autolimitada (Cap. 74). Entretanto, a blastomicose se diferencia de outras micoses endêmicas pela alta incidência de doença clínica em comparação com as formas moderadas ou assintomáticas entre os indíviduos infectados em epidemias. O potencial patogênico de *B. dermatitidis* é ressaltado pela severidade clínica da maioria dos casos esporádicos de blastomicose.

Fatores importantes para a sobrevida *in vivo* de *B. dermatitidis*, como quaisquer patógenos dimórficos endêmicos, são a capacidade de o patógeno inalado alcançar os alvéolos, sofrer transformação para uma outra fase (levedura ou esférula) e se replicar a 37°C e colonizar a mucosa respiratória. Após a inalação de conídios ou fragmentos de hifas de *B. dermatitidis*, os elementos da fase saprofítica do fungo supostamente entram em contato e aderem à camada epitelial dos alvéolos sofrendo transformação para a fase parasitária de levedura, em um processo chamado de **dimorfismo térmico**. Esta conversão de conídio (2-10mm de diâmetro) para as formas maiores de levedura (8-30µm de diâmetro) fornece uma importante vantagem à sobrevida ao fungo. Enquanto os conídios são muito pequenos para serem rapidamente ingeridos e destruídos pelos neutrófilos humanos, as leveduras são capazes de resistir ao ataque fagocítico dos neutrófilos e das células mononucleares durante os estágios iniciais da resposta inflamatória. Em vez de se adaptarem ao microambiente intracelular dos fagolisossomos, como por *H. capsulatum*, as leveduras de *B. dermatitidis* desprendem seu antígeno imunodominante da superfície da célula e subsequentemente, modificam a composição de sua parede celular, permitindo que escapem ao reconhecimento pelos macrófagos. Assim, eles são capazes de colonizar tecidos e disseminar pela corrente sanguínea.

Modulação das Interações entre as Leveduras e o Sistema Imune do Hospedeiro

O principal componente imunorreativo presente na superfície das células leveduriformes, mas não nos conídios de *B. dermatitidis* é uma glicoproteína da parede celular de 120kDa, WI-1 (rebatizada como BAD-1). Esta glicoproteina parece ter participação fundamental na patogênese de *B. dermatitidis*, promovendo adesão da célula leveduriforme ao macrófago e induzindo uma potente resposta dos sistemas imune humoral e celular. WI-1 (BAD-1) é expressa por todos os isolados virulentos de *B. dermatitidis* já examinados.

Aparentemente, cepas mutantes não virulentas de *B. dermatitidis* que expressam altos níveis de WI-1 (BAD-1) em sua superfície celular são reconhecidas por macrofagos, fagocitadas e rapidamente eliminadas do hospedeiro. Em contraste, cepas virulentas deste fungo desprendem grandes quantidades de WI-1 (BAD-1) durante o crescimento, sendo capazes de evitar o reconhecimento pelos macrófagos por este processo. A apresentação de WI-1 (BAD-1) quer se mantenha associada à superfície celular, quer seja desprendida da célula para o ambiente, é um aspecto fundamental da patogenicidade deste fungo.

A composição de carboidratos da parede celular da levedura também parece desempenhar uma função na apresentação e desprendimento de WI-1 (BAD-1) e, portanto, na patogenicidade. Um dos principais componentes da parede celular da levedura é α-(1,3)-glucana. Há uma relação inversa entre a quantidade de α-(1,3)-glucana presente na parede celular de *B. dermatitidis* e a quantidade WI-1 (BAD-1) detectável na superfície celular. Cepas virulentas de *B. dermatitidis* produzem leveduras que possuem paredes celulares espessadas contendo grande quantidade de α-(1,3)-glucana e quando maduras, apresentam pouca WI-1 (BAD-1) detectável na sua superfície celular. De maneira oposta, cepas não virulentas exibem paredes finas com ausência de α-(1,3)-glucana, mas com WI-1 (BAD-1) abundante em sua superfície. Especula-se que a incorporação de α-(1,3)-glucana na parede celular mascare a glicoproteína de superfície WI-1 (BAD-1) desempenhando um papel na liberação de um antígeno modificado (componente de 85kDa) no microambiente do sítio de infecção. Por mascarar o antígeno WI-1 (BAD-1), a levedura é capaz de escapar ao reconhecimento por macrófagos e disseminar por via hematogênica. O desprendimento do componente de 85kDa de WI-1 (BAD-1) pode facilitar a evasão imune por ligação ou consumo de anticorpos opsonizados e complemento longe da superfície celular da levedura. Da mesma maneira, a liberação do componente WI-1 (BAD-1) pode também saturar receptores de macrófago e diminuir a eficiência da ligação e fagocitose das leveduras.

Apresentação de Antígenos de Superfície Modula a Via das Células T-Auxiliares da Resposta Imune

Há diferentes subpopulações de células T-auxiliares CD4 (TH - do inglês CD4 T helper) que secretam diversos padrões de citocinas em resposta a um estímulo antigênico. Após o encontro inicial com um antígeno, células TH podem se tornar polarizadas, secretando predominantemente interleucina-2 (IL-2) e interferon-γ (IFN-γ) (padrão TH1) ou predominantemente IL-4, IL-5 e IL-10 (padrão TH2). IFN-γ e IL-2 ativam respectivamente macrófagos e células citotóxicas T e NK (*natural killer*), para a eliminação de organismos intracelulares, enquanto as citocinas TH2 favorecem o crescimento e diferenciação de células B, a mudança de isótipos para imunoglobulina E (IgE) e a diferenciação e ativação de eosinófilos, respostas que pedem produção e proteção contra alguns patógenos, mas que também foram relacionadas a alergia e reações de hipersensibilidade.

A resposta imune mediada por células T contra *B. dermatitidis* é essencial para imunoproteção contra este patógeno. Camundongos imunizados com WI-1 (BAD-1) desenvolveram uma forte resposta TH2 contra os antígenos. É notável que, em um modelo de infecção de blastomicose em camundongos, os animais infectados que desenvolveram características de uma resposta TH2 morreram com uma infecção crônica e progressiva, enquanto os animais infectados que desenvolveram uma resposta TH1 restringiram a disseminação do patógeno e foram capazes de responder à terapia antifúngica e se recuperar da doença. Portanto, uma forte resposta TH2 pode não ser útil na eliminação da infecção, podendo até mesmo retardá-la. Por liberar grandes quantidades do fragmento de 85kDa de WI-1 (BAD-1), as células leveduriformes de *B. dermatitidis* podem enganar as duas vias da resposta imune por evasão da resposta celular e do estímulo de uma resposta humoral dominante, porém ineficaz.

Coccidioides immitis

C. immitis e *C. posadasii* são patógenos primários capazes de causar uma ampla variedade de lesões (Cap. 74). Estes fungos são endêmicos no deserto do sudoeste dos Estados Unidos e, embora demonstrem diferentes morfologias em suas fases saprofíticas e parasitárias, distinguem-se dos demais fungos dimórficos endêmicos por características únicas da fase parasitária (Cap. 73, Fig. 73-1). Entre os fatores de virulência presumidos que podem contribuir para a patogenicidade deste organismo, encontram-se a resistência dos conídios infecciosos à destruição fagocítica, a capacidade de estimular uma resposta TH2 ineficiente (da mesma forma que *B. dermatitidis*), à produção de ureases e proteinases extracelulares e a capacidade de mimetismo molecular (Tab. 68-1).

Resistência dos Conídios à Destruição Fagocítica

A fase saprofítica de *C. immitis* (e *C. posadasii*) consiste em hifas septadas, que, quando maduras, produzem artroconídios em forma de barril, separadas umas das outras por células disjuntoras vazias (Cap. 5 e Fig. 5-2B; Cap. 73, Figs. 73-1C e 73-7). Os artroconídios são muito hidrofóbicos e facilmente aerossolizados. Estes conídios são pequenos (3-5 × 2-4µm) que, quando inalados, podem ser transportados profundamente para o interior no trato respiratório, frequentemente até o nível alveolar. A parede externa do conídio é composta primariamente por proteína (50%), incluindo pequenos polipeptídios ricos em cisteína conhecidos como **hidrofobinas**, devido ao seu distinto perfil hidropático. O restante da composição da parede inclui lipídios (25%), carboidratos (12%) e um pigmento não identificado. Acredita-se que esta camada externa hidrofóbica tenha propriedades antifagocíticas, uma vez que sua remoção resultou no aumento da fagocitose de artroconídios de *C. immitis* por neutrófilos polimorfonucleares (PMNs do inglês *polymorphonuclear neutrophils*) humanos em comparação a fagocitos de artroconídios intactos. É importante notar que tanto os conídios intactos quanto aqueles com a parede celular externa removida foram eficientemente destruídos após a ingestão por PMNS. Aparentemente, os artroconídios infecciosos de *C. immitis* apresentam barreiras ativas e passivas contra o ataque pelas defesas inatas do hopedeiro nos pulmões.

Estímulo de uma Resposta Imune TH2 Ineficiente por *C. Immitis*

Sabe-se que todos os indivíduos com infecções por *Coccidioides* spp. produzem anticorpos contra uma glicoproteína predominante (SOWgp) de uma camada externa da parede das células parasitárias (esférulas). Ambas as vias da resposta imune por células T auxiliares, TH1 e TH2, são estimuladas por SOWgp. Sabe-se que a ativação da via TH1 está associada com a resolução espontânea da infecção pelo *Coccidioides* spp. em camundongos. Além disso, foi demonstrado que camundongos suscetíveis à infecção por *C. immitis* demonstraram uma resposta TH2 à infecção, enquanto que linhagens resistentes apresentaram uma maior resposta TH1. Assim, semelhante ao que foi descrito para *B. dermatitidis*, as respostas TH2 contra SOWgp podem não contribuir na eliminação de *C. immitis*, podendo até mesmo ser desvantajosas no controle da infecção. As formas mais severas de coccidioidomicose são acompanhadas por depressão da imunidade celular e altos níveis plasmáticos de anticorpos fixadores de complemento específicos para *C. immitis*, consistente com uma resposta predominantemente TH2. Embora não se saiba muito a respeito do perfil de citocinas humanas durante infecções por *Coccidioides* spp., é razoável especular que antígenos imunodominantes de *C. immitis* que provocam um forte aumento de IL-10 e IL-4 possam dirigir a resposta imune para uma via TH2. Essa imunomodulação pode contribuir para o aumento da gravidade da infecção fúngica.

Produção de Urease

O nicho ambiental para a forma saprofítica de *C. immitis* é o solo alcalino do deserto. Tanto a fase saprofítica quanto a parasitária deste organismo demostraram íons de amônia e amônio quando cultivadas *in vitro*, resultando na alcalinização do meio de cultura. Os endosporos de *C. immitis* liberam muito mais íons de amônio/amônia do que as esférulas quando cultivadas em condições ácidas (pH 5,0). Endosporos recém-liberados demonstraram ser cercados por um halo alcalino produzido pelos íons de amônio/amônia.

Os endosporos de *C. immitis* são rapidamente fagocitados por macrófagos alveolares, mas, uma vez ingeridos, são capazes de sobreviver intracelularmente. Foi demonstrado que endosporos intracelulares viáveis são cercados por um halo alcalino em sua superfície celular, sugerindo que a produção de íons de amônio/amônia pode contribuir para a sobrevivência do patógeno dentro do fagossomo do macrófago ativado.

A capacidade de *C. immitis* de gerar um microambiente alcalino e responder à acidificação aumentando a quantidade de íons de amônio/amônia por suas células parasitárias é característica que pode contribuir para a patogênese deste fungo. Embora os detalhes da geração de amônio e o modo como a alcalinidade da superfície celular afeta a função fagocítica não sejam bem compreendidos, foi proposto que a principal fonte de amônio produzida por *C. immitis* advenha da atividade da urease. Esta é uma metaloenzima que se localiza na fração citoplasmática de células microbianas e que catalisa a hidrólise de ureia, formando amônia e carbamato. O carbamato é subsequentemente hidrolisado, formando outra molécula de amônia. A maior quantidade de urease detectada em *C. immitis* se encontra em esférulas na fase de formação de endosporos, o que se correlaciona com o estágio de desenvolvimento no qual as maiores quantidades de amônia/ íons amônio são detectados. Tomadas em conjunto, estas informações sugerem que a atividade da urease contribui para a patogenicidade de *C. immitis*.

Proteinases Extracelulares

Os patógenos fúngicos produzem diversas proteinases ácidas, neutras e alcalinas que são ativas ao longo de uma extensa faixa de pH exibindo ampla especificidade de substratos. Sugeriu-se que certas enzimas extracelulares secretadas por fungos desempenhem funções fundamentais no crescimento invasivo, que pode levar à morte do hospedeiro infectado. As proteinases secretadas podem permitir a penetração de barreiras cutâneas e mucosas, a neutralização parcial de defesas ativas do hospedeiro, a transmigração de camadas endoteliais e a subsequente disseminação hematogênica, levando ao estabelecimento da infecção em vários sítios anatômicos.

C. immitis, como um patógeno fúngico primário, é capaz de romper a barreira da mucosa respiratória, penetrar na corrente sanguínea e/ou sistema linfático e se disseminar para outros órgãos. Ambas as formas do fungo, saprofítica (conídio) e parasitária, expressam diversas proteinases durante o crescimento celular. O conídio produz uma proteinase extracelular de 36kDa capaz de quebrar o colágeno, a elastina e a hemoglobina humanos, bem como IgG e IgA. A clivagem de imunoglobulinas secretórias por patógenos fúngicos oportunistas foi correlacionada à capacidade destes organismos colonizarem a mucosa do hospedeiro. Acredita-se que uma proteínase alcalina de 66kDa capaz de digerir proteínas estruturais encontradas no tecido pulmonar seja secretada durante todo o curso da doença causada por *C. immitis*. Todos os pacientes com coccidioidomicose produzem anticorpos dirigidos contra esta enzima, e acredita-se que esta proteinase alcalina desempenhe uma importante função na colonização e invasão de tecidos do hospedeiro por esférulos e endosporos de *C. immitis*.

Mimestismo Molecular

A produção de moléculas por um microrganismo patogênico, que são estrutura, antigênica e funcionalmente simelhantes a moléculas do hospedeiro, é denominada **mimetismo molecular**. Em alguns casos, a infecção resulta na geração, pelo hospedeiro, de anticorpos que apresentam reação cruzada com tecidos do hospedeiro e produzem uma patologia do tipo autoimune. Foi demonstrado que fungos produzem moléculas semelhantes funcionalmente, mas nem sempre estruturalmente, a moléculas do hospedeiro ("mimetismo funcional"). Foram identificadas moléculas fúgicas que funcionam de maneira similar às integrinas, receptores de complemento e hormônios sexuais.

Uma proteína que se liga ao estrogênio foi isolada em frações citosólicas de *C. immitis*. Sabe-se que as concentrações fisiológicas de progesterona e 17-β-estradiol estimulam a taxa de crescimento de *C. immitis* e a liberação de endosporos. Estas informações coincidem com o reconhecimento de que a gravidez, especialmente durante o terceiro trimestre, apresenta um grande fator de risco à coccidioidomicose disseminada.

Histoplasma capsulatum

Sabe-se que a maioria das pessoas infectadas com *H. capsulatum* se recupera sem complicações e sem terapia antifúngica específica (Cap. 74). Entretanto, a reativação da histoplasmose pulmonar e extrapulmonar em pacientes imunocomprometidos que originalmente apresentaram disseminação progressiva do fungo está documentada ao longo da literatura. Inalação de conídios a partir do ambiente, juntamente com a falha em eliminar o fungo por mecanismos mucociliares, gera a oportunidade de que os conídios inalados se transformem em leveduras que são ingeridas por fagócitos mononucleares. *H. capsulatum* é encontrado quase exclusivamente dentro das células do hospedeiro, onde pode se replicar ou permanecer inativo.

Histoplasma capsulatum Reside nos Macrófagos do Hospedeiro

A conversão de conídios inalados de *H. capsulatum* em células leveduriformes é fundamental para a sobrevivência do patógeno dentro do hospedeiro e ocorre horas após a infecção. Embora teoricamente um único conídio possa ser suficiente para estabelecer uma infecção, geralmente se considera que um inóculo muito grande de conídios seja necessário para estabelecer doença disseminada em uma pessoa saudável e imunocompetente. Os fagócitos mobilizados para o sítio de infecção são efetivos na destruição de conídios ingeridos, o que não ocorre tão bem em relação às leveduras.

Sabe-se que o organismo produz substâncias quimiotáxicas para os marcrófagos alveolares, o que facilita a internalização pelos fagócitos do hospedeiro; entretanto, os detalhes da forma pela qual o patógeno resiste aos esforços destrutivos dos macrófagos ainda não estão claros. Sugeriu-se que certos esfingolipídios contendo fosfoinositol na parede celular possam interferir com a resposta oxidativa do macrófago contra o patógeno fúngico. Pelo fato de os macrófagos serem as principais células do hospedeiro nas quais *H. capsulatum* reside durante a fase de levedura leva a acreditar que seja uma importante estratégia de sobrevida e disseminação do patógeno. Existem diversos fatores considerados importantes para a capacidade de o fungo persistir dentro do fagolisossomo do macrófago que contribuem significativamente para a potogenicidade do organismo: modulação de pH, captação de ferro e cálcio e alteração da parede celular da levedura.

Modulação do pH do Fagolisossomo

As células leveduriformes de *H. capsulatum* são rapidamente ingeridas por macrófagos alveolares. Após a ingestão, o pH do fagolisossomo contendo uma ou mais células de levedura se eleva (6,0 a 6,5) acima do valor ideal para muitas das enzimas do lisossomo. Esta modulaçãode pH não só interfere na atividade enzimática, mas também influencia no processamento de antígenos dentro da célula e contribui para a sobrevivência do patógeno *in vivo*. Embora seja tentador relacionar a urease de *H. capsulatum* a este processo, ela não é considerada um fator primordial, uma vez que o pH só se eleva em fagossomos que contêm a célula de levedura. Se a urease fúngica estivesse envolvida, seria esperado que a amônia/íons de amônio produzidos se difundissem para fora do fagossoma e elevassem também o pH no restante da célula do hospedeiro.

Captação de Ferro e Cálcio

O ferro é um importante cofator de diversas metaloenzimas diferentes e proteínas contendo o grupo heme. Os microrganismos captam ferro do ambiente produzindo sideróforos que provocam a quelação do ferro férrico e formam complexos solúveis de ferro. *H. capsulatum* capta ferro através de um sideróforo hidroxâmico, embora o papel deste sideróforo na sobrevivência do fungo dentro do macrófago seja desconhecido. A capacidade do fungo modular o pH no interior do fagolisossomo entre 6,0 e 6,5 é fundamental na captação de ferro pelas leveduras. Um pH superior a 6,5 torna o ferro inacessível ao *H. capsulatum*.

Da mesma forma que ocorre com o ferro, as leveduras dentro do fagolisossomo devem apresentar um eficiente mecanismo para a ligação e o transporte de Ca^{2+}. As células leveduriformes, mas não as filamentosas, liberam grandes quantidades de uma proteína ligadora de cálcio, CBP1 (do inglês *calcium-binding protein*), para o microambiente que as rodeia. Foi sugerido que a CBP1 seja importante na aquisição de cálcio durante o parasitismo intracelular. A expressão de CBP1 específica da fase de levedura pode fornecer ao *H. capsulatum* outro importante mecanismo adaptativo para sua sobrevivência dendro do fagolisossomo do macrófago.

Alteração da Composição da Parede Celular da Levedura

De forma semelhante ao *B. dermatitidis*, a maior parte das cepas de *H. capsulatum* apresenta α-(1,3)-glucana em sua parede celular. Demonstrou-se que mutantes espontâneos d e *H. capsulatum* que perderam o componente α-(1,3)-glucana infectam e persistem no interior dos macrófagos aparentemente sem lesar a célula do hospedeiro. Em contraste, leveduras selvagens com α-(1,3)-glucana podem infectar e sobreviver dentro dos macrófagos, mas também podem proliferar dentro do fagolisossomo e finalmente destruir o fagócito, liberando leveduras que passam a infectar novos macrófagos. Portanto, aparentemente microambientes específicos encontrados dentro de células do hospedeiro podem influenciar a seleção de variantes que apresentam o potencial para a persistência de longo prazo dentro do hospedeiro, bem como daqueles que produzem um processo proliferativo mais rápido.

Paracoccidioides brasiliensis

A infecção por *P. brasiliensis* começa com a inalação pulmonar de conídios, seguida pela disseminação hematogênica ou linfática do fungo para praticamente todas as partes do corpo (Cap. 74). Uma característica peculiar da paracoccidioidomicose, em comparação com outras micoses sistêmicas, é o fato de que as infecções pulmonares primárias, que subsequentemente se disseminam, manifestam-se muito frequentemente como lesões de mucosa na boca, no nariz e, ocasionalmente, no trato gastrointestinal.

A parede da levedura de *P. brasiliensis* é rica em glucanas solúveis em meio alcalino, como α-(1,3)-glucana. Como ocorre com muitos outros patógenos fúngicos dimórficos endêmicos, acredita-se que a presença de α-(1,3)-glucana na camada mais externa da parede celular da levedura seja essencial para a sobrevivência do fungo *in vivo*. Aparentemente, os macrófagos são elementos fundamentais para a resposta inata contra a infecção por *P. brasiliensis*. Os macrófagos são capazes de conter a infecção por *P. brasiliensis*, mas geralmente não eliminam as leveduras. Apesar de uma resolução clínica inicial da infecção, lesões residuais contendo leveduras viáveis podem se reativar até 40 anos depois, causando recorrência e sequelas graves. As características de *P. brasiliensis* consideradas importantes na patogênese da infecção incluem a resposta a fatores hormonais, a expressão de α-(1,3)-glucana e as respostas imunes contra um antígeno imunodominante, gp43.

Influências Hormonais na Infecção

Embora a reatividade do teste cutâneo para a paracoccidioidina seja comparável entre homens e mulheres que residem em áreas endêmicas da paracoccidioidomicose, a relação entre homens e mulheres para a doença sintomática é de 78:1. A infecção subclínica parece ocorrer com a mesma frequência entre os dois sexos; entretanto, a progressão para a doença disseminada clinicamente evidente é muito mais frequente em homens. Esta observação levou à hipótese de que fatores hormonais desempenham um importante papel na patogênese da paracoccidioidomicose.

Em contraste com *C. immitis*, no qual o estrogênio estimula o crescimento fúngico e a formação de endosporos, a transição de conídios para a forma de levedura de *P. brasiliensis* é inibida pelo estrogênio. Isto resulta na rápida eliminação da infecção em mulheres, enquanto em homens ocorre a progressão da infecção. Uma explicação alternativa seria a de que os hormônios sexuais masculinos apresentam um efeito imunoinibitório que facilita o estabelecimento da infecção. Esta ainda é uma área em investigação. De qualquer maneira, os eventos iniciais da interação fungo-hospedeiro após a infecção natural parecem ser modulados hormonalmente; sendo, portanto, significativamente diferentes em homens e mulheres. Estas diferenças poderiam ser responsáveis pela suscetibilidade acentuadamente superior entre homens para a paracoccidioidomicose.

O Papel das Glucanas da Parede Celular na Patogênese de *P. brasiliensis*

A parede celular de *P. brasiliensis* contém quatro polissacarídeos principais: galactomanana, α-(1,3)-glucana, β-(1,3)-glucana e quitina. O componente α-(1,3)-glucana só é expresso na forma de levedura do organismo, e sua expressão se correlaciona com sua virulência. Cepas mutantes de *P. brasiliensis* desprovidas desta glucana são não virulentas, sendo muito mais suscetíveis à digestão por neutrófilos.

A fração β-(1,3)-glucana da parede celular age como importante imunomodulador e, quando exposta na parede celular do fungo, provoca uma intensa resposta inflamatória. As b-glucanas são descobertas quando os níveis de α-(1,3)-glucana se reduzem, o que levou à hipótese de que a proporção entre α-(1,3)-glucana e β-(1,3)-glucana na parede celular de *P. brasiliensis* possa ser mais importante na patogênese do que cada componente polissacarídico isolado. É importante perceber que a relação entre a razão de α/β-glucanas na parede celular de *P. brasiliensis* e o tipo de resposta imune é semelhante àquela observada tanto na histoplasmose quanto na blastomicose. Em cada caso, um grande contéudo de α-(1,3)-glucana nas leveduras está relacionado a uma virulência aumentada, e níveis ausentes ou diminuídos deste componente a uma virulênicia reduzida. A alteração na composição da parede celular de leveduras dos três patógenos dimórficos também está relacionada à sua capacidade de serem sequestrados dentro das células e dos tecidos e de persistirem como elementos viáveis durante anos após a infecção.

Resposta ao Antígeno Imunodominante, gp43

A fase de levedura de *P. brasiliensis* secreta uma glicoproteína imunodominante de 43kDa (gp43), que é ao mesmo tempo um importante antígeno sorodiagnóstico e um presumido fator de virulência. O antígeno gp43 é um receptor de laminina-1 e pode ser responsável pela adesão das células de leveduras à membrana basal do hospedeiro. Este antígeno também se liga a macrófagos e provoca tanto uma forte resposta humoral quanto uma resposta de hipersensibilidade tardia (HTT) em humanos.

A defesa imunológica contra a infecção por *P. brasiliensis* depende da imunidade celular e não da humoral. Uma resposta HTT debilitada se correlaciona com um aumento da gravidade da doença. Camundongos imunizados com gp43 desenvolvem respostas imunes do tipo TH1 e TH2, enquanto gp43 e um segundo antígeno, gp70, são grandes contribuintes para uma resposta humoral em humanos. É possível que a reatividade imune de pacientes contra gp43 e gp70 seja dominada pela via TH2 com uma resposta inadequada de células T. Caso a imunidade celular do paciente contra *P. brasiliensis* esteja de fato comprometida por essa hiporresponsividade de células T, poderia ser um mecanismo (como visto na histoplasmose e coccidioidomicose) subjacente à imunopatogênese da paracoccidioidomicose.

Patógenos Oportunistas

O estado do hospedeiro é de fundamental importância na determinação da patogenicidade de patógenos fúngicos oportunistas, como *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e *Aspergillus* spp. Na maioria dos casos, estes organismos podem existir como colonizadores benignos ou saprófitos ambientais, só causando infecções sérias quando há uma diminuição das defesas do hospedeiro. Existem fatores associados a estes organismos, que podem ser considerados “fatores de virulência”, por contribuírem para o processo patológico e, em alguns casos, que podem explicar as diferenças entre as patogenicidades dos diversos organismos.

Candida species

Candida spp. é o mais comum dos patógenos fúngicos oportunistas (Cap. 75). Atualmente está bem estabelecido o fato de que *Candida* spp. coloniza a mucosa gastrointestinal e atinge a corrente saguínea por translocação gastrointestinal ou através de cateteres vasculares contaminados, interage com defesas do hospedeiro e deixa o compartimento intravascular invadindo tecidos profundos de órgãos-alvo como fígado, baço, rins, coração e cérebro. Acredita-se que as características do organismo que contribuem para sua patogenicidade incluam sua capacidade de aderir a tecidos, o dimorfismo entre as formas de levedura e hifa, a hidrofobicidade de sua superfície celular, a secreção de proteinases e as mudanças fenotípicas (Tab. 68-1).

A capacidade de aderência de *Candida* spp. a diversos tecidos e superficies inanimadas é considerada importante nos estágios iniciais da infecção. A capacidade de aderência de várias espécies de *Candida* está diretamente relacionada ao seu grau de virulência em diversos modelos experimentais. A aderência é adquirda por uma combinação de mecanismos específicos (interação ligante-receptor) e inespecíficos (forças eletrostáticas e de van der Waals).

Há muito tempo se considera que a capacidade de sofrer transformação de leveduras para hifa apresente alguma importância na patogenicidade. A maioria das espécies de *Candida* é capaz de realizar essa transformação, que demonstrou ser regulada tanto por pH quanto por temperatura. A transformação de levedura em hifa é uma resposta de *Candida* spp. a alterações no microambiente. As hifas de *C. albicans* exibem **tigmotropismo** (um sentido de tato), que lhes permite crescer ao longo de depressões ou através de poros e pode auxiliar na infiltração de superfícies epiteliais.

A composição da superfície celular de *Candida* spp. pode afetar tanto a hidrofobicidade da célula quanto a resposta imune contra ela. O tipo e o grau de glicosilação das manoproteínas na superfície celular podem afetar a hidrofobicidade da célula e, portanto, a adesão a células epiteliais. Os tubos germinativos de *C. albicans* são hidrofóbicos, enquanto os brotos ou blastoconídios são hidrofílicos. As diversas glicoproteínas de *C. albicans* também suprimem a resposta imune contra o organismo através de mecanismos pouco compreendidos.

Conforme discutido em relação aos patógenos primários, a capacidade de *Candida* spp. secretar diversas enzimas pode também influenciar a patogenicidade do organismo. Diversas espécies de *Candida* secretam aspartil proteinases, que hidrolisam as proteínas do hospedeiro envolvidas em defesas contra a infecção, permitindo que as leveduras rompam barreiras de tecido conjuntivo. Da mesma forma, a maioria das espécies de *Candida* que causam infecção em humanos produz fosfolipases. Estas enzimas lesam as células do hospedeiro, sendo consideradas importantes na invasão tecidual.

A capacidade de *Candida* spp. se transformar rapidamente de um morfotipo a outro foi denominada **mudanças fenotípicas**. Embora originalmente aplicada a alterações na morfologia macroscópica de colônias, já se sabe que os diferentes fenótipos observados em meios de cultura sólidos representam diferenças na formação de brotamentos e hifas, expressão de glicoproteínas de parede celular, secreção de enzimas proteolíticas, suscetibilidade à lesão oxidativa por neutrófilos e suscetibilidade e resistência a antifúngicos. Mudanças fenotípicas contribuem para a virulência de *Candida* spp. por permitir que o organismo se adapte rapidamente a alteração em seu microambiente, facilitando sua capacidade de sobreviver, invadir tecidos e escapar das defesas do hospedeiro.

Cryptococcus spp.

Cryptococcus spp. é uma levedura encapsulada com distribuição universal que causa infecção em humanos. Embora este organismo possa infectar hospedeiros aparentemente normais, ele causa doença com mais frequência e gravidade em hospedeiros imunocomprometidos. Ao se analisar a patogênese da criptococose, é útil considerar tanto as defesas do hospedeiro quanto os fatores de virulência presumidos.

Existem três linhas de defesa principais contra a infecção por *C. neoformans*: macrófagos alveolares, células fagocíticas inflamatórias e resposta de células T e B. O desenvolvimento da criptococose depende amplamente da competência das defesas celulares do hospedeiro e do número e da virulência das leveduras inaladas.

A primeira linha de defesa são os macrófagos alveolares. Estas células são capazes de ingerir as células de leveduras, mas apresentam uma capacidade limitada de destruí-las. Os macrófagos que contêm as leveduras ingeridas produzem várias citocinas para o recrutamento de neutrófilos, monócitos, células NK e células da corrente sanguínea para os pulmões. Eles também agem como células apresentadoras de antígenos e induzem à diferenciação e proliferação de linfócitos T e B que são específicos para *Cryptococcus* spp. As células recrutadas são eficientes na destruição de *Cryptococcus* spp. por mecanismos intra e extracelulares (tanto oxidativos quanto não oxidativos).

A resposta de anticorpos contra este organismo não é protetora, mas serve para opsonizar as células leveduriformes, aumentando a citotoxicidade mediada por celulas. Desta forma, o sistema complemento aumenta a eficácia da resposta de anticorpos e fornece opsoninas e fatores quimiotáxicos para a fagocitose e o recrutamento de células inflamatórias.

Uma resposta efetiva do hospedeiro contra *Cryptococcus* spp. consiste em uma interação complexa de fatores imunecelulares e humorais. Quando estes fatores são prejudicados, a infecção se dissemina, geralmente por migração de macrófagos contendo células de levedura viáveis, a partir do pulmão para os linfáticos e a corrente sanguínea até o cérebro.

Os principais fatores inerentes ao *Cryptococcus* spp. que permitem que a levedura invada as defesas do hospedeiro e estabeleça a infecção incluem a capacidade de crescer a 37°C, produzir uma espessa cápsula de polissacarídeos, sintetizar melanina e apresentar um fenótipo do tipo MATalfa (Tab. 68-1).

A cápsula de *Cryptococcus* spp. protege a célula da fagocitose e de citocinas induzidas pelo processo fagocítico e suprime tanto a imunidade celular quanto a humoral. A cápsula pode bloquear fisicamente o efeito opsonizante do complemento e anticorpos anticriptococócicos, e a alteração negativa que ela confere produz uma repulsão eletrostática entre as células leveduriformes e as células do hospedeiro. Além disso, o material capsular interfere com a apresentação de antígenos e limita a produção de óxido nítrico (tóxico para as células criptococócicas) pelas células do hospedeiro.

O fungo produz melanina através de uma enzima fenoloxidase ligada à membrana e a deposita na parede celular. Acredita-se que a melanina aprimore a integridade da parede celular e aumente a carga total negativa da célula, protegendo-a ainda mais contra a fagocitose. Estima-se que a melanização seja responsável pelo neurotropismo de *Cryptococcus* spp. e possa proteger a célula de estresse oxidativo, temperaturas extremas, redução de ferro e peptídios microbicidas.

O fenótipo MATalfa está associado à presença do gene ***STE12alfa***, que demonstrou ser um modulador da expressão de vários outros genes cujas funções são importantes para a produção da cápsula e melanina.

Aspergillus species

A aspergilose é a infecção invasiva, por fungos filamentosos, mais comum em todo o mundo. *Aspergillus* spp. são saprófitos universais na natureza, podendo ser encontrados no solo, em vasos de plantas, vegetação em decomposição, pimenta e áreas de construção. *Aspergillus* spp. pode causar doença em humanos pela colonização de vias áreas com subsequentes reações alérgicas, pela colonização de cavidade preexistente (aspergiloma) ou por invasão tecidual.

A via primária de infecção na aspergilose é a inalação de conídios aerossolizados (2,5 a 3µm) que se depositam nos pulmões, nasofaringe ou seios paranasais. Nos pulmões, os macrófagos alveolares e neutrófilos desempenham papel fundamental na defesa do hospedeiro contra *Aspergillus* spp. Os macrófagos ingerem e destroem os conídios, enquanto os neutrófilos aderem e destroem as hifas que crescem após a germinação dos conídios. As hifas que não são destruídas podem invadir o tecido pulmonar e a vasculatura, levando à trombose e necrose tecidual local, bem como à disseminação hematogênica para outros órgãos-alvo (cérebro).

Aspergillus spp. secretam muitos produtos metabólicos, como gliotoxinas e várias enzimas, incluindo elastase, fosfolipases, diversas proteases e catalase, que podem ter uma importante função na virulência. A gliotoxina inibe a fagocitose por macrófagos e a ativação e proliferação de células T; entretanto, não se sabe se são produzidas quantidades clinicamente significativas de gliotoxinas na doença humana.

Conídios de *A. fumigatus* se ligam ao fibrinogênio humano, bem como à laminina na membrana basal alveolar. Acredita-se que este seja um importante primeiro passo, que permite ao fungo estabelecer residência em tecidos do hospedeiro. Portanto, a ligação a fibrinogênio e laminina poderia facilitar a aderência de conídios, enquanto a secreção de elastases e proteases ácidas poderia auxiliar na invasão de células do hospedeiro pelas hifas.

A aspergilose invasiva está altamente associada à neutropenia e déficits na função neutrofílica. Os conídios de *Aspergillus* resistem à destruição por neutrófilos, enquanto os conídios em germinação e as hifas são rapidamente destruídos. Na doença granulomatosa crônica, os neutrófilos são incapazes de gerar a explosão respiratória para destruir microrganismos produtores de catalase. *Aspergillus* spp. produzem catalase, uma enzima que quebra o peróxido de hidrogênio. A forte associação entre aspergilose e doença granulomatosa crônica ressalta a importância da função neutrofílica na defesa do hospedeiro contra a aspergilose e fornece evidências indiretas para a catalase como um fator de virulência. É geralmente aceito que o risco aumentado de aspergilose em indivíduos que recebem altas doses de corticosteroides se deva ao déficit na função de macrófagos e, talvez, de células T. Além disso, foi demonstrado que os corticosteroides estimulam o crescimento de *Aspergillus* spp. em meios de cultura. Não se sabe se *Aspergillus* spp. apresentam proteínas específicas de ligação a esteroides análogas àquelas encontradas em outros fungos.

Questões

1. O que distingue um patógeno primário de um patógeno oportunista?

1. Patógenos primários são capazes de causar infecção em indivíduos imunocompetentes. Patógenos primários possuem fatores de virulência que lhes permitem ativamente uma violação das defesas do hospedeiro, que geralmente restringem o crescimento do invasor de outros organismos. Em contraste, patógenos oportunistas geralmente apenas causam infecção quando ocorre ruptura nas barreiras de proteção da pele e membranas mucosas ou quando defeitos no sistema imune do hospedeiro lhes permitem penetrar, colonizar e reproduzir no hospedeiro.

2. Quais são os temas comuns vistos na patogênese dos patógenos fúngicos primários?

2. Todos os fungos patógenos primários sistêmicos são agentes de infecção respiratória. Cada um deles possui uma fase filamentosa saprófita caracterizada por hifas septadas encontradas no solo, vegetação ou materiais em decomposição onde produzem partículas aéreas que podem infectar. Da mesma forma, a fase parasitária destes fungos podem se adaptar ao crescimento a 37°C e se reproduzir assexuadamente como alternativa ao nicho ambiental na mucosa respiratória do hospedeiro. Esta habilidade de existir em diferentes formas (dimorfismo) é uma das várias características especiais (fatores de virulência) que permitem estes fungos se reproduzirem nas condições ambientais hostis do hospedeiro.

3. Qual é a mais importante linha de defesa contra os fungos dimórficos endêmicos?

3. A mais importante linha de defesa contra os fungos dimórficos endêmicos são os macrófagos pulmonares.

4. Qual fator de virulência presumido é comum tanto aos patógenos fúngicos primários quanto aos oportunistas discutidos neste capítulo?

4. Fungos patógenos primários e oportunistas são capazes de se replicar a 37°C.

Bibliografia

Casadevall A, Pirofski L. Host-pathogen interactions: The attributes of virulence. *J Infect Dis*. 2001;184:337-344.

Clemons KV, et al. Pathogenesis I: Interactions of host cells and fungi. *Med Mycol*. 2000;38(Suppl 1):99-111.

Cole GT. Fungal pathogenesis. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Dignani MC, et al. Candida. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Heitman SGF, et al. Molecular Principles of Fungal Pathogenesis. Washington: DC, ASM Press, 2006.

Nemecek JC, et al. Global control of dimorphism and virulence in fungi. *Science*. 2006;312:583-588.

Perfect JR. Cryptococcus neoformans: A sugar-coated killer with designer genes. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005;43:395-404.

69 Diagnóstico Laboratorial das Doenças Fúngicas

O espectro das doenças fúngicas abrange desde infecções cutâneas superficiais e mucosas, que pode se manifestar por uma irritação local, a processos altamente invasivos associados a patógenos sistêmicos clássicos e oportunistas. Infecções graves têm sido reportadas com uma variedade cada vez maior de patógenos, incluindo os fungos patogênicos como *Candida, Cryptococcus* spp., *Histoplasma capsulatum* e *Aspergillus*, como também fungos filamentosos hialinos e demáceos menos conhecidos (Cap. 5, Tabs. 5-1 e 5-2). A micologia médica moderna se tornou o estudo das micoses causadas por uma variedade de diversos fungos taxonomicamente.

As micoses oportunistas propõem um desafio diagnóstico significativo igualmente aos clínicos e micologistas devido à complexidade da população de pacientes em risco e à disposição cada vez maior de fungos que podem infectar estes indivíduos. O diagnóstico e o tratamento bem-sucedidos das infecções fúngicas em pacientes imunocomprometidos são altamente dependentes da abordagem da equipe, que envolve clínicos, micologistas, médicos e patologistas.

Este capítulo fornece uma descrição geral dos princípios da coleta de amostras e do processamento necessário ao diagnóstico da maioria das infecções fúngicas. Também é proporcionada uma visão geral da microscopia direta, da cultura e dos testes diagnósticos imunológicos e moleculares. Os detalhes específicos destes e outros procedimentos utilizados no diagnóstico das infecções fúngicas podem ser encontrados em vários textos de referência listados na bibliografia.

Reconhecimento Clínico das Infecções Fúngicas

O rápido diagnóstico das micoses invasivas requer um alto índice de suspeita e uma apreciação dos fatores de risco específicos que possam predispor um paciente a tais infecções. A suspeita clínica, através do histórico e exame físico, inclui uma busca por lesões cutâneas e mucosas, inspeção de todos os dispositivos implantados (cateteres etc.), um exame oftalmológico cuidadoso, exames diagnósticos de imagem e, finalmente, a procura de amostras apropriadas ao diagnóstico laboratorial são etapas essenciais a serem considerados para aperfeiçoar o diagnóstico e o tratamento das infecções fúngicas. Infelizmente, ainda que fungos específicos possam estar associados a situações de casos "clássicos", como onicomicose e lesões cutâneas da extremidade inferior devido a *Fusarium* em pacientes com neutropenia ou infecção sinusal devido a *Rhizopus* em pacientes diabéticos com cetoacidose, os sinais e sintomas clínicos não são específicos às infecções fúngicas e, muitas vezes, não são úteis na distinção entre infecções bacterianas e fúngicas em pacientes de risco a ambos os tipos de infecção. É cada vez mais importante não somente saber se o paciente está com infecção fúngica, como também identificar o agente etiológico da infecção, para que sejam dados o melhor tratamento e apoio clínico. Assim, o diagnóstico das infecções depende de três abordagens laboratoriais básicas: (1) microbiológica; (2) imunológica; e (3) histopatológica (Quadro 69-1). Estas abordagens podem ser suplementadas por métodos moleculares e bioquímicos de detecção e identificação do organismo. A utilização de novos métodos na detecção de antígenos fúngicos e ácidos nucleicos oferecem grande esperança ao diagnóstico rápido das infecções fúngicas.

Quadro 69-1 Métodos Laboratoriais para Diagnóstico da Doença Fúngica

H&E: hematoxilina e eosina; GMS: prata matanamina de Grocott; PAS: ácido periódico de Schiff.

Métodos Microbiológicos Convencionais

Microscopia direta (Coloração de Gram, Giemsa e Calcofluor)

Cultura

Identificação

Teste de susceptibilidade

Métodos Histopatológicos

Coloração de rotina (H&E)

Colorações especiais (GMS, PAS, Mucicarmin)

Imunofluorescência direta

Hibridização *in situ*

Métodos Imunológicos

Anticorpo

Antígeno

Métodos moleculares

Detecção direta (amplificação do ácido nucleico)

Identificação

Tipagem molecular de amostras

Métodos Bioquímicos

Metabólitos

Componentes da parede celular

Enzimas

Diagnóstico Laboratorial Convencional

Coleta e Processamento de Amostras

Como em todos os tipos de processos infecciosos, o diagnóstico laboratorial da infecção fúngica é diretamente dependente da coleta adequada do material clínico apropriado e da entrega de amostras ao laboratório clínico. A seleção de amostras para cultura e exame microscópico é baseada não somente nas informações obtidas de exames clínicos e radiográficos, mas também na consideração do patógeno fúngico mais provável de causar um tipo específico de infecção (Tab. 69-1). As amostras devem ser coletadas assepticamente ou após limpeza e descontaminação adequadas do local. Uma quantidade adequada de material clínico deve ser prontamente submetida à cultura e microscopia. Infelizmente, muitas amostras enviadas ao laboratório são de baixa qualidade e quantidade insuficiente, não sendo apropriadas para se fazer o diagnóstico. Estas amostras devem ser enviadas, urgentemente, em um recipiente estéril à prova de vazamento e acompanhadas por um histórico clínico relevante. O laboratório depende de informações clínicas na tomada de decisões, como o melhor caminho no processamento da amostra para assegurar o isolamento do agente etiológico. O histórico clínico também é útil na interpretação dos resultados da cultura e outros testes laboratoriais, especialmente quando se trata de amostras, como escarro e pele, de locais não estéreis. Além disso, as informações clínicas alertam os profissionais de laboratório de que se trata de patógenos potencialmente perigosos, como *Coccidioides immitis/posadasii* ou *Histoplasma capsulatum*.

Tabela 69-1 Sítios Anatômicos, Coleta de Amostras e Procedimentos Diagnósticos para Infecções Fúngicas

Tabela 69-1. Sítios Anatômicos, Coleta de Amostras e Procedimentos Diagnósticos para Infecções Fúngicas

Sítio de Infecção e Agente etiológico	Amostras	Método de Coleta	Procedimento Diagnóstico
Sangue			
Candida, Cryptococcus spp., *Histoplasma capsulatum, Fusarium, Aspergillus terreus, Penicillium marneffei, Trichosporon*	Sangue total	Punção venosa (estéril)	Cultura, cultura em meio líquido, lise centrifugação
	Soro	Punção venosa (estéril)	Antígeno (*Candida, Cryptococcus* e *Histoplasma*); amplificação de ácidos nucleicos
	Urina	Estéril	Antígeno (*Histoplasma*)
Medula Óssea			
Histoplasma capsulatum, Penicillium marneffei	Aspirado	Estéril	Exame microscópico, cultura
	Soro	Punção venosa (estéril)	Sorologia, (*Histoplasma*) antígeno, anticorpo
	Urina	Estéril	Antígeno (*Histoplasma*)
Sistema Nervoso Central			
Candida, Cryptococcus spp., *Aspergillus, Scedosporium*, fungos filamentosos, demáceos, Zigomicetos	Líquido cefalorraquidiano	Estéril	Exame microscópico, cultura, antígeno (*Cryptococcus*)
	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
	Soro	Estéril	Antígeno (*Cryptococcus*)
Osso e Articulação			
Candida, Fusarium, Aspergillus, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis/posadasii, Blastomyces dermatitidis, Penicillium marneffei, Sporothrix schenckii	Aspirado	Estéril	Exame microscópico, cultura
	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
	Soro	Punção venosa	Sorologia, antígeno, anticorpo
Olho			
Fusarium, Candida, Cryptococcus spp., *Aspergillus*, Zigomicetos	Córnea	Raspado ou biópsia	Exame microscópico, cultura
	Humor vítreo	Aspirado estéril	Exame microscópico, cultura

O transporte das amostras ao laboratório deve ser imediato; entretanto, o processamento lento das mesmas para cultura de fungos pode não ser tão prejudicial como para as amostras para exames bacteriológico, virológico ou parasitológico. Em geral, se o processamento for retardado, as amostras para cultura fúngica podem ser armazenadas a 4°C por um curto período de tempo, sem a perda da viabilidade do organismo.

Similares às amostras do exame bacteriológico, existem algumas amostras melhores que outras para o diagnóstico de infecções fúngicas (Tab. 69-1). Culturas de sangue e outros

líquidos corpóreos normalmente estéreis devem ser realizadas, se as indicações clínicas indicarem um processo ou envolvimento hematogênico de um espaço fechado, como o sistema nervoso central. As lesões cutâneas devem ser biopsiadas, e o material enviado ao exame histopatológico e à cultura. As infecções das mucosas oral e vaginal são, em geral, mais bem diagnosticadas pela apresentação clínica e pelo exame microscópico direto das secreções ou raspado da mucosa, pois as culturas muitas vezes apresentam crescimento de fungos da microbiota normal ou até mesmo contaminantes. Igualmente, o diagnóstico das infecções fúngicas gastrointestinais é mais bem feito por biópsia e exame histopatológico em vez de cultura. As coletas de 24 horas de escarro e urina não são apropriadas ao exame micológico, pois, tipicamente, há um aumento excessivo de contaminantes bacterianos e fúngicos.

Colorações e Exame Microscópico Direto

O exame microscópico direto das secções teciduais e amostras clínicas é geralmente considerado o meio mais rápido e de baixo custo para o diagnóstico das infecções fúngicas. A detecção microscópica das leveduras ou hifas nos tecidos pode ser efetuada em menos de 1 hora, enquanto os resultados da cultura podem não estar disponíveis por dias ou até mesmo semanas. Em alguns casos, o fungo pode não ser apenas detectado, mas identificado por microscopia devido à sua morfologia distinta. Especificamente, a detecção de ascósporos característicos, células leveduriformes ou esférulas pode fornecer um diagnóstico etiológico das infecções devido a *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*) , *H. capsulatum, Blastomyces dermatitidis* ou *C. immitis/posadasii*, respectivamente. Ainda que a aparência morfológica de *Candida*, um zigomiceto, ou *Trichosporon* no tecido possa levar ao diagnóstico do tipo de infecção (*i.e.*, candidose, zigomicose, tricosporonose), a espécie atual de fungo que causa a infecção permaneceria desconhecida dependendo da cultura. A detecção microscópica dos fungos nos tecidos serve para orientar o laboratório na seleção dos meios mais apropriados à cultura da amostra e também é útil na determinação da significância dos resultados da cultura. A última é especialmente verdadeira quando o organismo isolado na cultura é um componente conhecido da microbiota normal ou é encontrado frequentemente no ambiente.

A microscopia direta é claramente útil no diagnóstico da infecção fúngica: entretanto, os resultados falso-negativos e falso-positivos podem ocorrer. A microscopia é menos sensível que cultura, e um exame direto negativo não exclui uma infecção fúngica.

Um número de diferentes corantes e técnicas microscópicas pode ser utilizado para detectar e caracterizar os fungos diretamente no material clínico (Tab. 69-2). As abordagens utilizadas com mais frequência no laboratório de micologia clínica incluem o reagente fluorescente branco de calcofluor ou a coloração de esfregaços e preparados de pouca quantidade com coloração de Gram ou corante de Giemsa. O branco de calcofluor cora a parede celular dos fungos, fazendo com que eles fluoresçam, permitindo a detecção mais fácil e mais rápida (Fig. 69-1). A coloração de Gram é útil na detecção de leveduras, como as espécies de *Candida* ou *Cryptococcus* (Fig. 69-2), mas também cora hifas de fungos filamentosos, como *Aspergillus* (Fig. 69-3) . Os fungos se coram tipicamente como Gram positivos porém podem parecer manchados ou Gram negativos (Figs. 69-2 e 69-3). O corante de Giemsa é especialmente útil na detecção de leveduras intracelulares de *Histoplasma capsulatum* nos esfregaços de sangue periférico, na medula óssea, ou em preparados com pouca quantidade de tecido (Fig. 69-4).

Tabela 69-2 Métodos e Colorações Comumente Utilizados para Detecção Microscópica Direta dos Elementos Fúngico

Método Coloração	Utilização	Comentários
Coloração branco de Calcoflúor	Detecção de todos os fungos incluindo *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*)	Rápida (1-2 minutos), detecta a quitina da parede celular fúngica pelo brilho fluorescente. Utilizada em combinação com KOH. Requer microscópio fluorescente com filtros adequados. A fluorescência de fundo pode tornar difícil o exame de algumas amostras.
Tratamento com anticorpo monoclonal fluorescente	Exame da amostra respiratória por *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*)	Método sensível e específico para detecção de ascósporos de *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*). Não cora as formas extracísticas (tróficas).
Coloração de Giemsa	Exame de medula óssea, esfregaços de sangue periférico, preparados com pouca quantidade de tecido, e amostras respiratórias	Detecta *Histoplasma capsulatum* intracelular e ascósporos de *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*). Não cora a parede do *Pneumocystis*. Cora outros organismos além de *Histoplasma* e *Pneumocystis*.
Coloração de Gram	Detecção de bactérias e fungos	Realizado comumente em amostras clínicas. Cora a maioria das leveduras e hifas. Muitos fungos se coram como Gram positivos, mas alguns, como *Cryptococcus* spp., exibem pontilhado ou aparecem como Gram negativos
Coloração pela hematoxilina e eosina (H&E)	Coloração histológica	Melhor coloração para demonstrar reação do hospedeiro no tecido infectado. Coram a maioria dos fungos, porém pequeno número de organismos pode ser difícil de se diferenciar da coloração de fundo. Útil na demonstração do pigmento natural dos fungos

(H&E)		demáceos.
Coloração pela prata matanamina de Grocott.	Detecção de fungos nos cortes histológicos e ascósporos de *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*) em amostras respiratórias	Melhor coloração na detecção de todos os fungos. Coram hifas e leveduras em negro contra um fungo verde. Usualmente realizada no laboratório de histopatologia
Coloração de Mucicarmin	Coloração histológica para mucina	Útil na demonstração de material capsular de *Cryptococcus* spp. Também podem corar as paredes celulares de *Blastomyces dermatitidis* e *Rhinosporidium seeberi*
Coloração pelo método do ácido periódico de Schiff (PAS)	Coloração histológica para fungos	Cora tanto leveduras quanto hifas no tecido. Artefatos PAS-positivo podem lembrar células leveduriformes.

Adaptado de Pfaller MA, McGinnis MR: The laboratory and clinical mycology. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA: Clinical mycology, New York, Churchill Livingstone, 2003.

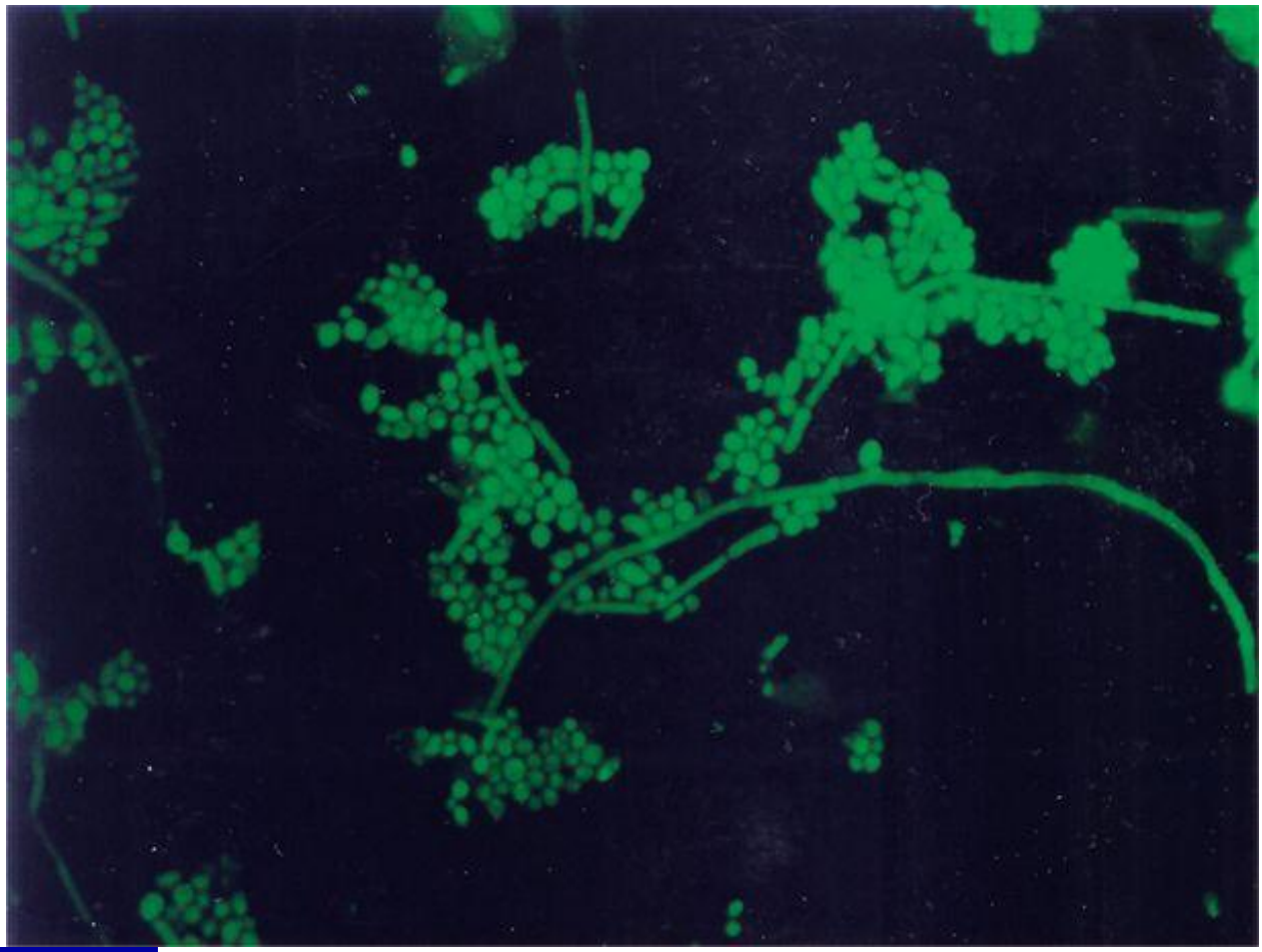


Figura 69-1 Corante branco de calcoflúor demonstrando blastoconídios e pseudo-hifas de *Candida albicans*.

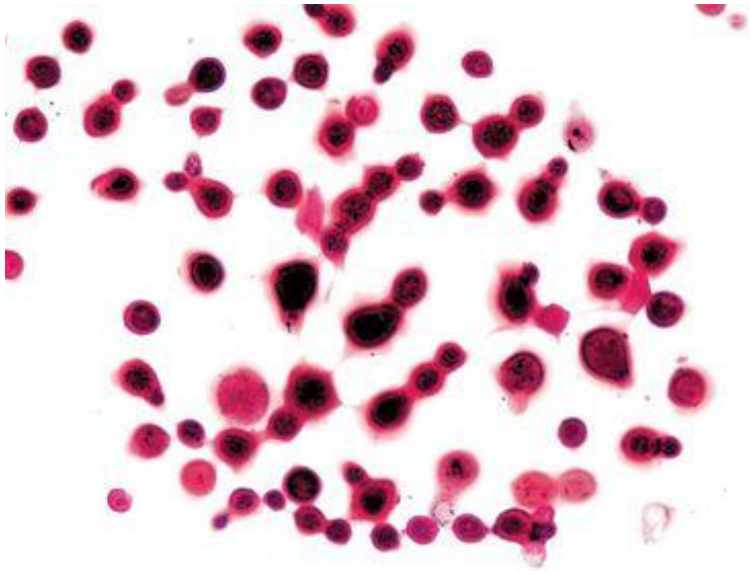


Figura 69-2 Coloração de Gram de *Cryptococcus* spp. Leveduras encapsuladas com brotamento e de tamanho variável, mostrando um padrão puntiforme devido à retenção irregular da coloração do cristal violeta.

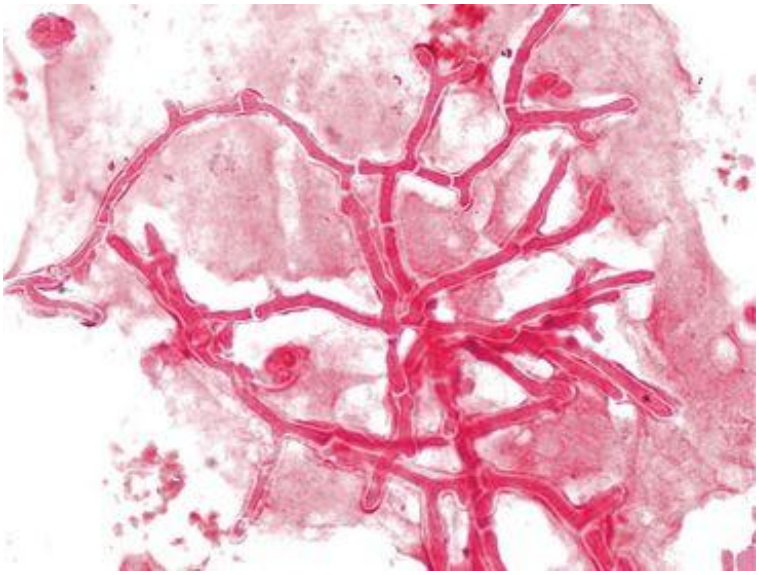


Figura 69-3 Coloração de Gram de *Aspergillus*. Esta amostra não retém a coloração do cristal violeta e se cora como Gram negativo.

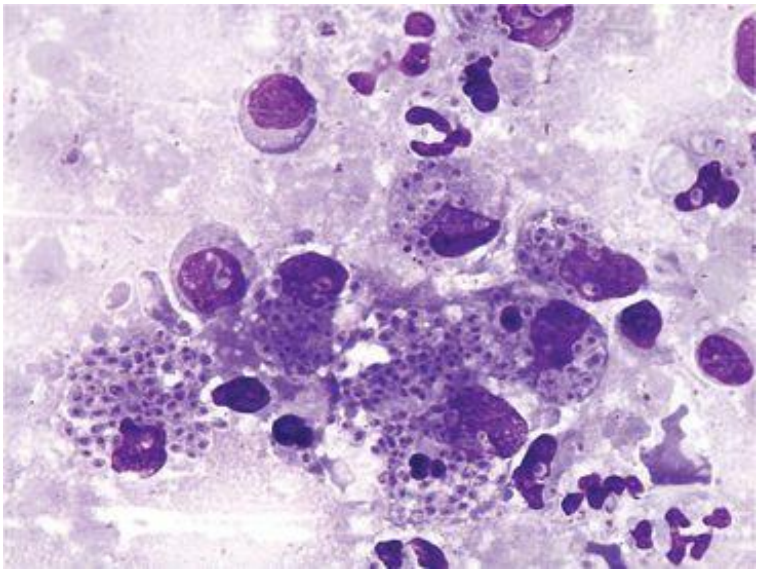


Figura 69-4 Coloração de Giemsa mostrando formas intracelulares de leveduras de *Histoplasma capsulatum*.

O patógeno respiratório *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*) pode ser detectado no escarro induzido ou nas amostras obtidas por broncoscopia. Os cistos podem ser corados com corantes de metanamina prata de Gomori (GMS) (Fig. 69-5) ou por anticorpo monoclonal fluorescente, e as formas tróficas e intracelulares são coradas com o corante de Giemsa (Fig. 69-6).

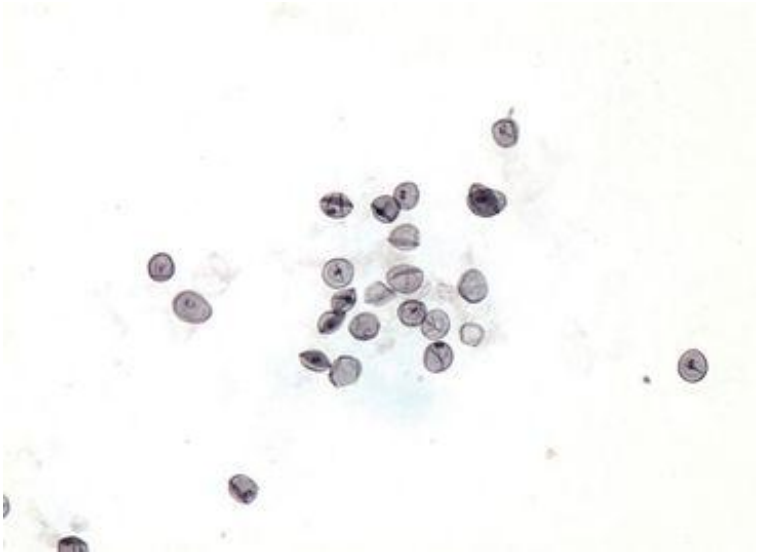


Figura 69-5 Coloração pela prata de ascosporos de *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*).

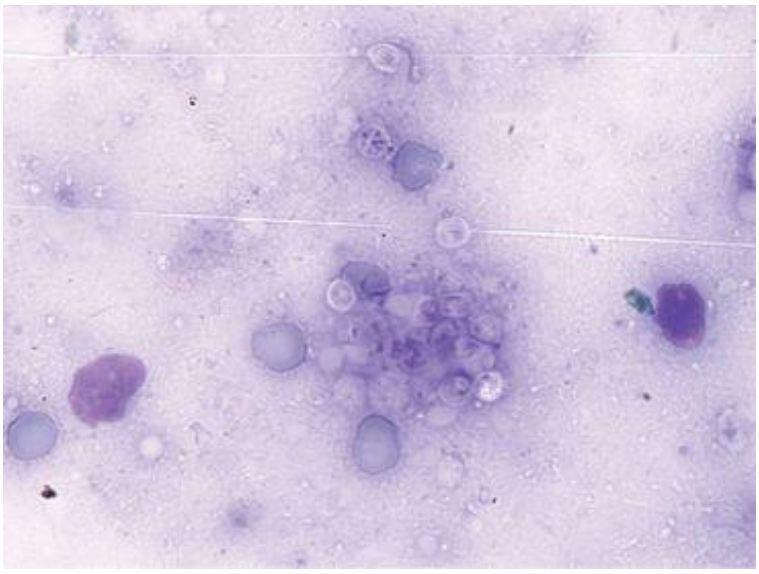


Figura 69-6 Coloração de Giemsa mostrando ascosporos de *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*).

Colorações como hematoxilina e eosina (H&E), GMS, e o ácido periódico de Schiff (PAS) são utilizados em citologia e/ou histopatologia e utilizados para a detecção de fungos em preparos citológicos, aspirados com agulha, tecidos, líquidos corporais e exsudatos (Tabs. 69-1 e 69-2). Estes corantes podem detectar fungos como *Blastomyces dermatitidis, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis/posadasii, Candida* spp., *Cryptococcus* spp., e as hifas dos zigomicetos (Fig. 69-7) , *Aspergillus* e outros fungos filamentosos. Os fungos podem ser visualizados com a coloração de H&E, porém um pequeno número de organismos podem não ser detectados. Os corantes mais específicos aos fungos são o GMS e PAS. São úteis na detecção de um pequeno número de organismos e claramente na definição dos aspectos característicos da morfologia fúngica. O exame histológico do tecido fixado fornece a oportunidade para determinar se o fungo está invadindo ou está meramente presente de maneira superficial, informação que será útil na distinção entre a infecção e a colonização. Os aspectos morfológicos microscópicos de vários dos patógenos mais comuns estão apresentados na Tab. 69-3.

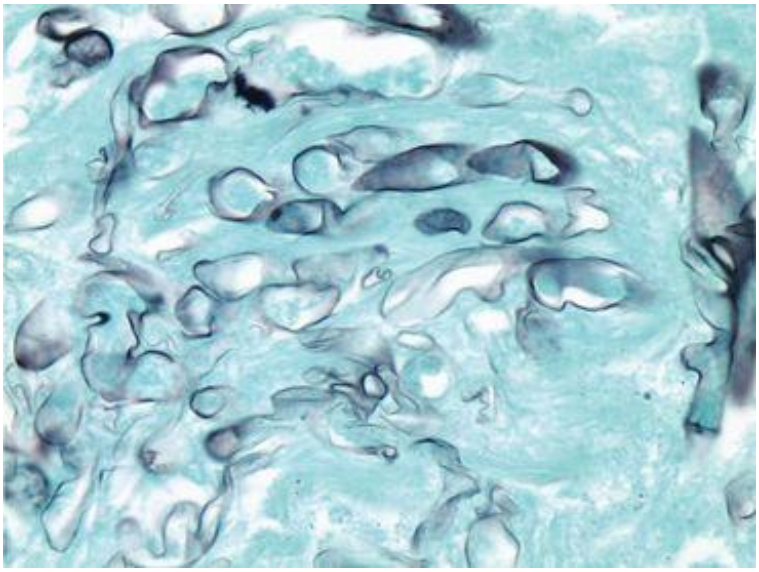


Figura 69-7 Coloração pela prata de *Rhizopus*.

Tabela 69-3 Características de Fungos Patógenos e Oportunistas em Amostras Clínicas e em Cultura

Tabela 69-3. Características de Fungos Patógenos e Oportunistas em Amostras Clínicas e em Cultura

Fungo	Morfologia Microscópica	Aspectos Morfológicos Característicos na Cultura		Testes Adicionais para Identificação
	Características em Amostras Clínicas	Macroscópico	Microscópico	
Candida	Leveduras ovais de 2-6µm de diâmetro. Hifas e pseudo-hifas podem estar presentes	Morfologia variável. Colônias geralmente pastosas, brancas a castanhas, e opacas. Podem ter morfologia lisa ou enrugada	Grupos de blastoconídios, pseudo-hifas, e/ou clamidoconídios terminais em algumas espécies	Produção de tubo germinativo por *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, e *C. stellatoidea*. PNA-FISH Assimilação de carboidratos. Morfologia em *corn meal agar* (agar fubá)
Cryptococcus spp.	Leveduras esféricas de tamanho variável, 2-15µm. Cápsula pode estar presente. Nenhuma hifa ou pseudo-hifa	Colônias são brilhantes, mucoides, em forma de cúpula, e de cor bege a castanho	Leveduras esféricas de tamanho variável com brotamento. Cápsula presente. Nenhuma pseudo-hifa. As células podem ter múltiplos brotamentos	Testes para uréase (+), fenoloxidase (+) e nitrato redutase (−). Aglutinação do látex ou teste de EIA para o antígeno polissacarídeo. Corantes mucicarmin e melanina nos tecidos
Aspergillus	Hifas ramificadas dicotomicamente e septadas de diâmetro uniforme (3-6µm)	Varia com a espécie. *A. fumigatus*: verde azulada cinza; *A. flavus*: verde amarelado; *A. niger*: negra	Varia com a espécie. Conidióforos com vesículas aumentadas cobertas com métulas ou fiálides em forma de garrafa. As hifas são hialinas e septadas	Identificação baseada na morfologia microscópica e da colônia
Zygomycetes	Hifas pouco septadas de paredes finas e amplas, de 6-25µm, com lados não paralelos e ramos aleatórios. As hifas se coram fracamente pelos corantes GMS e frequentemente se coram bem com coloração H&E	As colônias são de crescimento rápido, algodonosas e de cor cinza acastanhado a preto acinzentado	Hifas semelhantes a fitas, amplas com poucos septos. Esporângio ou esporangiolo produzidos a partir do esporangióforo. Rizoides se apresentam em algumas espécies	Identificação baseada nos aspectos morfológicos microscópicos
Fungos filamentosos demáceos (Cap. 5, Tab. 5-3)	Hifas pigmentadas (marrom, castanha ou negra), de 2-6µm de diâmetro. Podem ser ramificadas ou não. Muitas vezes contraídas no ponto da septação	As colônias são, geralmente, de crescimento rápido, algodonosas e de cor oliva, negra ou castanha	Varia dependendo do gênero e da espécie. As hifas são pigmentadas. Os conídios podem ser únicos ou em cadeias, lisos ou irregulares e dematiaceos	Identificação baseada na morfologia microscópica e da colônia

(Continua)

Tabela 69-3. Características de Fungos Patógenos e Oportunistas em Amostras Clínicas e em Cultura – *Continuação*

Fungo	Morfologia Microscópica	Aspectos Morfológicos Característicos na cultura		Testes Adicionais para Identificação
	Características em Amostras Clínicas	Macroscópico	Microscópico	
Histoplasma capsulatum	Pequenas (2-4µm) leveduras com brotamento dentro dos macrófagos	As colônias são de crescimento lento e de cor branca ou marrom claro (25°C). As colônias da fase leveduriforme (37°C) são lisas, brancas e pastosas.	Hifas septadas finas que produzem macroconídios tuberculados e microconídios de parede lisa (25°C). Pequenas leveduras ovais com brotamentos a 37°C.	Demonstração do dimorfismo térmico pela conversão de fungo filamentoso à fase leveduriforme em 37° C. Os testes de exoantígeno e de sonda de ácido nucleico permitem a identificação sem a fase de conversão.
Blastomyces dermatitidis	Leveduras grandes (8-15µm), de parede fina e ampla, com brotamento	As colônias variam de membranosas, colônias leveduriformes a algodonosas, brancas, colônias semelhantes a fungos filamentosos a 25°C. Quando crescem a 37°C, as colônias da fase leveduriforme são enrugadas, dobradas e glabrosas.	Hifas septadas hialinas com conídios lisos de célula única (25°C). Leveduras grandes de parede fina com brotamento a 37°C.	Demonstração do dimorfismo térmico; testes de enxoantígeno e de sonda de ácido nucleico.
Coccidioides immitis/ posadasii	Esférulas esféricas, de parede fina com 20-200µm. Esférulas maduras que contêm endósporos pequenos de 2-5µm	As colônias parecem inicialmente úmidas e glabrosas, se tornando rapidamente felpudas e branco-acinzentadas, com reverso castanho ou marrom	Hifas hialinas com artroconídios retangulares separados por células disjuntoras vazias	Testes de enxoantígeno e de sonda de ácido nucleico
Sporothrix schenckii	Células leveduriformes de tamanhos variados. Algumas podem parecer alongados ou em forma de charuto. A reação tecidual forma corpos asteroides	As colônias são inicialmente lisas, úmidas e leveduriformes, se tornando aveludadas enquanto as hifas aéreas se desenvolvem (25°C). Colônias pastosas, de castanho a marrom a 37°C	Hifas finas de ramificação septada. Conídios em grupos, em forma de roseta na extremidade do conidióforo (25°C). Leveduras de tamanho variável com brotamento produzidos a 37°C	Demonstração do dimorfismo térmico. Exoantígeno e sonda de ácido nucleico
Penicillium marneffei	Células leveduriformes intracelulares ovais com septo	As colônias produzem pigmento vermelho que se difunde no meio a 25°C	Hifas septadas com métulas, fiálides com cadeias de conídios numa distribuição em "pincel" (25°C). As células leveduriformes se dividem por fissão (37°C)	Demonstração do dimorfismo térmico
Pneumocystis jirovecii (carinii)	Os ascosporos são arredondados, colapsados ou de forma crescente.	Não aplicável	Não aplicável	Coloração por imunofluorescência, colorações por GMS, Giemsa, azul de toluidina (Tab. 69-2)

EIA do inglês enzyme immunoassay (ensaio imunoenzimático), PNA-FISH do inglês peptide nucleic acid-fluorescent in situ hybridization (ácido nucleico peptídico hibridização in situ fluorescente)

Cultura

O meio mais sensível de diagnosticar uma infecção fúngica é considerado, geralmente, como sendo o isolamento do fungo em cultura. A cultura é também necessária, muitas vezes, para identificar os agentes etiológicos. A recuperação dos fungos do material clínico depende da obtenção de uma amostra clínica adequada e da utilização dos métodos de cultura, que assegurarão a recuperação de organismos presentes, em geral, em pequenas quantidades e de crescimento lento. Nenhum meio de cultura isoladamente é suficiente para isolar todos os fungos clinicamente importantes, e é usualmente aceito que devam ser utilizados, pelo menos, dois tipos de meios, seletivo e não seletivo. O meio não seletivo permitirá o crescimento de levedura e fungos filamentosos que crescem rapidamente, como também os fungos mais exigentes de crescimento mais lento. Os fungos crescerão em muitos meios utilizados para bactérias; entretanto, o crescimento pode ser lento, e um meio mais enriquecido, como agar com infusão de cérebro e coração (BHI do inglês *brain heart infusion*) ou agar Sabouraud dextrose e BHI (SABHI do inglês *Sabouraud dextrose and BHI*), é recomendado. Os fungos dimórficos exigentes, como *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis*, requerem em geral um meio contendo sangue, como o BHI com 5% a 10% de sangue de carneiro, para a recuperação ideal do material clínico. A cicloeximida é adicionada, muitas vezes, a este meio para inibir leveduras e fungos filamentosos de crescimento mais rápido que possam contaminar a amostra. Ainda que a cicloeximida não afete os patógenos dimórficos endêmicos, ela inibirá o crescimento de muitos patógenos oportunistas (p. ex., *Candida, Aspergillus*) que também poderiam ser o agente etiológico da infecção. Por esta razão, sempre se deve cultivar em meio contendo cicloeximida e meio complementar sem cicloeximida. As amostras que podem estar contaminadas com bactérias devem ser inoculadas em meios seletivos, como o SABHI ou BHI suplementados com antibióticos (penicilina mais estreptomicina são frequentemente utilizadas). Os fungos específicos podem necessitar de meios especializados. Por exemplo, *Malassezia* spp., um agente que causa infecção superficial da pele e infecção por cateteres vasculares, necessita de um meio contendo azeite de oliva ou outra fonte de ácidos graxos de cadeia longa para isolamento.

A detecção de fungemia é uma medida importante no diagnóstico da infecção fúngica invasiva. Ainda que possa ocorrer a contaminação das hemoculturas com um fungo, a maior parte delas, com resultados positivos para fungos, tem importância clínica. Infelizmente as hemoculturas têm, muitas vezes, resultados negativos, apesar da presença de doença disseminada, especialmente quando o organismo infeccioso é um fungo filamentoso. A detecção de fungemia tem melhorado devido ao desenvolvimento da monitoração contínua dos instrumentos de hemocultura com formulações melhoradas dos meios que levam em consideração as necessidades nutricionais dos fungos, bem como das bactérias. Além destes sistemas de meios líquidos de cultura, o método baseado na lise centrifugação e meios sólidos de cultura fornece um método flexível e sensível á detecção da fungemia causada por leveduras, fungos filamentosos e fungos dimórficos (Tab. 69-1).

Uma vez inoculada, as culturas fúngicas devem ser incubadas em aerobiose, numa temperatura adequada e por um período suficiente para assegurar a recuperação dos fungos a partir das amostras clínicas. A maioria dos fungos cresce adequadamente entre 25°C e 30°C, ainda que muitas espécies de *Candida* possam ser recuperadas de hemoculturas incubadas em 35°C e 37°C. As placas de cultura devem ser vedadas com fitas gás permeável, para evitar a desidratação. As amostras submetidas à cultura fúngica são incubadas, geralmente, por duas semanas; entretanto, muitas hemoculturas positivam entre 5 e 7 dias. A determinação da significância clínica de um isolado fúngico deve ser feita em consulta com o médico responsável no contexto clínico do paciente.

Identificando Características de Vários Fungos

A determinação da identidade de um agente etiológico específico da doença fúngica deve ter influência direta no prognóstico e nas considerações terapêuticas. Se torna claro que uma única abordagem terapêutica – por exemplo, como a utilização da anfotericina B – é inadequada para muitas infecções fúngicas (Cap. 70). A identificação dos patógenos fúngicos pode ter implicações diagnósticas e epidemiológicas adicionais. O conhecimento do gênero e da espécie do agente infeccioso também pode proporcionar acesso aos registros fúngicos e à literatura, em que as experiências de outros podem servir como guia ao curso clínico da infecção e resposta à terapia, especialmente para as muitas infecções fúngicas oportunistas incomuns.

Distinguir os fungos leveduriformes dos fungos filamentosos é o primeiro passo na identifição de um isolado fúngico. A morfologia da colônia fornece, geralmente, uma boa indicação, pois os fungos leveduriformes formam colônias pastosas opacas e os fungos filamentosos formam colônias filamentosas, que variam em textura, cor e topografia. O exame microscópico fornece um delineamento adicional e, muitas vezes, é o necessário à identificação de muitos fungos (Tab. 69-3). A identificação do gênero e da espécie, dependendo do fungo, requer estudo microscópico mais detalhado para delinear as estruturas características. A identificação de leveduras requer, em geral, testes bioquímicos e fisiológicos adicionais, enquanto que a identificação de leveduras e fungos filamentosos pode ser auxiliada por caracterização imunológica e molecular especializada (Tab. 69-3).

A identificação de fungos leveduriformes em espécies requer, muitas vezes, a determinação do perfil bioquímico e fisiológico do organismo, além da avaliação da morfologia microscópica (Tab. 69-3); entretanto, a identificação definitiva de um fungo filamentoso se baseia quase completamente em sua morfologia microscópica. Os aspectos importantes incluem a forma, o método de produção e o arranjo dos conídios ou esporos, como também o tamanho e a aparência das hifas. O preparo do material ao exame microscópico deve ser feito de tal modo que produza uma ruptura mínima do arranjo das estruturas reprodutivas e de seus conídios ou esporos. A determinação da presença de melanina e o dimorfismo térmico também são aspectos importantes. Os testes imunológicos e/ou testes baseados em sondas de ácidos nucleicos são muitas vezes utilizados para identificar os patógenos dimórficos endêmicos, e o sequenciamento do ácido nucleico é aplicado como método na identificação de uma variedade de fungos filamentosos. Os aspectos característicos de vários patógenos dimórficos e filamentosos comumente isolados estão relacionados na Tabela 69-3.

Marcadores Imunológicos, Moleculares e Bioquímicos para a Detecção Direta de Infecções Fúngicas Invasivas

Testes diagnósticos rápidos, sensíveis e específicos para as infecções fúngicas devem ser responsáveis por uma aplicação oportuna e focalizada das medidas terapêuticas específicas. Como tal, os testes para detecção de anticorpos e antígenos, metabólitos e ácidos nucleicos específicos do fungo têm grande atrativo. Um progresso considerável tem sido feito em várias destas áreas nos últimos anos (Tab. 69-4), embora, com poucas exceções, tais testes ainda permaneçam confinados aos laboratórios de referência ou ao cenário de pesquisa.

Tabela 69-4 Marcadores Antigênicos, Bioquímicos e Moleculares para Detecção Direta das Infecções Fúngicas Invasivas

Tabela 69-4. Marcadores Antigênicos, Bioquímicos e Moleculares para Detecção Direta das Infecções Fúngicas Invasivas

Organismo	Componentes da Parede Celular e Cápsula	Antígenos Citoplasmáticos	Metabólitos	Sequências Genômicas do DNA*
Candida	Mananas LA RIA EIA β-(1,3)-glucanas Teste *limulus* Quitina Espectrofotometria	Enolase EIA Imunoblot Anticorpo contra enolase EIA Produto de degradação da HSP-90 – 47kDa Ensaio Enzimático Imunodiagnóstico	D-Arabinitol Enzimático rápido CIC/FID Espectroscopia de massa/GLC	Actina Quitina Sintetase P450 ITS RNA ribossomal
Cryptococcus neoformans	Polissacarídeo capsular LA EIA		D-Manitol Espectroscopia de massa/GLC	Genes RNA ribossomal ITS Gene URA 5
Aspergillus	Galactomanana LA EIA RIA β-(1,3)-glucanas Teste de *Limilus* Quitina Quitina Espectrofotometria		D-Manitol GLC/FID Espectroscopia de massa/GLC	P450 Genes RNA Ribossomal ITS Protease Alcalina Mitocondrial
Blastomyces dermatitidis	Parede Celular RIA para proteína de adesão da parede celular de 120kDa			Genes RNA Ribossomal ITS
Histoplasma capsulatum	Parede Celular RIA e EIA para antígeno polissacarídeo			Genes RNA Ribossomal ITS
Penicillium marneffei	Manoproteína de parede celular EIA			ITS
Coccidioides immitis				Genes RNA Ribossomal

EIA, enzima imunoensaio; GLC, cromatografia de gás líquido; FID, detector da chama de ionização; ria, radioimunoensaio; la, aglutinação de látex; P450, gene de C-14 lanosterol demetilase; ITS, região interespaçadora interna.
** Todas as sequências detectadas pela reação em cadeia da polimerase*
Adaptado de Mujeeb I, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Pfaller MA: Fungi and fungal infections. In McClatchey KD (ed): Clinical Laboratory Medicine, 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2002.

A determinação dos títulos de anticorpos (Ac) e/ou antígenos (Ag) no soro pode ser útil no diagnóstico das infecções fúngicas. Quando realizada de modo seriado, títulos de Ac/Ac também fornecem um meio de monitoramento da progressão da doença e da resposta do paciente à terapia. Com exceção dos testes de anticorpos para histoplasmose e

coccidioidomicose, entretanto, a maioria dos anticorpos é desprovida de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico das infecções fúngicas invasivas.

A detecção da parede celular fúngica, dos antígenos citoplasmáticos e metabólitos no soro ou outros líquidos corporais representa o meio mais direto de fornecer um diagnóstico sorológico da infecção fúngica invasiva (Tab. 69-4). Os melhores exemplos desta abordagem são os testes comercialmente disponíveis para detecção dos antígenos polissacarídeos de *Cryptococcus* spp. e *Histoplasma capsulatum*. Estes testes provaram ser de grande valor no diagnóstico rápido da meningite criptococócica e histoplasmose disseminada, respectivamente. Os imunoensaios para detecção de galactomanana de *Aspergillus* e manana de *Candida* estão comercialmente disponíveis, embora o valor clínico destes testes permaneça obscuro.

Um outro componente da parede celular fúngica específica é a β-(1,3)-glucana. Este material pode ser detectado no soro de pacientes infectados com *Candida* e *Aspergillus* através de sua interação no teste de *limulus*. Os estudos deste teste para a b-glucana, que indica a presença de fungos, mas não identifica o gênero causador da infecção, têm sido promissores em certas populações de pacientes altamente selecionados.

A detecção dos metabólitos fúngicos tem potencial para o rápido diagnóstico da candidose e aspergilose (Tab. 69-4). A detecção do D-arabinitol no soro parece ser uma indicação da candidose disseminada, enquanto que a detecção de níveis elevados de D-manitol no lavado broncoalveolar pode ser útil no diagnóstico da aspergilose pulmonar. A utilidade diagnóstica da detecção de metabólitos permanece incerta devido à falta de um teste comercialmente disponível e aos problemas com a variabilidade dependente do método na sensibilidade e especificidade.

A aplicação da reação em cadeia da polimerase (PCR do inglês *polymerase chain reaction*) para detectar os ácidos nucleicos específicos aos fungos diretamente no material clínico oferece uma grande esperança no diagnóstico rápido das infecções fúngicas. Uma variedade de sequências específicas tem sido investigada, e se descobriu que essas sequências possuem um potencial valor diagnóstico à maioria dos patógenos fúngicos oportunistas e sistêmicos (Tab. 69-4). Os desenvolvimentos recentes, como o PCR em tempo real e a tecnologia de chips de DNA, facilitarão a ampla utilização desta tecnologia, embora ainda não esteja disponível em muitos laboratórios de micologia.

Além da detecção dos fungos no material clínico, os métodos imunológicos e moleculares também provaram utilidade na identificação dos fungos em cultura. As sondas de ácidos nucleicos são úteis na identificação dos patógenos dimórficos endêmicos, e a análise das sequências de DNA ribossômicos está sendo aplicada às leveduras e aos fungos filamentosos oportunistas comuns e incomuns. Os testes de imunodifusão utilizando exoantígenos são aplicados amplamente para identificar *Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis* e *Coccodioides immitis/posadassi*, evitando-se a necessidade de demonstrar o dimorfismo térmico na identificação destes agentes (Tab. 69-3).

Questões

1. Por que é importante saber qual fungo está causando uma determinada infecção?

1. O conhecimento do agente etiológico específico tem importantes implicações no prognóstico e pode influenciar diretamente na terapia antifúngica.

2. O procedimento laboratorial utilizado para identificar leveduras difere daquele para os fungos filamentosos. Como e por quê?

2. A identificação dos fungos leveduriformes, ao nível da espécie, muitas vezes exige a determinação do perfil bioquímico e fisiológico do organismo, além da avaliação da morfologia microscópica. Em contraste, a identificação definitiva dos fungos filamentosos é baseada quase inteiramente na sua morfologia microscópica.

3. Discuta as diferentes maneiras de serem identificados os patógenos endêmicos dimórficos.

3. Os patógenos endêmicos dimórficos podem ser identificados por suas características morfológicas microscópicas, pela demonstração do dimorfismo térmico e por pesquisa de exoantígenos e testes com sondas de ácido nucleico.

4. Quais são as vantagens do exame microscópico direto do material clínico para o diagnóstico da infecção fúngica ?

4. As vantagens do exame microscópico direto de material clínico para o diagnóstico de infecção fúngica incluem o baixo custo e a rapidez do diagnóstico. Em certos casos, o fungo pode não só ser detectado, mas identificado por microscopia devido ao fato de que ela possui uma morfologia diferenciada. A detecção microscópica de fungos no tecido serve para orientar o laboratório na escolha dos meios mais adequados para a cultura da amostra e também é útil para determinar o significado do resultado da cultura.

Bibliografia

Alexander BD, Pfaller MA. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Clin Infect Dis*. 2006;43(Suppl 1):S15-S27.

Mujeeb I, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Pfaller MA. Fungi and fungal infections. In McClatchey KD, editor: *Clinical Laboratory Medicine*, 2nd ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.

Pfaller MA, McGinnis MR. The laboratory and clinical mycology. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Shea YR, et al. Algorithms for detection and identification of fungi. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Yeo SF, Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:465-484.

70 Agentes Antifúngicos

A terapia antifúngica tem sido submetida a uma grande transformação nos últimos anos. Desde o domínio exclusivo dos agentes anfotericina B e 5-fluorocitosina (flucitosina, 5-FC), que eram tóxicos e difíceis de usar, o tratamento da doença fúngica tem avançado pela disponibilidade de novos agentes ativos sistemicamente e novas formulações de outros agentes antigos que fornecem eficácia comparável, ou mesmo superior com toxicidade menos significativa.

Neste capítulo, revisaremos os agentes antifúngicos, sistêmicos e tópicos (Tab. 70-1). Discutiremos seus espectros, potência, modo de ação, e indicações clínicas para o uso como agentes terapêuticos. Além disso, discutiremos os mecanismos de resistência das várias classes de agentes antifúngicos e os métodos *in vitro* para determinação da suscetibilidade e resistência dos fungos aos agentes disponíveis.

Tabela 70-1 Agentes Antifúngicos Sistêmicos e Tópicos em Uso e em Desenvolvimento

Tabela 70-1. Agentes Antifúngicos Sistêmicos e Tópicos em Uso e em Desenvolvimento

Agentes Antifúngicos	Via*	Mecanismo de Ação	Comentários
Alilaminas			
Nafitina Terbinafina	Tópica Oral, tópica	Inibição do esqualeno epoxidase	A terbinafina tem amplo espectro e atua sinergicamente com outros antifúngicos
Antimetabólitos			
Flucitosina	Oral	Inibição da síntese de DNA e RNA	Utilizada em combinação com anfotericina B e fluconazol; toxicidade e resistência secundária são problemas
Imidazólicos			
Cetoconazol, bifonazol, clotrimazol, econazol, miconazol, oxiconazol, sulconazol, terconazol, tioconazol	Oral, tópica	Inibe a enzima 14 α-demetilase do lanosterol dependente do citocromo P-450	O cetoconazol tem modesta atividade de amplo espectro e problemas de toxicidade
Triazólicos			
Fluconazol	Oral, IV	O mesmo que dos imidazólicos, porém com ligação mais específica com o alvo	Espectro limitado (leveduras); boa penetração no sistema nervoso central; resistência primária e secundária observada com *Candida krusei* e *Candida glabrata*, respectivamente
Itraconazol	Oral, IV	O mesmo que dos imidazólicos, porém com ligação mais específica com a enzima-alvo	Atividade de amplo espectro; absorção irregular; toxicidade e interações com outras drogas são problemas
Voriconazol	Oral, IV	O mesmo que dos imidazólicos, porém com ligação mais específica com a enzima-alvo	Amplo espectro incluindo leveduras e fungos filamentosos; ativo *vs* *Candida krusei*; muitas interações medicamentosas
Posaconazol	Oral	O mesmo que dos imidazólicos, porém com ligação mais específica com a enzima-alvo	Amplo espectro incluindo atividade *vs* zigomicetos
Ravuconazol	Oral, IV	O mesmo que dos imidazólicos, porém com ligação mais específica com a enzima-alvo	Em avaliação; amplo espectro, incluindo leveduras e fungos filamentosos
Albaconazol, isavuconazol		O mesmo que dos outros azólicos	Em avaliação
Equinocandinas			
Caspofungina, anidulafungina, micafungina	IV	Inibição da síntese de glucana da parede celular fúngica	A caspofungina é aprovada para o tratamento da candidose invasiva e da aspergilose; a anidulafungina é aprovada para o tratamento da candidose invasiva; a micafungina é aprovada para o tratamento da candidose invasiva; atividade fungicida contra *Candida*
Aminocandina		O mesmo que das outras equinocandinas	Em avaliação

A terminologia apropriada desta discussão é resumida no Quadro 70-1 e Figura 70-1, respectivamente.

Quadro 70-1 Terminologia

Espectro antifúngico

Variedade de atividade de um agente antifúngico contra fungos. Um agente antifúngico de **amplo espectro** inibe uma ampla variedade de fungos, incluindo os fungos leveduriformes e fungos filamentosos, enquanto que um agente de **espectro restrito** é ativo somente contra um número limitado de fungos.

Atividade fungistática

Nível da atividade antifúngica que **inibe** o crescimento de um organismo. Isto é determinado *in vitro* testando-se uma concentração padronizada de organismos contra uma série de diluições do antifúngico. A menor concentração da droga que inibe o crescimento do organismo é referida como **concentração inibitória mínima (CIM)**.

Atividade fungicida

Habilidade de um agente antifúngico para **matar** um organismo *in vitro* ou *in vivo*. A menor concentração da droga que mata 99,9% do teste populacional é denominada **concentração fungicida mínima (CFM)**.

Combinações antifúngicas

Combinações de agentes antifúngicos que podem ser utilizadas (1) para aumentar a eficácia no tratamento de uma infecção fúngica refratária; (2) para ampliar o espectro da terapia antifúngica empírica; (3) para prevenir a emergência de organismos resistentes; e (4) para alcançar um sinergismo.

Sinergismo antifúngico

Combinações de agentes antifúngicos que têm atividade antifúngica intensificada quando utilizados juntos comparada com a atividade de cada agente isoladamente.

Antagonismo antifúngico

Combinação de agentes antifúngicos em que a atividade de um dos agentes interfere com a atividade do outro agente.

Bombas de efluxo

Grupo de transportadores de drogas que servem para bombear ativamente agentes antifúngicos para fora das células fúngicas, diminuindo assim a quantidade de droga intracelular disponível para ligar em seu alvo.

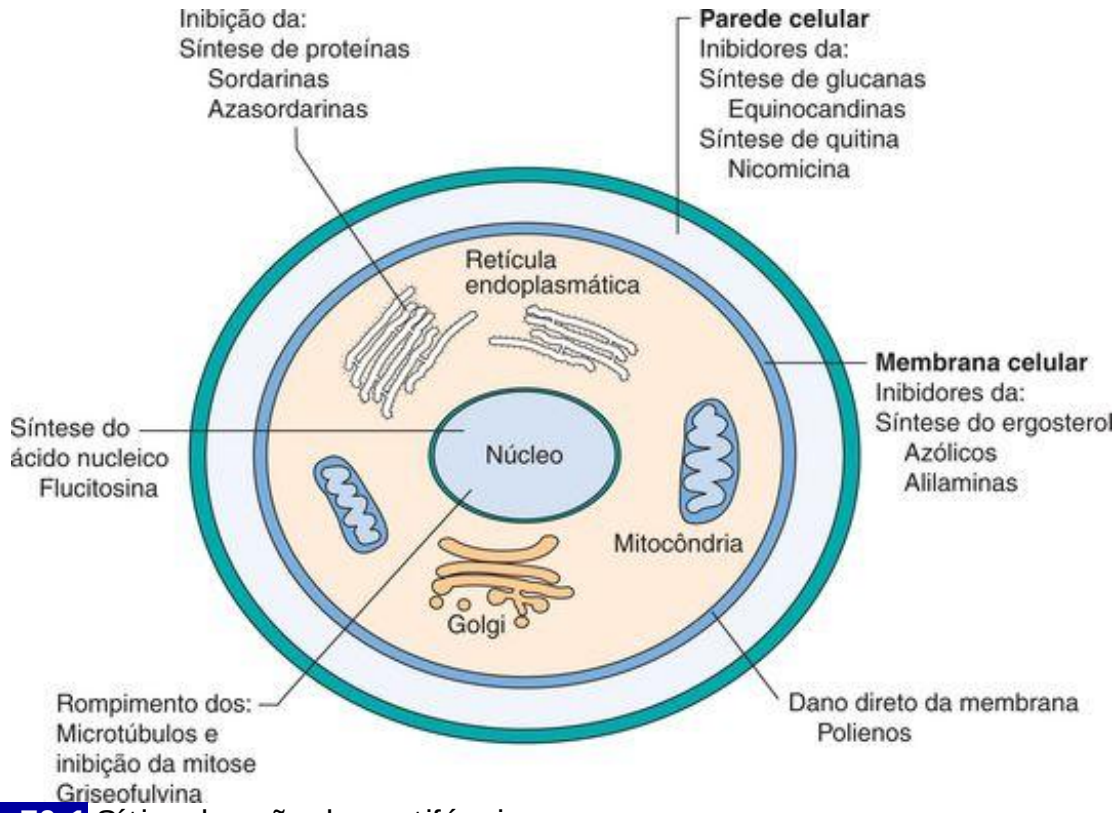


Figura 70-1 Sítios de ação dos antifúngicos

Agentes Antifúngicos Sistêmicos

Anfotericina B e suas formulações lipídicas são antifúngicos macrolídeos polienos utilizados no tratamento de infecções fúngicas graves e com risco de vida (Tab. 70-1). Outro polieno, a nistatina, é um agente tópico. Uma formulação lipídica da nistatina tem sido desenvolvida para uso sistêmico, porém permanece em investigação.

A estrutura básica dos polienos consiste de um anel lactâmico, uma cadeia lipofílica rígida contendo 3 a 7 duplas ligações, e uma porção hidrofílica flexível contendo vários grupos hidroxilas (Fig. 70-2). A anfotericina B contém 7 duplas ligações conjugadas e pode ser inativada pelo calor, luz e extremos de pH. É pouco solúvel em água e não é absorvida pelas vias de administração oral e intramuscular. A formulação convencional da anfotericina B para administração intravenosa é desoxicolato anfotericina B. As formulações lipídicas da anfotericina B foram desenvolvidas num esforço para evitar a natureza nefrotóxica da anfotericina B convencional e, em muitos casos, tem substituído a forma desoxicolato.

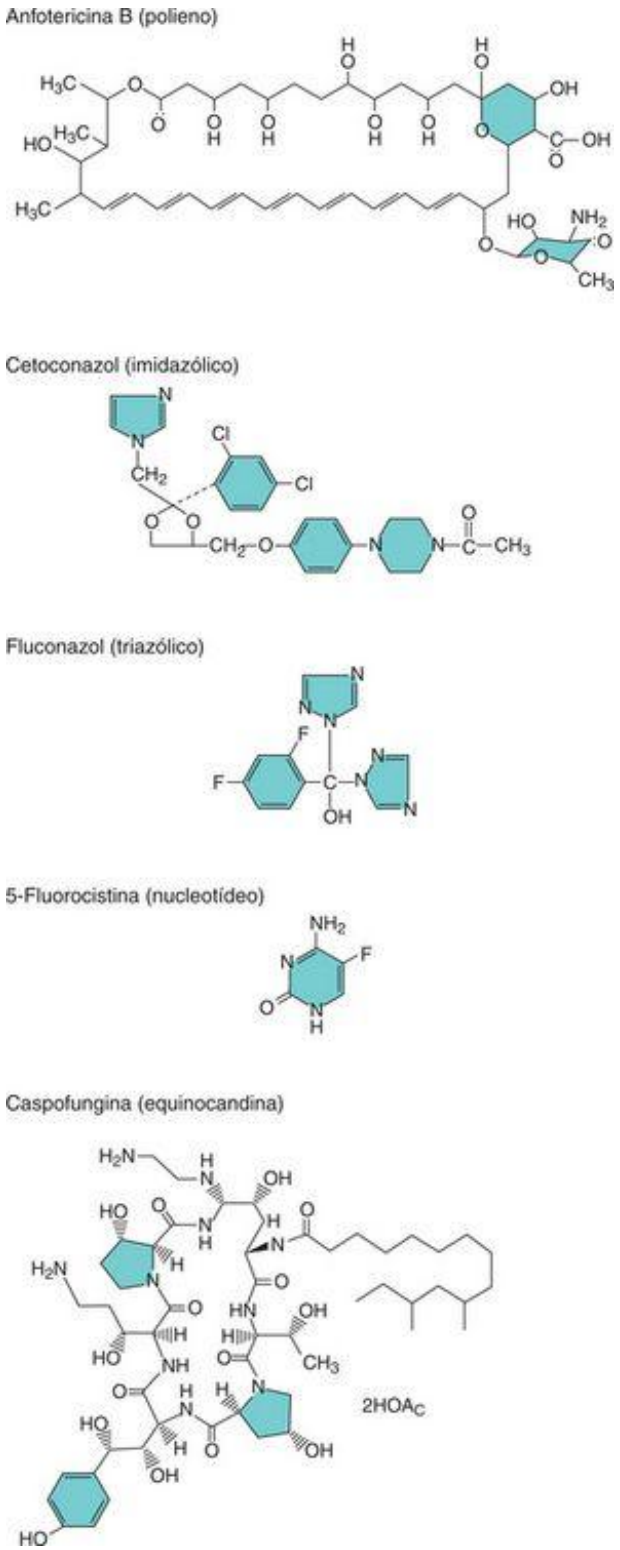


Figura 70-2 Estrutura química dos antifúngicos representando 5 classes diferentes.

A anfotericina B (e suas formulações lipídicas) exerce sua ação antifúngica por pelo menos dois diferentes mecanismos. O mecanismo primário envolve a ligação da anfotericina B ao ergosterol, o principal esterol da membrana do fungo. Esta ligação produz canais iônicos, que destroem a integridade osmótica da membrana celular fúngica e levam à perda de constituintes intracelulares e morte da célula (Fig. 70-3). A anfotericina B também se liga ao colesterol, o principal esterol da membrana das células dos mamíferos, porém menos avidamente que ao ergosterol. A ligação da anfotericina B ao colesterol é responsável pela maior parte da toxicidade observada quando a anfotericina B é administrada em humanos. Um mecanismo de ação adicional da anfotericina B envolve dano direto à membrana, causado pela geração de uma cascata de reações oxidativas desencadeada pela oxidação da própria anfotericina B. Esse processo pode ser o maior contribuinte para uma atividade fungicida rápida da anfotericina B via geração de radicais livres tóxicos.

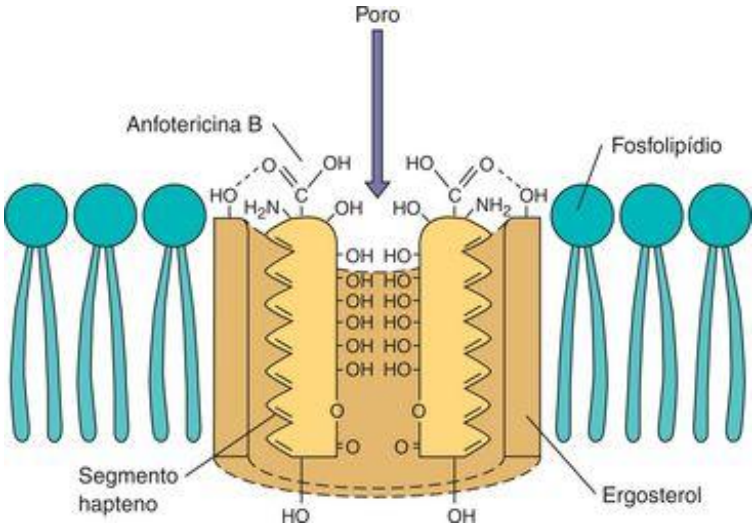


Figura 70-3 Mecanismos de ação da anfotericina B.

O espectro de atividade da anfotericina B é amplo e inclui muitas cepas de *Candida, Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., os zigomicetos e os patógenos dimórficos (*Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Paracoccidioides brasiliensis* e *Penicillium marneffei)* (Tab. 70-2). *Aspergillus terreus, Fusarium* spp., *Pseudallescheria boydii, Scedosporium prolificans, Trichosporon* spp. E certos fungos demáceos podem ser resistentes à anfotericina B. Igualmente, suscetibilidade reduzida à anfotericina B tem sido observada entre algumas cepas de *Candida guilliermondii, Candida glabrata, Candida krusei, Candida lusitaniae* e *Candida rugosa*. A resistência à anfotericina B tem sido associada com alterações nos esteróis da membrana, geralmente uma redução no ergosterol.

Tabela 70-2 Espectro e Atividade Relativa dos Agentes Antifúngicos Sistemicamente Ativos

Tabela 70-2. Espectro e Atividade Relativa dos Agentes Antifúngicos Sistemicamente Ativos

Organismo	AMB	FC	KTZ	ITZ	FCZ	VCZ	ECH
Candida spp.							
C. albicans	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++
C. glabrata	+++	++++	++	++	++	+++	++++
C. parapsilosis	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++
C. tropicalis	+++	++++	+++	+++	++++	++++	++++
C. krusei	++	+	+	++	0	++++	++++
Cryptococcus spp.	++++	+++	+	++	+++	++++	0
Aspergillus spp.	++++	0	+	++++	0	++++	+++
Fusarium spp.	+++	0	0	+	0	+++	0
Zigomicetos	++++	0	0	0	0	0	0
Dimórficos Endêmicos							
Blastomyces dermatitidis	++++	0	++	++++	+	++++	++
Coccidioides immitis	++++	0	++	++++	++++	++++	++
Histoplasma capsulatum	++++	0	++	++++	++	++++	++
Penicillium marneffei	++++	0	++	++++	++	++++	
Sporothrix schenkii	++++	0	++	++++	++		
Fungos filamentosos demáceos	++++	+	++	++++	+	++++	0

AMB, anfotericina B; FC, flucitosina; KTZ,cetoconazol; ITZ, itraconazol; FCZ, fluconazol; VCZ, voriconazol; ECH, equinocandinas (anidulafungina, caspofungina e micafungina).
0, inativo ou não recomendado; +, atividade ocasional; ++, atividade moderada com resistência observada; +++, atividade confiável com resistência ocasional; ++++, muito ativo, resistência rara ou não descrita.

Anfotericina B é amplamente distribuída em vários tecidos e órgãos, incluindo fígado, pâncreas, rim, medula óssea e pulmão. Embora concentrações insignificantes de anfotericina B possam ser encontradas no líquido cerebroespinal, ela é geralmente efetiva no tratamento de infecções fúngicas do sistema nervoso central. A anfotericina B é considerada fungicida contra a maioria dos fungos.

As indicações clínicas principais para anfotericina B incluem candidiase invasiva, criptococose, aspergilose, zigomicose, blatomicose, coccidioidomicose, histoplasmose, paracoccidioidomicose, peniciliose (*P. marneffei*) e esporotricose. As formulações lipídicas da anfotericina B são mais eficazes e com toxicidade diminuída e são principalmente recomendadas no tratamento de pacientes com infecções fúngicas documentadas, que não responderam à anfotericina B convencional, ou com função renal deficiente.

Os principais efeitos adversos da anfotericina B incluem nefrotoxicidade, como efeitos colaterais relacionados à infusão, como febre, calafrios, mialgias, hipotensão e broncoespasmo. A maior vantagem das formulações lipídicas da anfotericina B são os efeitos colaterais significativamente reduzidos, especialmente a nefrotoxicidade. As formulações lipídicas não são superiores à anfotericina B convencional em termos de eficácia e seu custo é muito mais elevado.

Azólicos

A classe azólicos dos antifúngicos pode ser dividida em termos de estrutura em imidazólicos (dois nitrogênios no anel azólico) e triazólicos (três nitrogênio no anel azólico) (Fig. 70-2). Entre os imidazólicos, somente o cetoconazol tem atividade sistêmica. Todos os triazólicos têm atividade sistêmica e incluem o fluconazol, itraconazol, voriconazol e posoconazol (Tab. 70-1). O ravuconazol, albaconazol e isavuconazol são também triazólicos, e estão atualmente sendo avaliados (Tab. 70-1).

Tanto os imidazólicos como os triazólicos agem por inibição da enzima 14-α-demetilase do lanosterol dependente do citocromo fúngico P-450 (Fig. 70-4). Esta enzima está envolvida na conversão do lanosterol em ergosterol, e sua inibição interrompe a síntese da membrana da célula fúngica. Dependendo do organismo e do azólico específico, a inibição da síntese do ergosterol resulta na inibição do crescimento da célula fúngica (fungistático) ou na morte celular. Em geral, os azólicos apresentam atividade fungistática contra fungos leveduriformes como *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp.; entretanto, itraconazol, voriconazol, posaconazol e ravuconazol parecem ser fungicidas contra *Aspergillus* spp.

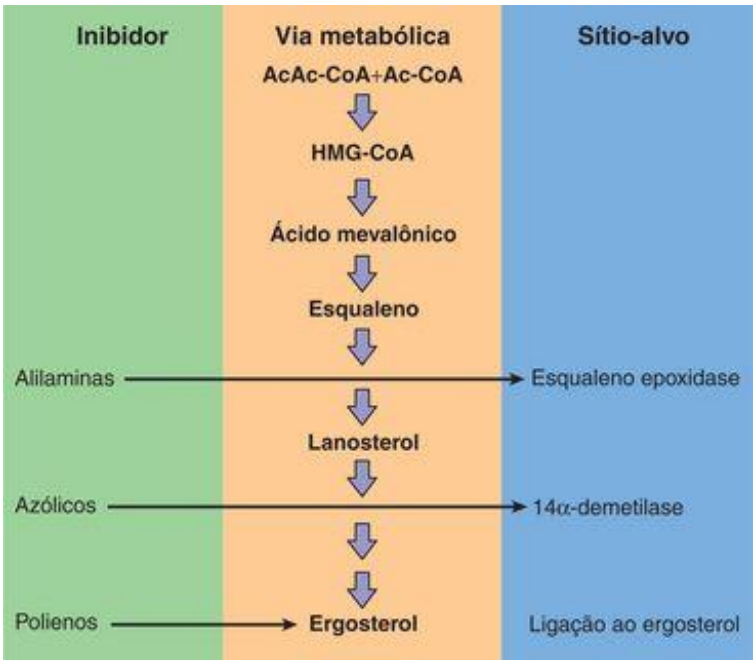


Figura 70-4 Via metabólica da síntese do ergosterol, mostrando os sítios de inibição pelos agentes fúngicos alilaminas, azólicos e polienos.

O **cetoconazol** é um membro lipofílico da classe imidazol dos agentes antifúngicos, absorvido oralmente. Seu espectro de atividade inclui os patógenos dimórficos, *Candida* spp., *Cryptococcus spp*. e *Malassezia* spp., embora seja geralmente menos ativo que os agentes antifúngicos triazólicos (Tab. 70-2). Ele é variavelmente ativo contra *Pseudallescheria boydii* e tem pouca ou nenhuma atividade clínica contra fungos zigomicetos, *Aspergillus* spp., *Scedosporium prolificans* ou *Fusarium* spp.

A absorção do cetoconazol por administração oral é irregular e necessita de um pH gástrico ácido. Sua característica lipofílica assegura a penetração e concentração nos tecidos adiposos e exudatos purulentos; entretanto, como é altamente (>99%) ligado à proteína, ele penetra pouco no sistema nervoso central.

O cetoconazol pode causar efeitos adversos sérios, incluindo toxicidade gástrica e hepática, náusea, vômitos e erupções. Em doses altas, significativos efeitos colaterais endócrinos, secundários à supressão dos níveis de testosterona e cortisol, têm sido observados.

Devido à disponibilidade de agentes mais potentes e menos tóxicos, as indicações

clínicas para uso do cetoconazol são bastante limitadas. É o melhor agente de segunda linha para o tratamento de formas não meníngeas e sem risco à vida de histoplasmose, blastomicose, coccidioidomicose e paracoccidioidomicose em indivíduos imunocompetentes. Similarmente, ele pode ser utilizado no tratamento de candidose mucocutânea e esporotricose linfocutânea.

O **fluconazol** é um triazólico de primeira geração com excelente biodisponibilidade oral e baixa toxicidade. O fluconazol é utilizado extensivamente e é ativo contra a maioria de espécies de *Candida, Cryptococcus* spp., dermatófitos, *Trichosporon* spp., *Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis* e *Paracoccidioides brasiliensis* (Tab. 70-2). Entre *Candida* spp., suscetibilidade diminuída é observada com *C. krusei* e *C. glabrata*. Ainda que *Candida krusei* deva ser considerada intrinsecamente resistente ao fluconazol, infecções por *Candida glabrata* podem ser tratadas com sucesso com altas doses (p. ex., 800mg/dia) de fluconazol. Resistência pode se desenvolver quando o fluconazol for utilizado no tratamento da histoplasmose, e tiver somente atividade limitada contra *Blastomyces dermatitidis*. O fluconazol não é ativo contra os fungos oportunistas, incluindo *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e os zigomicetos.

O fluconazol é um agente solúvel em água e pode ser administrado por via oral ou intravenosa. A ligação proteica é fraca, e a droga é distribuída a todos os órgãos e tecidos, inclusive o sistema nervoso central. Efeitos colaterais severos como dermatite esfoliativa ou insuficiência hepática são incomuns.

Devido a sua baixa toxicidade, facilidade de administração, e atividade fungistática contra a maioria dos fungos leveduriformes, o fluconazol tem um papel importante no tratamento de candidose, criptococose e coccidioidomicose. É utilizado como terapia primária na candidemia e na candidose mucosa e como profilaxia em populações selecionadas de alto risco. É utilizado em terapia de manutenção de meningite criptocócica em pacientes com AIDS, e é o agente de escolha no tratamento da meningite causada por *Coccidioides immitis*. O fluconazol é um agente de segunda linha no tratamento de histoplasmose, blatomicose e esporotricose.

O **itraconazol** é um triazólico lipofílico que pode ser administrado oralmente em cápsula ou em solução e também intravenosa. O itraconazol tem um amplo espectro de atividade antifúngica, incluindo *Candida* spp., *Cryptococcus spp., Aspergillus* spp., dermatófitos, fungod demáceos, *Pseudallescheria boydii, Sporothrix schenckii* e patógenos dimórficos (Tab. 70-2). O itraconazol tem atividade contra algumas, mas não todas, cepas de *Candida glabrata* e *Candida krusei* resistentes ao fluconazol. Cepas de *Aspergillus fumigatus* resistentes ao itraconazol têm sido relatadas, contudo, elas são raras. Os zigomicetos, *Fusarium* e *Scedosporium prolificans* são resistentes ao itraconazol.

Como o cetoconazol, a absorção oral do itraconazol é irregular e necessita de um pH gástrico ácido. A absorção é aumentada com solução oral administrada em jejum. O itraconazol tem ligação altamente proteica e exibe atividade fungistática contra fungos leveduriformes e fungicida contra *Aspergillus* spp.

A eficácia do itraconazol no tratamento de candidose hematogênica não tem sido avaliada adequadamente, embora seja útil no tratamento das formas cutâneas e mucosas das candidoses. O itraconazol é utilizado, muitas vezes, no tratamento de infecções dermatofíticas sendo o tratamento de escolha para a esporotricose linfocutânea e sem risco à vida, para as formas não meníngeas da histoplasmose, blastomicose, e paracoccidioidomicose. Ele pode ser útil na coccidioidomicose não meníngea, no tratamento de manutenção da meningite criptocócica e em algumas formas de feohifomicose (Tab. 70-2). O itraconazol é considerado um agente de segunda linha no tratamento da aspergilose invasiva; entretanto, não é útil no tratamento de infecções causadas por *Fusarium* spp., zigomicetos ou *Scedosporium prolificans*.

Em contraste com o fluconazol, interações com outros medicamentos são comuns com o itraconazol. A hepatoxicidade grave é rara, e outros efeitos colaterais como intolerância gastrointestinal, hipocalemia, edema, erupções e transaminases elevadas ocorrem ocasionalmente.

O **voriconazol** é um novo triazólico de amplo espectro com atividade contra *Candida* spp., *Cryptococcus spp., Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., fungos demáceos e fungos dimórficos (Tab. 70-2). Entre as espécies de *Candida*, voriconazol é ativo contra

Candida krusei e algumas, mas não todas as cepas de *C. albicans* e *C. glabrata* com suscetibilidade reduzida ao fluconazol. Embora o voriconazol não tenha nenhuma atividade contra os zigomicetos, ele é ativo contra fungos resistentes à anfotericina B, incluindo *Aspergillus terreus* e *Pseudallescheria boydii*.

O voriconazol está disponível em formulações oral e intravenosa. Tem excelente penetração no sistema nervoso central, como em outros tecidos. O voriconazol tem atividade fungistática contra fungos leveduriformes e fungicida contra *Aspergillus* spp.

O voriconazol tem indicação primária no tratamento da aspergilose invasiva. Ele é também aprovado no tratamento de infecções causadas por *Pseudallescheria boydii* e *Fusarium* spp. em pacientes intolerantes ou com infecções refratárias a outros agentes antifúngicos. O voriconazol tem eficácia comprovada no tratamento de várias formas de candidose e tem sido utilizado com sucesso no tratamento de uma variedade de infecções causadas por patógenos emergentes ou refratários, incluindo abscessos cerebrais causados por *Aspergillus* spp. e *Pseudallescheria boydii*.

O voriconazol é geralmente bem tolerado, embora aproximadamente um terço dos pacientes tenha perturbações visuais transitórias. Outros efeitos adversos incluem anormalidades enzimáticas hepáticas, reações na pele e alucinações ou confusão. As interações com outros medicamentos que são metabolizados pelo sistema enzimático hepático P-450 são comuns.

Equinocandinas

As equinocandinas são uma nova classe, altamente seletiva, de lipopeptídeos semissintéticos (Fig. 70-2) que inibem a síntese de β-1,3-glucanas, constituintes importantes da parede celular fúngica (Fig. 70-5; Tab. 70-1 e Fig. 70-1). Uma vez que as células mamíferas não contêm β-1,3-glucanas, esta classe de agentes é seletiva em sua toxicidade para os fungos em que as glucanas desempenham papel importante na manutenção da integridade osmótica da célula fúngica. As glucanas também são importantes na divisão e no crescimento celular. A inibição do complexo enzimático da síntese de glucana resulta em atividade fungicida contra *Candida* spp. e atividade fungistática contra *Aspergillus* spp. Atualmente, existem três equinocandinas (anidulafungina, caspofungina e micafungina) aprovadas para utilização em tratamento ou prevenção de várias micoses (Tab. 70-1)

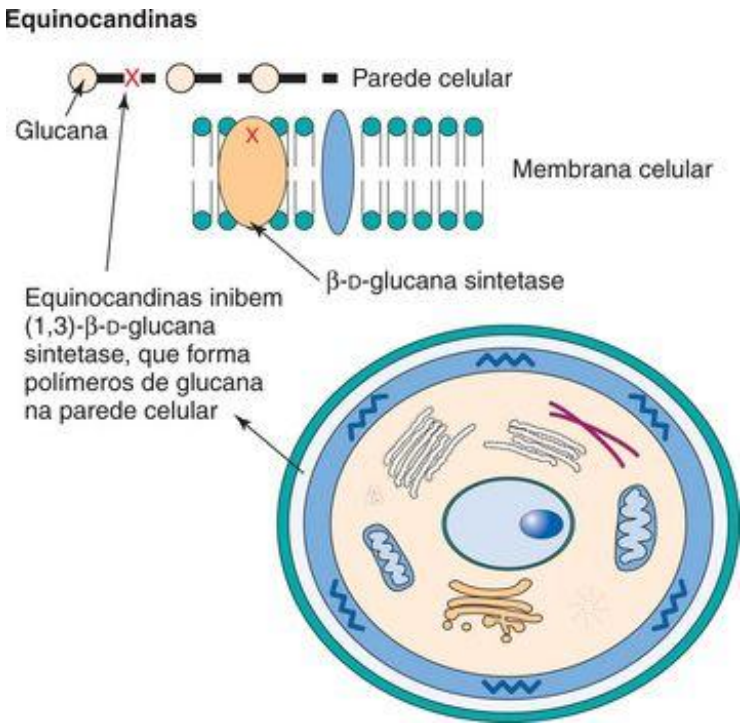


Figura 70-5 Mecanismo de ação das equinocandinas.

O espectro de atividade das equinocandinas é limitado àqueles fungos nos quais β-1,3-glucanas constituem o componente glucano dominante da parede celular. Como tal, são ativas contra *Candida* e *Aspergillus* spp. e têm atividade variável contra os fungos demáceos e os fungos dimórficos (Tab. 70-2). Elas são inativas contra *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp., *Fusarium* spp. e outros bolores hialinos, e fungos da classe dos zigomicetos. As equinocandinas têm excelente atividade contra cepas de *Candida* spp., resistentes ao fluconazol. A resistência primária a esta classe de agentes parece ser rara entre os isolados clínicos de *Candida* spp. *e Aspergillus* spp.

As equinocandinas devem ser administradas intravenosamente e têm ligações altamente proteicas (> 95%). São distribuídas a todos os órgãos principais, embora as concentrações no líquido cafalorraquidiano sejam baixas. Todas as equinocandinas são muito bem toleradas e têm poucas interações com outras drogas.

Entre as três equinocandinas, todas têm espectro e potência similares contra espécies de *Candida* e *Aspergillus*. A caspofungina é aprovada para o tratamento da candidiase invasiva, incluindo candidemia, e para o tratamento de pacientes com aspergilose invasiva refratária ou intolerante às outras terapias antifúngicas aprovadas. Anidulafungina é aprovada para o tratamento da candidose esofágica e candidemia, e a micafungina é aprovada para o tratamento da candidose esofágica, candidemia, e para a prevenção de candidose invasiva.

Antimetabólitos

A **flucitosina** (5-fluorocitosina, 5-FC) é o único agente antifúngico disponível que atua como um antimetabólito. É um análogo da pirimidina fluorada, que exerce atividade antifúngica por interferência com a síntese de DNA, RNA, e proteínas na célula fúngica (Fig. 70-1). A flucitosina penetra na célula fúngica via citosina permease e é desaminada em 5-fluoracil (5-FU) no citoplasma. O 5-FU é convertido em ácido 5-fluorídico, que então compete com o uracil na síntese do RNA, resultando em RNA defeituoso e inibição do DNA e síntese proteica.

O espectro antifúngico da flucitosina é limitado à *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces cerevisae*, e fungos filamentosos demáceos (Tab. 70-2). Embora a resistência primária à flucitosina seja rara entre isolados de *Candida* spp., a resistência pode se desenvolver entre *Candida* e *Cryptococcus* spp. durante a monoterapia com flucitosina. A flucitosina não é ativa contra *Aspergillus* spp., os zigomicetos, ou outros fungos filamentosos hialinos.

A flucitosina é solúvel em água e tem excelente biodisponibilidade quando administrada oralmente. Altas concentrações de flucitosina podem ser obtidas no soro, líquido cefalorraquidiano, e outros líquidos corporais. As principais toxicidades são observadas quando as concentrações séricas de flucitosina excedem 100µg/ml e incluem supressão da medula óssea, hepatoxicidade e intolerância gastrointestinal. A monitoração das concentrações séricas de flucitosina é importante na prevenção da toxicidade.

A flucitosina não é utilizada como monoterapia, devido à propensão à resistência secundária. As combinações de flucitosina com anfotericina B ou fluconazol mostraram-se eficazes no tratamento da criptococose e candidose.

Alilaminas

A classe alilamina dos agentes antifúngicos inclui a terbinafina, que tem atividade sistêmica, e a naftifina, que é um agente tópico (Tab. 70-1). Estes agentes inibem a enzima esqualeno epoxidase, o que resulta numa diminuição do ergosterol e num aumento do esqualeno dentro da membrana da célula fúngica (Figs. 70-1 e 70-4).

A **Terbinafina** é um agente antifúngico lipofílico com um amplo espectro de atividade que inclui dermatófitos, *Candida* spp., *Malassezia* spp., *Cryptococcus spp., Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp., *Sporothrix schenckii, e Penicillium marneffei* (Tab. 70-2). Está disponível em formulações oral e tópica e alcança altas concentrações em tecidos adiposos, pele, cabelos, e unhas.

A terbinafina é eficaz no tratamento de virtualmente todas as formas de dermatofitoses, incluindo onicomicoses e exibe poucos efeitos colaterais. Ela tem mostrado efetividade clínica no tratamento da esporotricose, aspergilose e cromoblastomicose, e tem-se mostrado promissora no tratamento de infecções causadas por *Candida* spp. fluconazol-resistentes quando utilizada em combinação com fluconazol.

Griseofulvina

A griseofulvina é um agente oral utilizado no tratamento de infecções causadas por dermatófitos. Ela inibe o crescimento fúngico pela interação com os microtúbulos dentro da célula fúngica, resultando na inibição da mitose (Tab. 70-1 e Fig. 70-1).

Griseofulvina é considerada um agente de segunda linha no tratamento das dermatofitoses. Agentes mais novos, como itraconazol e terbinafina, são de ação mais rápida e com maior eficácia. A griseofulvina também está associada a um número de efeitos colaterais, incluindo náusea, diarreia, dor de cabeça, hepatoxicidade, erupções e efeitos colaterais neurológicos.

Agentes Antifúngicos Tópicos

Uma ampla variedade de preparados antifúngicos tópicos está disponível para o tratamento de infecções fúngicas cutâneas superficiais e de mucosas (Tab. 70-1). Preparações tópicas são disponíveis para a maioria das classes de agentes fúngicos, como polienos (anfotericina B, nistatina, pimaricina), alilaminas (naftifina e terbinafina) e numerosos imidazólicos e agentes variados (Tab. 70-1). Cremes, loções, pomadas e aerossóis estão disponíveis para utilização no tratamento de infecções cutâneas e onicomicoses, enquanto as infecções de mucosa são mais bem tratadas com suspensões, comprimidos, pastilhas ou supositórios.

A escolha de terapia tópica ou sistêmica para o tratamento das infecções fúngicas cutâneas ou mucosas geralmente depende da condição do hospedeiro e o tipo e extensão da infecção. Enquanto a maioria das infecções dermatofíticas cutâneas e as candidose oral e vaginal responderão à terapia tópica, a natureza refratária das infecções como onicomicoses ou *tinea capitis* (tinha do couro cabeludo) requer, geralmente, terapia sistêmica de longo prazo.

Agentes Antifúngicos em Avaliação

Atualmente, há vários agentes antifúngicos em diversos estágios de avaliação clínica. Estes agentes em “investigação” incluem alguns com modos de ação estabelecidos, como algumas novas classes de agentes antifúngicos, como uma formulação lipossômica de nistatina, novos agentes triazólicos (albaconazol, isavuconazol, e ravuconazol), equinocandinas (aminocandina), um inibidor da síntese de quitina (nicomicina Z) e derivados da sordarina e azasordarina (Tab. 70-1). Os mecanismos de ação e espectro de atividade da nistatina lipossômica, dos novos triazólicos, e das equinocandinas são essencialmente os mesmos dos membros disponíveis de cada classe (Tabs. 70-1 e 70-2). Para um grau variado, os novos agentes em cada classe oferecem potencial às propriedades farmacocinética e farmacodinâmica mais favoráveis, toxicidades diminuídas ou interações droga-droga, ou possível atividade aumentada contra certos patógenos refratários aos agentes atualmente disponíveis. Ao contrário, agentes completamente novos, como as sordarinas e azasordarinas interagem com um novo alvo, o fator de alongamento 3, que é essencial para a síntese proteica fúngica. A inibição da síntese de quitina na parede celular fúngica pela nicomicina Z fornece uma nova abordagem que pode ser útil na adaptação de outros inibidores da síntese da parede celular ou da membrana celular. O desenvolvimento de agentes com novos mecanismos de ação é necessário e promissor para os avanços na área de terapia antifúngica.

Combinação de Agentes Antifúngicos no Tratamento das Micoses

A alta mortalidade de infecções fúngicas oportunistas tem apressado o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, incluindo alguns com novos mecanismos de ação (Tab. 70-1). Em adição à utilização de novos agentes antifúngicos como o voriconazol e caspofungina em monoterapia, a utilização de combinações à base de azólicos, equinocandinas e polienos no tratamento de micoses mais difíceis de serem tratadas, como infecções por fungos filamentosos oportunistas, é foco de intenso interesse e discussão. O fundamento por trás da terapia combinada é que pela utilização das combinações de agentes antifúngicos, obtém-se um melhor resultado clínico do que com a monoterapia. A iniciativa em direção à utilização da terapia antifúngica combinada é especialmente forte para aquelas infecções como a aspergilose invasiva, em que a mortalidade associada é inaceitavelmente alta.

Considerando-se a terapia combinada, busca-se alcançar o **sinergismo** e evitar o **antagonismo**. O **sinergismo** é alcançado quando o resultado obtido com a combinação de agentes é significativamente melhor que o obtido com qualquer droga. Contrariamente, o **antagonismo** é quando a combinação é menos ativa ou eficiente que qualquer droga. No caso da terapia antifúngica, há vários mecanismos que podem ser considerados no desenvolvimento de uma estratégia de tratamento combinado efetivo. (1) Inibição dos diferentes estágios da mesma via bioquímica. Esta é uma abordagem clássica para a obtenção de sinergismo com agentes infecciosos. Um exemplo desta abordagem à terapia antifúngica seria a combinação de terbinafina com um azólico, em que ambos agentes atacam a via do ergosterol em pontos diferentes (Fig. 70-4), resultando na inibição da síntese do ergosterol e rompimento da membrana celular fúngica. (2) Penetração aumentada de um agente dentro da célula em virtude da ação permeabilizante de outro agente sobre a parede celular ou membrana celular fúngica. A combinação da anfotericina B (rompimento da membrana celular) e flucitosina (inibição da síntese do ácido nucleico intracelularmente) é um exemplo clássico desta interação. (3) Inibição do transporte de um agente para fora da célula por outro agente. Muitos fungos utilizam as bombas de efluxo dependentes de energia para bombear ativamente agentes antifúngicos para fora da célula, evitando os efeitos tóxicos do antifúngico. A inibição dessas bombas por agentes, como a reserpina, tem mostrado um aumento da atividade dos agentes antifúngicos azólicos contra *Candida* spp. (4) Inibição simultânea de diferentes alvos da célula fúngica. A inibição da síntese da parede celular por um agente com a caspofungina, associada com a perda da função da membrana celular pela anfotericina B ou azólicos, é um exemplo desse tipo de combinação.

Embora o valor potencial da terapia antifúngica combinada seja atrativo, existem várias possíveis desvantagens para esta estratégia que devem ser considerados. O antagonismo entre os agentes antifúngicos quando utilizados em combinação também é uma possibilidade distinta e pode ocorrer por vários mecanismos diferentes. (1) A ação de um agente resulta numa diminuição do alvo de outro agente. A ação dos agentes antifúngicos azólicos esgota a membrana celular de ergosterol, que é o alvo primário da anfotericina B. (2) A ação de um agente antifúngico resulta na modificação do alvo de outro agente. A inibição da síntese do ergosterol por agentes antifúngicos azólicos resulta na acumulação de esteróis metilados, que a anfotericina B se liga menos. (3) Bloqueio do sítio-alvo de um agente por outro. Os agentes lipofílicos, como itraconazol, podem se adsorver à superfície da célula fúngica e inibirem a ligação da anfotericina B aos esteróis da membrana.

Apesar destes possíveis cenários positivos e negativos, os dados suportam a realização do sinergismo quando várias combinações usadas clinicamente são limitadas. Provavelmente, o antagonismo pode ser demonstrado no laboratório, mas antagonismo significante não tem sido observado clinicamente com combinações de antifúngicos. Considerando-se todos os dados laboratoriais e clínicos na terapia antifúngica combinada, se chega a um número bastante limitado de vezes em que a terapia combinada se mostrou benéfica no tratamento

de micoses invasivas (Tab. 70-3).

Tabela 70-3 Resumo das Combinações de Antifúngicos Potencialmente Úteis para o Tratamento de Micoses Oportunistas

Infecção	Combinação antifúngica	Comentários
Candidose	AmB + FCZ	Boa atividade em pacientes com candidemia
	AmB + FC	Boa atividade em pacientes com peritonite
Criptococose	AmB + FC	Boa atividade em pacientes com meningite criptocócica
	AmB + FCZ	Boa atividade em pacientes com meningite criptocócica
	FC + FCZ	Boa atividade em pacientes com meningite criptocócica
Aspergilose	AmB + FC	Benefício *in vivo* (modelo animal); poucos dados em humanos
	AmB + azólicos	Sem benefício em animais
	AmB + equinocandinas	Benefício *in vivo* (modelo animal); poucos dados em humanos
	AmB + equinocandinas	Benefício *in vivo* (modelo animal); poucos dados em humanos

AmB, anfotericina B; FCZ, fluconazol; FC, flucitosina.

Os dados mais persuasivos ocorrem no tratamento da criptococose, em que a combinação da anfotericina B e flucitosina se mostrou benefício no tratamento da meningite criptocócica. Os dados são menos persuasivos na combinação da flucitosina com fluconazol ou anfotericina B com triazólicos; entretanto, estas combinações parecem também ser benéficas no tratamento da criptococose.

A candidose é em geral tratada adequadamente com um único agente antifúngico como anfotericina B, caspofungina, ou fluconazol; contudo, a terapia combinada pode ser utilizada em situações específicas. A combinação de anfotericina B e fluconazol mostrou benefícios no tratamento de candidemia. Da mesma forma, a combinação de terbinafina com um azólico é promissora no tratamento da candidose orofaríngea refratária. A flucitosina em combinação com qualquer anfotericina B ou triazólicos tem efeitos positivos na sobrevivência e comprometimento tecidual da infecção em modelos animais de candidose. Atualmente, a terapia combinada para candidose deve ser reservada a locais individuais específicos, como meningites, endocardites, infecção hepatoesplênica, e candidose recorrentes ou refratárias à terapia com um único agente.

Embora o local clínico da aspergilose invasiva seja onde a terapia combinada é mais atrativa, há falta de dados para sustentar sua utilização. Atualmente, não há nenhuma experiência clínica publicada que avalie a utilização da terapia combinada no tratamento da aspergilose invasiva. Estudos *in vitro* e em animais têm produzido resultados variáveis. Combinações de equinocandinas com azólicos ou anfotericina B têm produzido resultados positivos. Da mesma maneira anfotericina B mais rifampicina parecem sinérgicas. Os estudos com flucitosina ou rifampicina mais anfotericina B ou azólicos têm sido inconsistentes. Apesar da necessidade de melhores opções de tratamento para a aspergilose invasiva, há poucas evidências de que a terapia combinada melhore o resultado clínico. A terapia combinada deve ser utilizada com cautela até que mais dados clínicos estejam disponíveis.

Mecanismos de Resistência aos Agentes Antifúngicos

Dado o papel proeminente de *Candida* spp. como agente etiológico de micoses invasivas, não é surpresa que a maioria do nosso entendimento dos mecanismos de resistência aos agentes antifúngicos venha de estudos com *Candida albicans* outras espécies de *Candida*. É muito menos conhecido dos mecanismos de resistência em *Aspergillus* spp. e *Cryptococcus spp*., e quase nenhuma informação sobre os mecanismos de resistência antifúngica está disponível para outros patógenos fúngicos oportunistas

Ao contrário dos mecanismos de resistência aos agentes antibacterianos, não há evidência de que os fungos são capazes de destruir ou modificar os agentes antifúngicos como meio de adquirir resistência. Da mesma forma, os genes de resistência antifúngica não são transmissíveis de célula a célula da maneira que ocorre com muitos genes de resistência bacteriana. É aparente, contudo, que bombas de efluxo multidrogas, alterações do alvo, e acesso reduzido aos alvos medicamentosos são mecanismos importantes de resistência a agentes antifúngicos, da mesma forma que eles são à resistência antibacteriana (Tab. 70-4). Em contraste à rápida emergência e disseminação da resistência multidroga em altos níveis que ocorrem em bactérias, a resistência antifúngica se desenvolve, em geral, lentamente e envolve a emergência de espécies intrinsecamente resistentes ou uma alteração escalonada, gradual das estruturas ou funções celulares que resultam na resistência a um agente ao qual tenha sido exposto previamente.

Tabela 70-4 Mecanismos Envolvidos no Desenvolvimento de Resistência aos Agentes Antifúngicos em Fungos Patogênicos

Tabela 70-4. Mecanismos Envolvidos no Desenvolvimento de Resistência aos Agentes Antifúngicos em Fungos Patogênicos

Fungos	Anfotericina B	Flucitosina	Itraconazol	Fluconazol	Equinocandinas
Aspergillus fumigatus			Enzima-alvo alterada, 14 α-demetilase Diminuição de acúmulo de azólico		
Candida albicans	Diminuição no ergosterol Substituição dos esteróis que se ligam aos polienos Mascaramento do ergosterol	Perda de atividade de permease Perda da atividade da citosina deaminase Perda da atividade da uracil fosforibosil-transferase		Superexpressão ou mutação da 14 α-demetilase Superexpressão das bombas de efluxo, genes *CDR* e *MDR*	Mutação no gene *FKS1*
Candida glabrata	Alteração ou diminuição no conteúdo de ergosterol	Perda da atividade de permease		Superexpressão das bombas de efluxo (genes *CgCDR*)	Mutação no gene *FKS1*
Candida krusei	Alteração ou diminuição no conteúdo de ergosterol			Efluxo ativo Afinidade reduzida à enzima-alvo, 14 α-demetilase	Mutação no gene *FKS1*
Candida lusitaniae	Alteração ou diminuição no conteúdo de ergosterol Produção de esteróis modificados				
Cryptococcus spp.	Defeitos na síntese de esterol Diminuição de ergosterol Produção de esteróis modificados			Alterações na enzima-alvo Superexpressão da bomba de efluxo MDR	

Polienos

A resistência aos polienos e à anfotericina B em particular permanece incomum apesar da utilização extensiva por mais de 30 anos. A suscetibilidade diminuída à anfotericina B tem sido reportada em isolados de *C. lusitaniae, C. glabrata, C. krusei* e *Candida guilliermondii*. Embora a resistência primária possa ser observada, a maioria da resistência à anfotericina B entre *Candida* spp. é secundária à exposição da anfotericina B durante a terapia. *Aspergillus* spp. são geralmente suscetíveis à anfotericina B; entretanto, *Aspergillus terreus* é o único que parece ser resistente tanto *in vitro* como *in vivo*. Embora a resistência secundária à anfotericina B tenha sido reportada em *Cryptococcus* spp., ela é bastante rara.

O mecanismo de resistência à anfotericina B parece ser devido a alterações qualitativas e quantitativas na célula fúngica. Mutantes anfotericina B-resistentes de *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. mostraram ter um conteúdo reduzido de ergosterol, substituição de esteróis de ligação polieno (ergosterol) por aqueles que ligam menos (fecosterol), ou mascaramento do ergosterol nas membranas celulares, de maneira que a ligação com os polienos é impedida por fatores estéricos e termodinâmicos. O mecanismo molecular da resistência à anfotericina B não foi determinado; no entanto, a análise do esterol de cepas resistentes de *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. sugere que eles são defeituosos em *ERG2* e *ERG3*, genes codificadores das enzimas C-8 esterol isomerase e C-5 esterol desaturase, respectivamente.

Azólicos

A utilização sistemática dos azólicos, especialmente o fluconazol, no tratamento e prevenção de infecções fúngicas aumentou os relatos de resistência emergente a esta classe de agentes antifúngicos. Felizmente, a resistência primária ao fluconazol é rara entre as muitas espécies de *Candida* que causam infecção na corrente sanguínea. Entre as cinco espécies mais comuns de *Candida* isoladas do sangue de pacientes infectados (*C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, C. tropicalis*, e *C. krusei)*, somente *C. krusei* é considerada intrinsecamente resistente ao fluconazol. Entre as espécies remanescentes, aproximadamente 10% de *C. glabrata* exibem resistência primária ao fluconazol, e menos que 2% de *C. albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis* são resistentes a este agente. Os novos triazólicos (voriconazol, posaconazol, e ravuconazol) são mais potentes do que o fluconazol contra *Candida* spp., incluindo atividade contra *C. krusei* e algumas cepas fluconazol-resistentes de outras *Candida* spp.; contudo, há uma forte correlação entre a atividade do fluconazol e aquela dos outros triazólicos, sugerindo algum grau de resistência-cruzada dentro da classe.

A resistência primária ao fluconazol também é rara entre isolados clínicos de *Cryptococcus* spp. A resistência secundária tem sido descrita em isolados obtidos de indivíduos com AIDS e com recidiva de meningite criptocócica.

Somente um pequeno número de isolados de *Aspergillus* spp. tem demonstrado resistência ao itraconazol. Em contraste com *Candida*, a resistência cruzada entre itraconazol e os novos triazólicos não é completa entre isolados de *Aspergillus* spp.; resistência cruzada entre itraconazol e posaconazol, mas não com o voriconazol, tem sido reportada.

A resistência aos azólicos em *Candida* spp. pode ser causada pelos seguintes mecanismos: uma modificação na quantidade ou qualidade das enzimas-alvo, acesso reduzido da droga ao alvo, ou alguma combinação destes mecanismos. Assim, os pontos de mutação no gene (*ERG*11) codificando a enzima-alvo, lanosterol 14α-demetilase, levam a um alvo alterado com afinidade diminuída aos azólicos. A superexpressão de *ERG*11 resulta na superprodução da enzima-alvo criando a necessidade por maiores concentrações da droga dentro da célula para inativar todas as moléculas da enzima-alvo. A indução da expressão da codificação dos genes para as bombas de efluxo resulta num efluxo ativo dos agentes antifúngicos azólicos para fora da célula. A indução da expressão dos genes que codificam a **principal bomba de efluxo do tipo facilitador (MDR)** leva à resistência ao fluconazol, e a indução da expressão dos genes que codificam os **transportadores ATP-binding cassete (CDR)** leva à resistência a múltiplos azólicos. Estes mecanismos podem atuar individual, sequencial ou simultaneamente, resultando em cepas de *Candida* que exibem progressivamente níveis maiores de resistência aos azólicos.

Os mecanismos de resistência aos azólicos em *Aspergillus* spp. são fracamente caracterizados, dada a exiguidade de cepas com resistência documentada. Parece que o efluxo aumentado de drogas e alterações na enzima-alvo 14α-demetilase servem como mecanismos para a resistência ao itraconazol entre isolados de *Aspergillus* spp.

Similarmente, a resistência secundária ao fluconazol entre isolados de *Cryptococcus* spp. tem sido associada à superexpressão das bombas de efluxo MDR e alteração da enzima-alvo. *Cryptococcus* spp. também tem mostrado ter bomba de efluxo tipo CDR.

Equinocandinas

Caspofungina, anidulafungina e micafungina demonstram potente atividade fungicida contra *Candida* spp., incluindo cepas azólicos-resistente. Isolados clínicos de *Candida* spp., com suscetibilidade reduzida às equinocandinas são muito raros. Os esforços para produzir mutantes, de *C. albicans* caspofungina-resistentes, no laboratório têm mostrado que a frequência com que estes mutantes surgem é bastante baixa (1 em 10^8 células), sugerindo um potencial baixo de emergência de resistência no cenário clínico. Isolados clínicos de *Aspergillus* spp. com suscetibilidade reduzida às equinocandinas são inexistentes até o momento, e os esforços para produzir resistência em laboratório não têm tido sucesso.

O mecanismo de resistência à caspofungina que tem sido caracterizado em laboratório em derivados mutantes de *C. albicans* é parte de um complexo enzimático de síntese de glucana alterada que mostra uma sensibilidade diminuída à inibição pela caspofungina. Estas cepas têm pontos de mutações no gene *FKS*1 que codifica para uma proteína de membrana integral (*FKS*1), que é a subunidade catalítica do complexo enzimático da síntese da glucana. A mutação do *FKS*1 resulta em cepas resistentes a todas as equinocandinas, mas retém a suscetibilidade aos agentes antifúngicos polienos e azólicos. Embora o gene *FKS*1 também seja essencial em espécies de *Aspergillus*, mutações similares não têm sido demonstradas até o momento.

Flucitosina

A resistência primária à flucitosina é incomum entre isolados clínicos de *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. A resistência secundária, contudo, é bem documentada por ocorrer entre *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. durante a monoterapia com este agente.

A resistência à flucitosina pode se desenvolver devido à captação diminuída da droga (perda da atividade de permease) ou por perda da atividade enzimática necessária para converter a flucitosina em 5-FU (citosina deaminase) e ácido 5-fluoruridílico (FUMP pirofosforilase). A uracil fosforibosiltransferase, outra enzima na via da pirimidina, também é importante na formação do FUMP (5-fluoruracilmonofosfato), e a perda de sua atividade é suficiente para conferir resistência à flucitosina.

Alilaminas

Embora falhas clínicas possam ocorrer durante o tratamento de infecções fúngicas com terbinafina e naftifina, elas não parecem ser devidas à resistência a estes agentes. Tem sido demonstrado que a bomba de efluxo CDR1 pode usar a terbinafina como um substrato, sugerindo que a resistência mediada por efluxo às alilaminas é uma possibilidade.

Fatores Clínicos que Contribuem para a Resistência

A terapia antifúngica pode falhar clinicamente, apesar do fato de a droga utilizada ser ativa contra o fungo infectante. A interação complexa do hospedeiro, a droga e o patógeno fúngico pode ser influenciada por uma ampla variedade de fatores, incluindo o estado imune do hospedeiro, o local e a gravidade da infecção, presença de corpo estranho (p. ex., cateter, enxerto vascular), a atividade da droga no local da infecção, a dose e duração da terapia, e o cumprimento do paciente com o regime antifúngico. Deve ser reconhecido que a presença de neutrófilos, o uso de drogas imunomoduladoras, infecções concomitantes (p. ex., HIV), procedimentos cirúrgicos, idade e condição nutricional do hospedeiro podem ser mais importantes na determinação do resultado da infecção que a habilidade do agente antifúngico em inibir ou matar o organismo infectante.

Teste de Suscetibilidade aos Antifúngicos

O teste de suscetibilidade *in vitro* dos agentes antifúngicos é feito para determinar a atividade relativa de um ou mais agentes contra o patógeno infectante para auxiliar na escolha da melhor opção para o tratamento da infecção. Dessa maneira os testes de suscetibilidade antifúngica são realizados pelas mesmas razões que os testes com agentes antibacterianos são feitos. Os testes de suscetibilidade antifúngica (1) fornecem uma estimativa confiável da atividade relativa de dois ou mais agentes antifúngicos contra o organismo testado; (2) se correlacionam com a atividade antifúngica *in vivo* e predizem o provável resultado da terapia; (3) fornecem um meio pelo qual monitorar o desenvolvimento de resistência entre uma população de organismos normalmente suscetíveis; e (4) predizem o potencial terapêutico de agentes recém-desenvolvidos e em avaliação.

Os métodos padronizados para a realização dos testes de suscetibilidade a antifúngicos são reproduzíveis, precisos e disponíveis para utilização em laboratórios clínicos. O teste de suscetibilidade aos antifúngicos é progressiva e apropriadamente utilizado como acessório de rotina no tratamento de infecções fúngicas. Diretrizes para a utilização do teste antifúngico como complemento a outros estudos laboratoriais têm sido desenvolvidas. A aplicação seletiva do teste de suscetibilidade a antifúngicos, agrupado com a identificação mais ampla dos fungos em nível de espécies, é especialmente útil na dificuldade em administrar as infecções fúngicas. Deve-se ter em mente, contudo, que a suscetibilidade *in vitro* de um organismo infectante a um agente antimicrobiano é somente um dos vários fatores que podem influenciar na probabilidade de que a terapia para uma infecção será bem-sucedida (Ver página anterior.)

Questões

1. Qual o mecanismo de ação dos agentes antifúngicos equinocandinas? Por que isto é uma vantagem para esta classe de agentes?

Os agentes antifúngicos da classe das equinocandinas inibem a complexa síntese de enzimas da formação do α-(1,3)-glucano resultando em uma produção deficiente da parede celular. Como as células dos mamíferos não contém α-(1, 3)-glucano, esta classe é seletiva na sua toxicidade para os fungos. A maioria dos outros agentes atua sistemicamente em alvos que, de certo modo, são compartilhados por mamíferos e, portanto, podem apresentar toxicidade para fungo infectante, mas também para o hospedeiro.

2. Descreva os mecanismos de resistência aos azólicos que são conhecidos para *Candida albicans*.

A resistência aos azólicos em *Candida albicans* pode ser causada por mutação ou superexpressão de 14 α-demetilase e superexpressão de bombas de efluxo, genes CDR e genes MDR.

3. Por que a terapia combinada de agentes antifúngicos é atrativa? Dê um exemplo de um mecanismo que provavelmente produziria sinergismo

A atração da terapia combinada é que, usando combinações de antifúngicos, pode ser capaz de alcançar um melhor resultado clínico do que com a monoterapia. O sinergismo pode ser obtido através da combinação de dois agentes, como a terbinafina e um dos azólicos, que tanto atuam nas vias de esteróis em diferentes pontos, resultando em uma inibição da síntese das mais eficazes de ergosterol e rompimento da membrana da célula fúngica.

Bibliografia

Arikan S, Rex JH, et al. Antifungal agents. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, et al. Susceptibility test methods: Yeasts and filamentous fungi. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12:501-517.

Johnson MD, et al. Combination antifungal therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:693-715.

Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility come of age? *Clin Infect Dis*. 2002;35:982-989.

White TC, et al. Mechanisms of resistance to antifungal agents. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

71 Micoses Superficiais e Cutâneas

As infecções fúngicas da pele e seus membros (pêlos, unhas) são extremamente comuns. Estas infecções são geralmente classificadas pelas estruturas que o fungo coloniza ou invade:

1. **Micoses superficiais**, limitadas às camadas mais externas da pele e dos pelos.

2. **Micoses cutâneas**, infecções que envolvem as camadas mais profundas da epiderme e seus anexos, os pelos e as unhas.

3. **Micoses subcutâneas**, envolvendo a derme, tecidos subcutâneos, músculo e tecido conjuntivo. As micoses subcutâneas serão discutidas separadamente no Capítulo 72. Este Capítulo abordará as micoses superficiais e cutâneas.

Micoses Superficiais

Os agentes das micoses superficiais são fungos que colonizam as camadas queratinizadas da pele, dos pelos e das unhas. As infecções causadas por estes organismos induzem pouca ou nenhuma resposta imune do hospedeiro, não são destrutivas e em consequência são assintomáticas. São, em geral, somente de interesse estético e fáceis de diagnosticar e tratar.

Pitiríase (Tinea) Versicolor

A pitiríase versicolor é uma infecção fúngica superficial comum que ocorre em todo o mundo. Em certos ambientes tropicais, ela pode afetar até 60% da população. É causada pela levedura lipofílica *Malassezia* spp.

Morfologia

Quando visualizadas nas escamações da pele, *M*. spp. aparece como grupos de células, semelhantes a leveduras com paredes espessas, esféricas ou ovais, com 3 a 8µm de diâmetro (Fig. 71-1). As células leveduriformes podem estar misturadas com hifas curtas, ocasionalmente ramificadas, que tendem a se orientar de uma extremidade a outra. As células leveduriformes representam fialoconídios e mostram um broto polar com um "lábio" ou colarete ao redor do ponto de iniciação do broto na célula-mãe (Fig. 71-2). Em cultura em meio padrão contendo ou coberto por azeite de oliva, *Malassezia spp*. cresce como colônias leveduriformes, de cor creme, compostas de células leveduriformes com brotamento; as hifas são ocasionalmente produzidas.

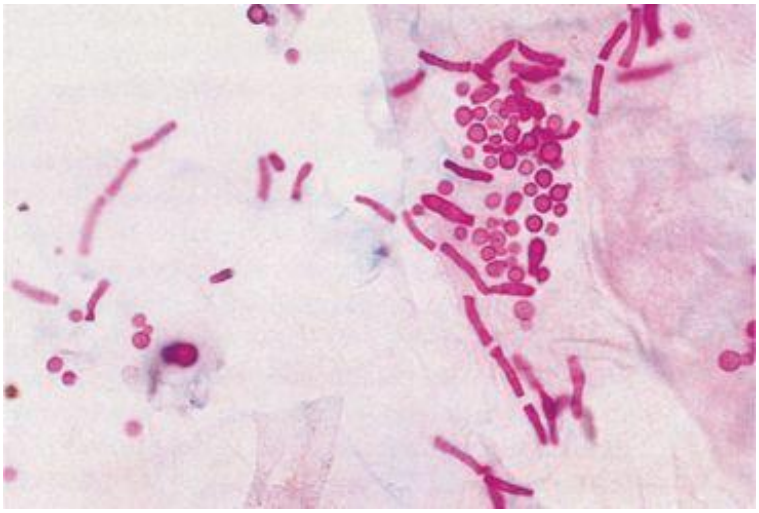


Figura 71-1 Pitiríase versicolor. Escamas de pele coradas com PAS mostrando hifas curtas e curvas e blastoconidios em cachos, (× 100).

(De Connor DH, et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

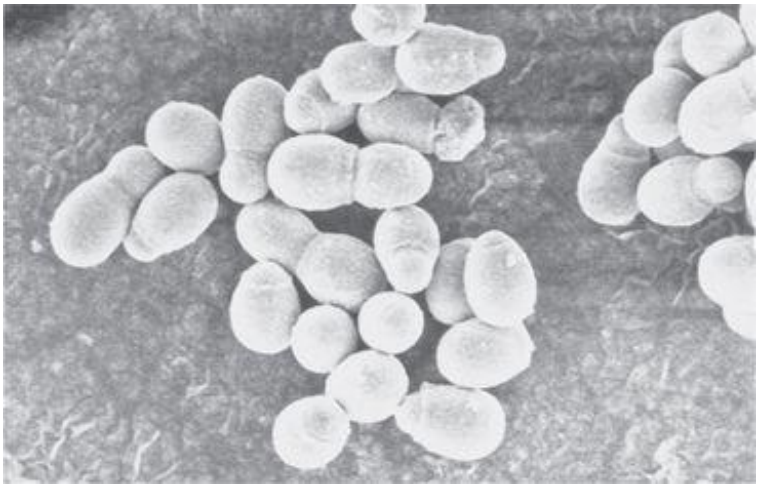


Figura 71-2 Micrografia por varredura eletrônica de *Malassezia* spp. demonstrando o colarete semelhante a um lábio ao redor do ponto do início do broto na célula-mãe.

Epidemiologia

A pitiríase versicolor é uma doença de pessoas saudáveis que ocorre no mundo todo, é mais prevalente em regiões tropicais e subtropicais. Adultos jovens são mais comumente afetados. *M.* spp. não é encontrada como um saprófito na natureza e a pitiríase versicolor não tem sido documentada em animais. A infecção humana parece resultar da transferência direta ou indireta de material queratínico de uma pessoa a outra.

Síndromes Clínicas

As lesões da pitiríase versicolor são pequenas máculas hipo ou hiperpigmentadas. A parte superior do tronco, braços, tórax, ombros, face e pescoço é mais frequentemente envolvida, mas qualquer parte do corpo pode ser afetada (Fig. 71-3). As lesões são irregulares, com manchas despigmentadas bem delimitadas, que podem confluir e serem cobertas por uma escama fina. Como *M.* spp. tende a interferir na produção de melanina, as lesões são hipopigmentadas em pessoas de pele escura. Em pessoas de pele clara, as lesões são rosadas a castanho-claro e se tornam mais evidentes por não adquirirem bronzeamento após exposição ao sol. Pouca ou nenhuma reação ocorre no hospedeiro, e as lesões são assintomáticas, com exceção de prurido brando em casos severos. A infecção dos folículos pilosos, resultando em foliculite, perifoliculite e abscessos dérmicos, é uma complicação rara desta doença.

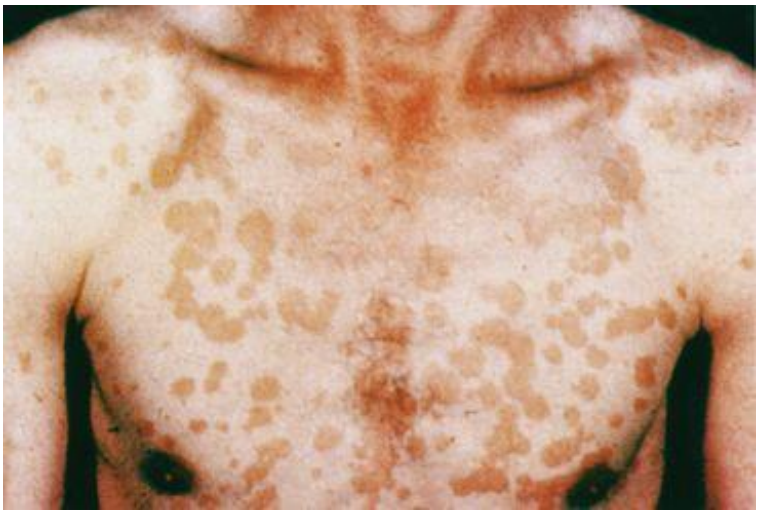


Figura 71-3 Pitiríase versicolor. Manchas hiperpigmentadas múltiplas, castanho-claro no tórax e ombros.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial da pitiríase versicolor é feito pela visualização direta dos elementos fúngicos (hifas curtas e curvas e blastoconídios em cachos) no exame

microscópico das escamas epidérmicas em KOH a 10% com ou sem calcofluor. Os organismos são usualmente numerosos e podem ser visualizados por coloração com H&E ou PAS (Fig. 71-1). As lesões também fluorescem com uma cor amarelada em exposição à lâmpada de Wood.

Embora não necessária usualmente, para o estabelecimento do diagnóstico, a cultura pode ser realizada utilizando-se meio micológico sintético suplementado com óleo de oliva como fonte de lipídio. O crescimento de colônias leveduriformes aparece após incubação a 30°C por 5 a 7 dias. Microscopicamente, as colônias são compostas de células leveduriformes com brotamento e hifas ocasionais.

Tratamento

Embora a cura espontânea tenha sido reportada, a doença é geralmente crônica e persistente. O tratamento consiste no uso tópico de azólicos ou xampu com sulfeto de selênio. Para infecção mais generalizada, o cetoconazol ou itraconazol por via oral podem ser utilizados.

Tinea Nigra

A tinea nigra é uma feo-hifomicose causada pelo fungo negro *Hortaea werneckii* (antigamente *Exophiala werneckii*).

Morfologia

Microscopicamente, *H. werneckii* aparece como uma hifa demácea, septada, frequentemente ramificada, com 1,5 a 3,0µm de largura. Artroconídios e células alongadas com brotamento também estão presentes (Fig. 71-4). *H. werneckii* também cresce em cultura em meio micológico padrão a 25°C, onde é um fungo filamentoso negro produzindo aneloconídios (conídios que possuem anelídeos ou anéis), que muitas vezes deslizam para os lados do conidióforo.

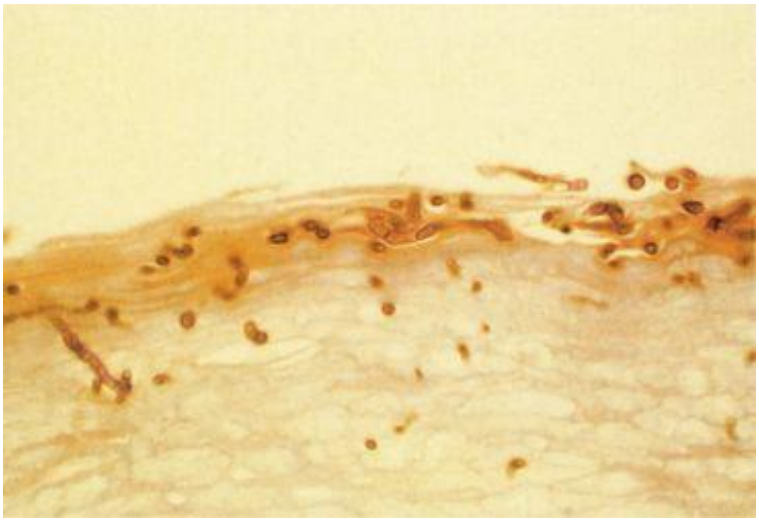


Figura 71-4 Tinea nigra. Hifas demáceas de *Hortaea werneckii* (H&E, × 100).

(De Connor DH, et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

A tinea nigra é uma condição tropical ou subtropical. É contraída provavelmente por inoculação traumática do fungo nas camadas superficiais da epiderme. É mais prevalente na África, Ásia e América Central e do Sul. As crianças e adultos jovens são mais frequentemente afetados, com maior incidência em mulheres.

Síndromes Clínicas

A tinea nigra aparece como uma mácula isolada, irregular, pigmentada (castanho a negra), geralmente na palma das mãos ou planta dos pés (Fig. 71-5). Não há descamação ou invasão dos folículos pilosos, e a infecção não é contagiosa. Devido à sua localização superficial, há pouco ou nenhum desconforto, ou reação do hospedeiro. Como a lesão pode parecer grosseiramente um melanoma maligno, a biópsia ou excisão local podem ser consideradas. Tais procedimentos invasivos podem ser evitados por um simples exame microscópico das escamas de pele da área afetada.

Figura 71-5 Tinea nigra. Máculas escuras pigmentadas com bordas irregulares, na palma da mão.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Diagnóstico Laboratorial

A tinea nigra é facilmente diagnosticada por exame microscópico das escamas de pele em KOH 10% ou 20%. As hifas pigmentadas e formas de levedura são confinadas às camadas externas do extrato córneo e são facilmente detectadas em cortes corados por H&E (Fig. 71-4) (Quadro 69-1). Uma vez detectados os elementos fúngicos, as escamações de pele devem ser semeadas em meio micológico com antibióticos. Uma colônia leveduriforme demácia deve aparecer dentro de 3 semanas, tornando-se aveludada com o tempo. O exame microscópico revela células leveduriformes cilíndricas e bicelulares dependendo da idade da colônia de hifas toruloides.

Tratamento

A infecção responde bem à terapia tópica, incluindo pomada de Whitfield, cremes com azólicos, e terbinafina.

Piedra Branca

A piedra branca é uma infecção superficial do pelo causada por fungos leveduriformes do gênero *Trichosporon*: *T. inkin, T. asahii, T. cutaneum*, ou *T. mucoides*.

Morfologia

O exame microscópico revela hifas, artroconídios (células retangulares resultantes da fragmentação das hifas) e blastoconídios (brotamento das leveduras) (Fig. 71-6).

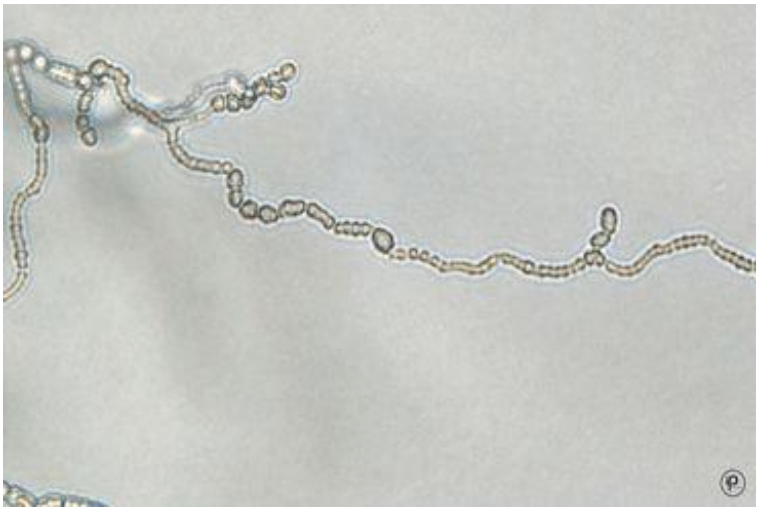


Figura 71-6 Hifas e artroconídios de *Trichosporon* spp. em agar fubá (*corn meal agar*) (× 400).

(De Marler LM, et al: Mycology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2004.)

Epidemiologia

Esta condição ocorre em regiões tropicais e subtropicais e é relacionada à falta de higiene.

Síndromes Clínicas

A piedra branca afeta os pelos da região inguinal e axilas. O fungo fica ao redor da haste do pelo e forma um nódulo branco a castanho ao longo do pelo. Os nódulos são moles e pastosos e podem ser facilmente removidos deslocando-os, com o polegar e o dedo indicador, em direção à ponta do pelo. A infecção não danifica a haste do pelo.

Diagnóstico Laboratorial

Quando o exame microscópico revelar hifas, artroconídios e/ou células de levedura com brotamento, o pelo infectado deve ser semeado em meio micológico sem cicloheximida (a cicloheximida inibirá *Trichosporon* spp.). *Trichosporon* spp. formará colônias de coloração creme, secas e enrugadas dentre de 48 a 72 horas de incubação em temperatura ambiente.

As várias espécies de *Trichosporon* podem ser identificadas da mesma maneira que outros isolados de leveduras. Assimilação de açúcares, assimilação de KNO_3 (negativa), produção de urease (positiva) e morfologia em agar fubá (artroconídios e blastoconídeos estão presentes) devem ser determinados.

Tratamento

O tratamento pode ser realizado com a utilização de azólicos tópicos; contudo, a melhora da higiene e a depilação dos pelos infectados também são eficazes e geralmente refutam a necessidade de tratamento clínico.

Piedra Preta

Outra condição que afeta os pelos, principalmente do couro cabeludo, é a piedra preta. O agente causal da piedra preta é *Piedraia hortae*.

Morfologia

O organismo cresce como fungo filamentoso pigmentado (castanho a negro-avermelhado). Durante o crescimento da cultura, ascos contendo ascósporos fusiformes são formados dentro de estruturas especializadas. Os ascos e ascósporos são também produzidos dentro da massa de hifas endurecida que fica ao redor do pelo.

Epidemiologia

A piedra preta não é comum e tem sido reportada em áreas tropicais da América Latina e África Central. Parece que a infecção esta relacionada à falta de higiene.

Síndromes Clínicas

A piedra preta se apresenta como nódulos pequenos e escuros ao redor da haste do pelo. É assintomática e geralmente envolve os pelos do couro cabeludo. A massa de hifas é presa por uma substância semelhante a um cimento e contém ascos e ascósporos, a fase sexual do fungo.

Diagnóstico Laboratorial

O exame do nódulo revela hifas ramificadas e pigmentadas presas por uma substância semelhante a cimento. *P. hortae* pode ser cultivado em meio micológico de rotina. O crescimento muito lento pode ser observado a 25° C e pode iniciar como uma colônia leveduriforme, tornando-se mais tarde aveludada enquanto as hifas se desenvolvem. Ascos são observados microscopicamente, em geral atingindo 4 a 30µm e contendo até 8 ascósporos.

Tratamento

O tratamento da piedra preta é facilmente realizado por um corte de cabelo e lavagens regulares apropriadas.

Micoses Cutâneas

As micoses cutâneas incluem infecções causadas por fungos dermatofíticos (dermatofitoses) e fungos não dermatofíticos (dermatomicoses) (Tab. 71-1). Devido à grande importância dos dermatófitos como agentes etiológicos das micoses cutâneas, a maior parte desta seção tratará destes fungos. Os fungos não dermatofíticos serão discutidos, considerando-se seus papéis nas onicomicoses. As infecções superficiais e cutâneas causadas por *Candida albicans* serão discutidas no Capítulo 74.

Tabela 71-1 Agentes Comuns e Incomuns de Dermatomicoses e Dermatofitoses superficiais e Cutâneas

Tabela 71-1. Agentes Comuns e Incomuns de Dermatomicoses e Dermatofitoses superficiais e Cutâneas

	Tipo de Infecção									
Fungo	*TP*	*TCO*	*TCR*	*TCA*	*TBA*	*PVR*	*O*	*TN*	*PP*	*PB*
Dermatofítico										
Trichophyton rubrum	X	X	X				X			
T. mentagrophytes	X	X	X	X			X			
T. tonsurans		X		X			X			
T. verrucosum		X		X	X					
T. equinum				X						
T. violaceum				X						
T. schoenleinii				X						
T. megnini							X			
Epidermophyton floccosum	X		X				X			
Microsporum canis		X		X						
M. audouinii				X						
Não dermatofítico										
Scopulariopsis brevicaulis							X			
Scytalidium spp.	X						X			
Malassezia spp.						X				
Candida albicans	X		X				X			
Aspergillus terreus							X			
Acremonium spp.							X			
Fusarium spp.							X			
Trichosporon spp.										X
Piedraia hortae									X	
Hortae werneckii								X		

TP, tinha pedis; TCO, tinha corporis; TCR, tinha cruris; TCA, tinha capitis; TBA, tinha barbae; PVR, Pitiríase versicolor; O, onicomicose; TN, tinea nigra; PP, piedra preta; PB, piedra branca; X, agentes etiológicos de.

Dermatofitoses (Casos clínicos 71-1 e 71-2)

O termo **dermatofitose** se refere a um complexo de doenças causadas por quaisquer das várias espécies de fungos filamentosos taxonomicamente relacionados nos gêneros *Trichophyton, Microsporum* e *Epidermophyton* (Tabs. 71-1 a 71-3). Estes fungos são conhecidos coletivamente como **dermatófitos** e possuem habilidade em causar doenças em humanos e/ou animais. Todos têm em comum a habilidade de invadir a pele, pelos ou unhas. Em cada caso, estes fungos são queratinofílicos e queratinolíticos, sendo capazes de destruir as superfícies queratinosas dessa estruturas. Nas infecções de pele, os dermatófitos invadem somente a camada superior e mais externa da epiderme, o extrato córneo. A penetração abaixo da camada granular da epiderme é rara. Da mesma forma ocorre com os pelos e unhas, que sendo parte da pele, tem somente as camadas queratinizadas invadidas. As várias formas de dermatofitoses são citadas como "tineas" ou "*ringworm*". No Brasil se utiliza o termo tinha. Clinicamente as "tinhas" são classificadas de acordo com o local anatômico ou a estrutura afetada: (1) tinha capitis do couro cabeludo, sobrancelhas e cílios; (2) tinha barbae; (3) tinha corporis pela glabra ou macia; (4) tinha cruris da região inguinal; (5) tinha pedis do pé; (6) tinha unguium da unha (também conhecida como **onicomicose**). Os sinais e sintomas clínicos das dermatofitoses variam de acordo com os agentes etiológicos, a reação do hospedeiro e o local da infecção.

Caso Clínico 71-1 Dermatofitose em Hospedeiro Imunocomprometido

Squeo et al. (*J Am Acad Dermatol* 39-379, 1998) descrevem o caso de um paciente submetido a transplante renal, com onicomicose e *tinea pedis* crônica, que apresentava nódulos dolorosos em seu calcanhar esquerdo. Ele, então, desenvolveu pápulas e nódulos no pé direito e na panturrilha. A biópsia, positiva para ácido periódico de Schiff (PAS – *periodic acid-Schiff*), demonstrou a presença de células arredondadas de paredes espessas com 2 a 6 mícrons de diâmetro, na derme. Na cultura da biópsia de pele cresceu *Trichophyton rubrum*. *T. rubrum* tem sido descrito como patógeno em pacientes imunocomprometidos. A apresentação clínica, histopatologia e o crescimento inicial da cultura fúngica sugeriam tratar-se de *Blastomyces dermatitidis* no diagnóstico diferencial perante a identificação final de *T. rubrum*.

Caso Clínico 71-2 *Tinea capitis* em uma Mulher Adulta

Martin e Elewski (*J Am Acad Dermatol* 49-5177, 2003) descreveram o caso de uma mulher de 87 anos de idade com histórico de dois anos de erupção pruriginosa e dolorosa no couro cabeludo e queda de cabelo. O tratamento prévio para essa condição incluía numerosos esquemas de tratamento com antibióticos sistêmicos e prednisona sem sucesso. O histórico da paciente indicava que ela tinha adquirido recentemente vários gatos e os mantinha dentro de casa. No exame físico, havia inúmeras pústulas por todo o couro cabeludo, com eritema difuso e descamação estendendo-se até o pescoço. Havia cabelo extremamente escasso e linfadenopatia cervical posterior proeminente. Ela não tinha alterações ungueais. O exame do couro cabeludo por luz de Wood foi negativo. Amostra de biópsia de pele e cultura para fungos, bactérias e vírus foi realizada. Na cultura bacteriana cresceu um raro *Enterococcus* spp., enquanto a cultura viral mostrou-se negativa. A amostra de biópsia do couro cabeludo revelou infecção por um dermatófito endothrix. Na cultura fúngica cresceu *Trichophyton tonsurans*. A paciente foi tratada com griseofulvina e xampu Celsium®. No retorno, após duas semanas de tratamento, a paciente demonstrou crescimento de cabelo no local afetado e resolução de sua erupção postular. Devido à resposta clínica e o aparecimento, no exame de cultura, de *T. tonsurans*, o tratamento com griseofulvina foi mantido por 8 semanas. O cabelo voltou a crescer normalmente sem alopecia permanente. Em adultos com alopecia exigem avaliação para *tinea capitis*, incluindo cultura para fungos.

Tabela 71-2 Aspectos Característicos dos Dermatófitos *In Vitro* e *In Vivo*

Tabela 71-2. Aspectos Característicos dos Dermatófitos *In Vitro* e *In Vivo*

	In vitro		Pelo *In vivo*	
Gênero	*Macroconídios*	*Microconídios*	*Invasão*	*Fluorescência*[a]
Epidermophyton	Paredes lisas, agrupados em cachos de 2 ou 3	Ausentes	NA	NA
Microsporum	Numerosos, grandes, parede espessa e rugosa[b]	Raros	Ectotrix	+/−[c]
Trichophyton	Raros, parede lisa e delgada	Numerosos, esféricos, em forma de gotas ou pinos[d]	Endotrix[e]	+/−[f]

[a] *Fluorescência com lâmpada de Wood.*
[b] *Exceto* M. audouinii.
[c] M. gypseum *não fluorescente.*
[d] *Exceto* T. schoenleinii.
[e] T. verrucosum, ectotrix; T. schoenleinii, fávico.
[f] T. schoenleinii *é fluorescente.*
NA, não aplicável.

Tabela 71-3 Classificação dos Dermatófitos de Acordo com o Nicho Ecológico

Tabela 71-3. Classificação dos Dermatófitos de Acordo com o Nicho Ecológico

Nicho Ecológico	Espécies	Principais Hospedeiros	Distribuição Geográfica	Prevalência
Antropofílico	*Epidermophyton floccosum*		Mundial	Comum
	Microsporum audouinii		Mundial	Comum
	M. ferrugineum		África, Ásia	Endêmica
	Trichophyton concentricum		Ásia, Ilhas do Pacífico	Endêmica
	T. megnini		Europa, África	Endêmica
	T. mentagrophytes var. *interdigitale*		Mundial	Comum
	T. rubrum		Mundial	Comum
	T. schoenleinii		Europa, África	Endêmica
	T. soudanense		África	Endêmica
	T. tonsurans		Mundial	Comum
	T. violaceum		Europa, África, Ásia	Comum
Zoofílico	*Microsporum canis*	Gato, cão, cavalo	Mundial	Comum
	M. gallinae	Galinha	Mundial	Rara
	M. nanum	Suíno	Mundial	Rara
	M. persicolor	Rato silvestre	Europa, EUA	Rara
	Trichophyton equinum	Cavalo	Mundial	Rara
	T. mentagrophytes var. *mentagrophytes*	Roedor	Mundial	Comum
	T. mentagrophytes var. *erinacei*	Ouriço	Europa, Nova Zelândia, África	Ocasional
	T. mentagrophytes var. *quinckeanum*	Camundongo	Mundial	Rara
	T. sinii	Macaco	Índia	Ocasional
	T. verrucosum	Vaca	Mundial	Comum
	Microsporum gypseum		Mundial	Ocasional
	M. fulvum		Mundial	Ocasional

De Hiruma M, Yamaguchi H: Dermatophytes. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds): Clinical Micology. New York, Churchill Livingstone, 2003.

Morfologia

Cada gênero de fungo filamentoso dermatofítico é caracterizado por um padrão específico de crescimento em cultura e pela produção de macroconídios e microconídios (Tab. 71-2). Além disso, a identificação em nível de espécie requer considerações sobre a morfologia da colônia, produção de esporos e requerimentos nutricionais *in vitro*.

Microscopicamente, o gênero *Microsporum* é identificado pela observação de seus macroconídios, enquanto os microconídios são estruturas características do gênero *Trichophyton* (Tab. 71-2). *Epidermophyton floccosum* não produz microconídios, porém seus macroconídios de parede lisa que nascem em cachos de 2 ou 3 são bastante característicos (Fig. 71-7). *Microsporum canis* produz macroconídios característicos, grandes, multicelulares (5 a 8 células por conídio), com parede espessa e rugosa (Fig. 71-8). *Trichophyton rubrum* produz microconídios em forma de gotas ou de pino que nascem ao longo das hifas (Fig. 71-9), enquanto o *T. mentagrophytes* produz tanto macroconídios únicos em forma de charuto como cachos de microconídios esféricos (Fig. 71-10). *T. tonsurans* produz microconídios de forma e tamanho variados, com conídios esféricos relativamente grandes, muitas vezes localizados paralelamente ao lado de conídios pequenos e outros microconídios de vários tamanhos e formas (Fig. 71-11).

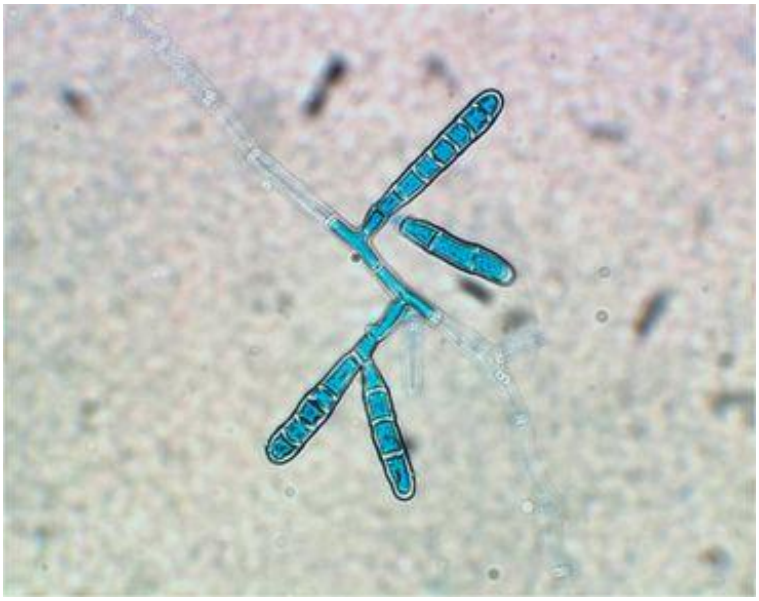


Figura 71-7 *Epidermophyton floccosum*. Em lactofenol azul-algodão mostrando macroconídios de paredes lisas.

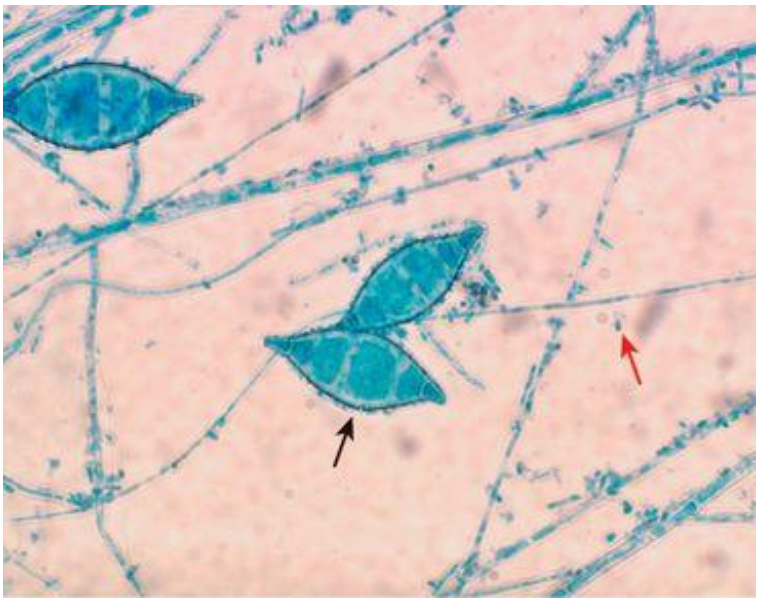


Figura 71-8 *Microsporum canis*. Em lactofenol azul-algodão mostrando macroconídios (*seta preta*) e microconídios (*seta vermelha*) de parede rugosa.

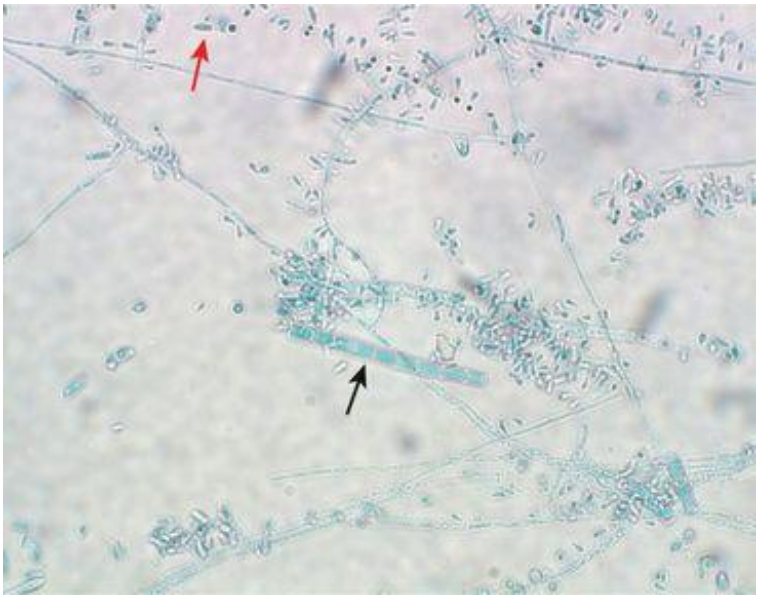


Figura 71-9 *Trichophyton rubrum*. Em lactofenol azul algodão mostrando macroconídio multicelular (*seta preta*) e microconídios em forma de gota e pino (*seta vermelha*).

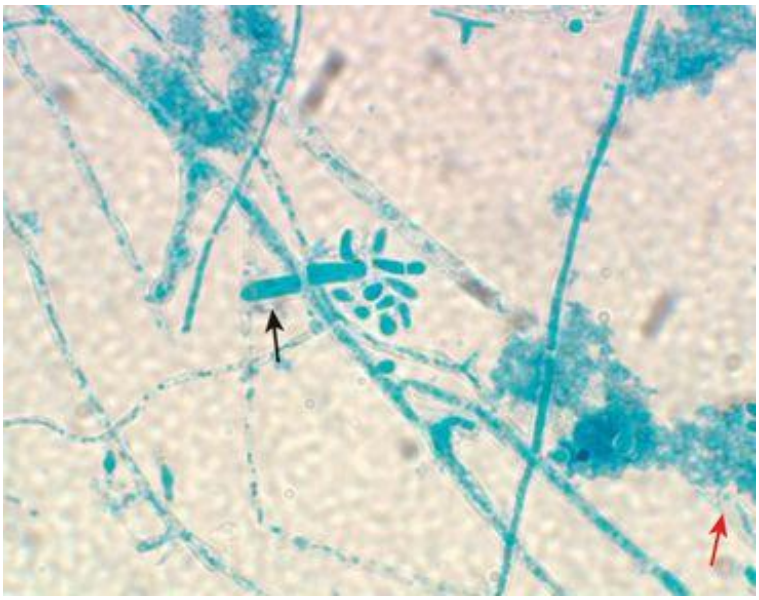


Figura 71-10 *Trichophyton mentagrophytes*. Em lactofenol azul algodão mostrando macroconídios em forma de charuto (*seta preta*) e microconídios agrupados em cachos (*seta vermelha*).

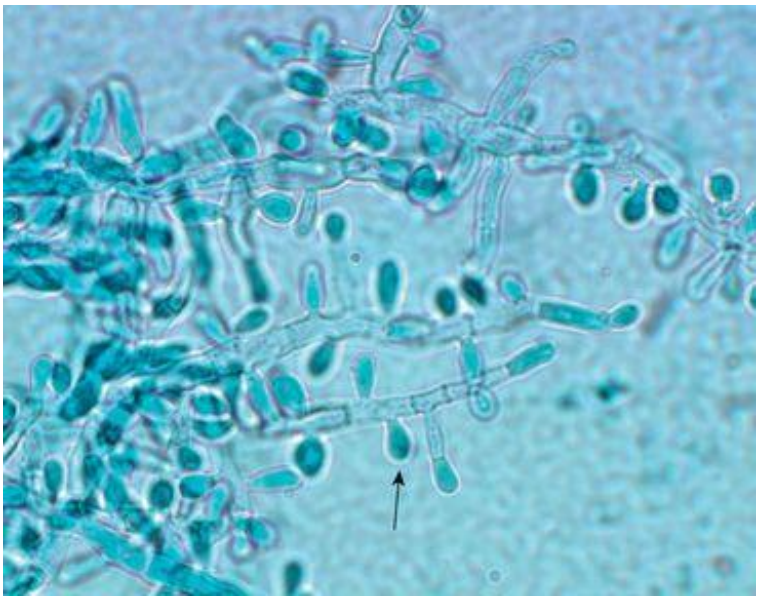


Figura 71-11 *Trichophyton tonsurans*. Em lactofenol azul-algodão mostrando microconídios (*seta preta)*.

Em biópsias cutâneas, todos os dermatófitos são morfologicamente similares e aparecem como hifas septadas, hialinas, cadeias de artroconídios, ou dissociadas de artroconídios que invadem o extrato córneo, folículos capilares e pelos. Quando o pelo é infectado, o padrão de invasão fúngica pode ser **ectotrix, endotrix**, ou **fávico** dependendo da espécie dermatofítica (Fig. 71-12). Hifas septadas podem ser vistas dentro da haste do pelo em todos os três padrões. No padrão **ectotrix**, os **artroconídios** são formados por fora do pelo (Fig. 71-13; Fig. 71-12); no padrão **endotrix**, os artroconídios são formados no interior do pelo (Fig. 71-12); e no padrão **fávico**, as hifas, os artroconídios e espaços vazios lembrando bolhas de ar (padrão "favo de mel") são formados dentro do pelo (Fig. 71-12). Os dermatófitos podem usualmente ser vistos por coloração H&E; contudo, são mais bem visualizados com colorações específicas para fungos, como GMS e PAS (Fig. 71-13 e Cap. 69).

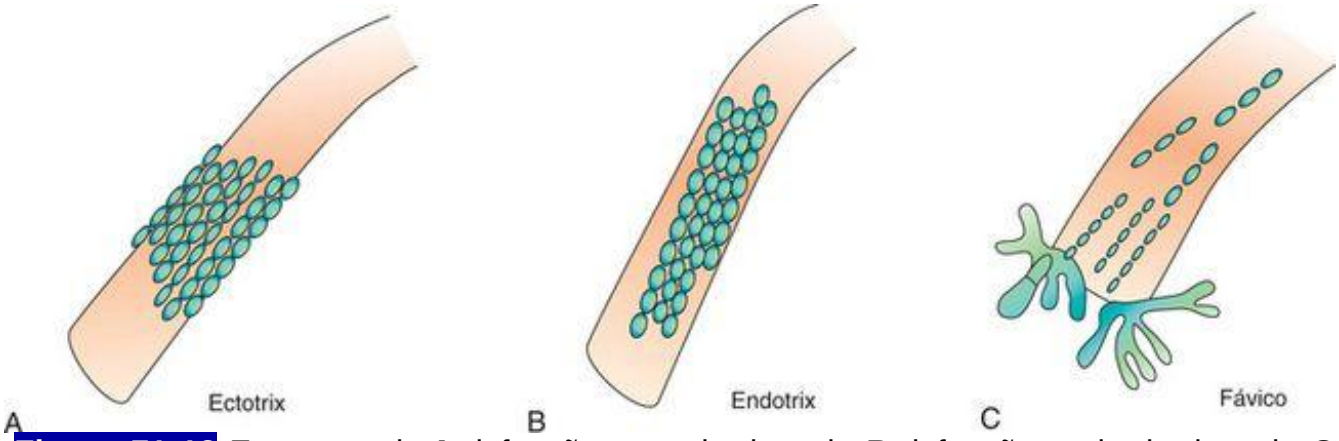


Figura 71-12 Esquema de **A**, infecção ectotrix do pelo. **B**, infecção endotrix do pelo. **C**, infecção fávica do pelo.

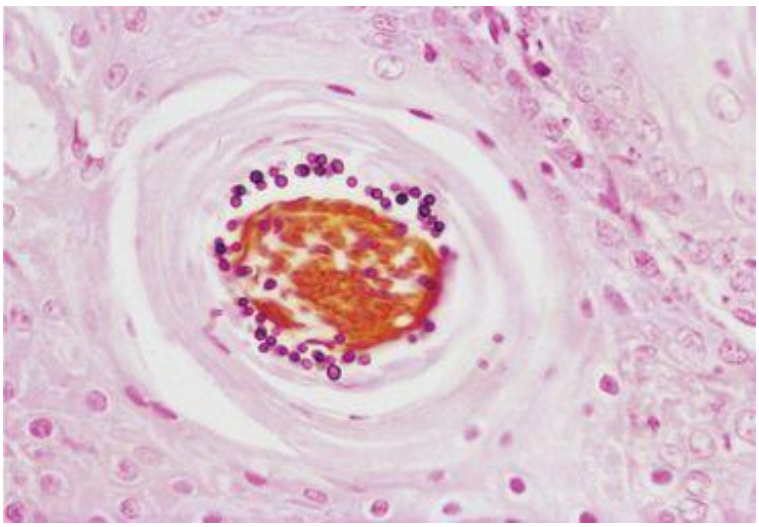


Figura 71-13 Artroconídios ao redor da haste do pelo. Infecção ectotrix do pelo causada por *M. canis* (GMS-H&E, × 160).

(De Connor DH, et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn. Appleton & Lange, 1997.)

Ecologia e Epidemiologia

Os dermatófitos podem ser classificados em três categorias, baseadas em seu "habitat" natural (Tab. 71-3): 1) geofílicos; (2) zoofílicos; e (3) antropofílicos. Os dermatófitos geofílicos vivem no solo e são patógenos ocasionais de animais e humanos. Os dermatófitos zoofílicos normalmente parasitam o pelo e a pele de animais, mas podem ser transmitidos aos humanos. Os dermatófitos antropofílicos geralmente infectam os humanos e podem ser transmitidos direta ou indiretamente de pessoa a pessoa. Esta classificação é bastante útil no prognóstico e enfatiza a importância da identificação do agente etiológico das dermatofitoses. As espécies de dermatófitos que são consideradas antropofílicas tendem a causar infecções relativamente não inflamatórias, crônicas, que são difíceis de curar. Em contraste, os dermatófitos zoofílicos e geofílicos tendem a provocar uma intensa reação no hospedeiro, causando lesões altamente inflamatórias respondendo bem à terapia. Em alguns casos, estas infecções curam-se espontaneamente.

Os dermatófitos estão distribuídos mundialmente (Tab. 71-3), e a infecção pode ser adquirida pela transferência de artroconídios ou hifas, ou material queratínico contendo esses elementos, de um hospedeiro infectado a outro hospedeiro não infectado suscetível. Os

dermatófitos podem permanecer viáveis em escamas de pele descamadas ou em pelos por longos períodos, e a infecção pode ser tanto por contato direto ou indireto via fômites. Indivíduos de ambos os sexos e de todas as idades são suscetíveis às dermatofitoses; contudo, tinea capitis é mais comum em crianças pré-púberes, e tinea cruris e tinea pedis são principalmente doenças de adultos do sexo masculino. Embora as dermatofitoses ocorram em todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, as espécies individuais de dermatófitos podem variar em suas distribuições geográficas e em sua virulência para humanos (Tab. 71-3). Por exemplo, *Trichophyton concentricum*, agente da tinea imbricata, é confinado às ilhas do Pacífico Sul e Ásia, enquanto que *T. tonsurans* substituiu *Microsporum audouinii* como principal agente de tinea capitis nos Estados Unidos. As infecções causadas por dermatófitos são geralmente endêmicas, porém podem assumir proporções epidêmicas em determinadas situações (p. ex., tinea capitis em escolares). Em escala mundial, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* 80% a 90% de todas as dermatofitoses.

Síndromes Clínicas

As dermatofitoses manifestam uma ampla variedade de apresentações clínicas, que podem ser afetadas por fatores como as espécies de dermatófitos, a quantidade do inoculo, o local da infecção, e a condição imune do hospedeiro. Qualquer manifestação da doença pode resultar de várias espécies diferentes de dermatófitos, com mostrado na Tabela 71-1.

O padrão clássico das dermatofitoses é o padrão "*ringworm*", ou seja, um anel de escamação inflamatória com diminuição da inflamação em direção ao centro da lesão. As tineas de áreas cobertas por pelos se apresentam, muitas vezes, como manchas circulares elevadas de alopecia com eritema e escamação (Fig. 71-14) ou como pápulas, pústulas e vesículas e quérions (inflamação severa envolvendo a haste do pelo) mais difusamente espalhadas (Fig. 71-15). Os pelos infectados com determinadas espécies, como *M. canis, M. audouinii* e *T. schoenleinii*, muitas vezes fluorescem em tonalidade amarelo-verde quando expostos à lâmpada de Wood (Tab. 71-2). As infecções da pele lisa comumente se apresentam como manchas eritematosas e escamosas que se expandem em um padrão centrípeto com clareamento central. As dermatofitoses do pé e da mão podem se tornar, muitas vezes, complicadas por onicomicoses (Fig. 71-16), em que a unha é invadida e destruída por fungos. A onicomicoses (tinea unguium) é causada por uma variedade de dermatófitos (Tab. 71-1) e estima-se que afeta aproximadamente 3% da população na maioria dos países temperados. Esta doença é observada na maioria das vezes em adultos, sendo mais comum as unhas dos pés serem mais afetadas que as das mãos. A infecção é usualmente crônica, e as unhas tornam-se grossas, descoloridas, elevadas, friáveis e deformadas (Fig. 71-16). *T. rubrum* é o agente etiológico mais comum na maioria dos países. Uma forma rapidamente progressiva de onicomicose que se origina na borda proximal da unha e envolve a superfície e a parte interna da unha é vista em pacientes com AIDS.

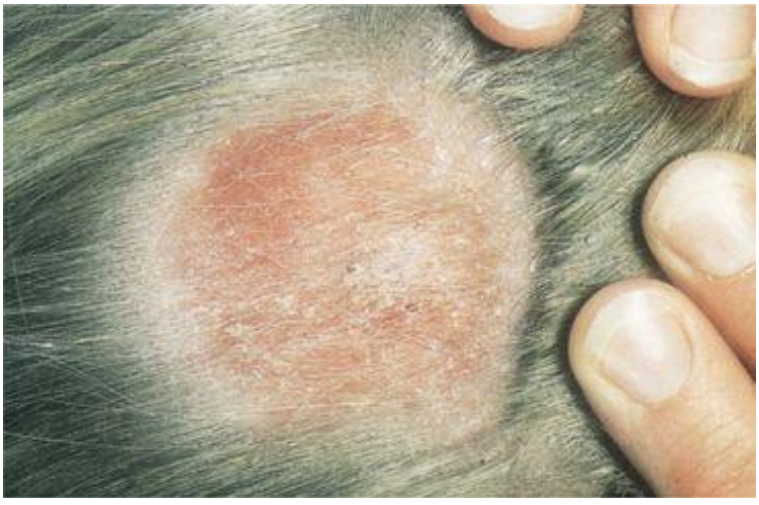


Figura 71-14 Tinha capitis causada por *M. canis*.

(De Hay RJ: Cutaneous and subcutaneous mycoses. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA [eds]: Clinical Mycology. New York, Churchill Livingstone, 2003.)

Figura 71-15 Tinha barbae causada por *T. verrucosum*.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Figura 71-16 Onicomicose causada por *T. rubrum*.

(De Hay RJ: Cutaneous and subcutaneous mycoses. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA [eds]: Clinical Mycology. New York, Churchill Livingstone, 2003.)

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial das dermatofitoses se baseia na demonstração das hifas septadas pela microscopia direta de amostras de pele, pelos e unhas e no isolamento dos organismos em cultura. As amostras são montadas sobre uma lâmina de vidro com uma gota de KOH 10% ou 20% e examinada microscopicamente. Os elementos característicos dos dermatófitos (hifas hialinas septadas e artroconidios) podem ser observados nas escamas de pele, de unhas e nos pelos. No exame de amostras para elementos fúngicos, o branco de calcoflúor tem sido utilizado com resultados excelentes.

As culturas são sempre úteis e podem ser obtidas por raspagem das áreas afetadas e semeadura da pele, pelos ou pedaços de unha em meio micológico padrão, como o agar

Sabouraud, com e sem antibióticos, ou DTM (*dermatophyte test medium*). As colônias se desenvolvem entre 7 e 28 dias. Suas aparências macro e microscópicas e requerimentos nutricionais podem ser utilizados na identificação.

Tratamento

As infecções dermatofíticas localizadas e que não afetam pelos ou unhas em geral podem ser tratadas efetivamente com agentes tópicos; todas as outras requerem terapia oral. Os agentes tópicos incluem azólicos (miconazol, clotrimazol, econazol, tioconazol e itraconazol), terbinafina e haloprogina. A pomada de Whitfield (ácido salicílico e benzoico) é um agente opcional para as dermatofitoses, mas as respostas são geralmente mais lentas que às observadas com os agentes com atividade antifúngica específica.

Os agentes antifúngicos orais com atividade sistêmica contra dermatófitos incluem griseofulvina, itraconazol, fluconazol e terbinafina. Os azólicos e a terbinafina são mais rápida e amplamente eficazes que a griseofulvina, especialmente no tratamento das onicomicoses.

Onicomicoses Causadas por Fungos Não Deumatófitos

Um número de fungos filamentosos não deumatófitos, e espécies de *Candida*, tem sido associados com infecções de unha (Tab. 71-1). Estes organismos incluem *Scopulariopsis brevicaulis, Scytalidium dimidiatum, S. hyalinum* e uma variedade de outros, como *Aspergillus, Fusarium* e espécies de *Candida*. Entre estes organismos, *S. brevicaulis* e *Scytalidium* spp. são patógenos de unha comprovados. Os outros fungos certamente podem ser a causa de patologia de unha; contudo, a interpretação das culturas de unha com estes organismos deve ser feita com cautela, pois podem simplesmente representar colonização saprofítica de material anormal de unha. Os critérios utilizados para determinar o papel etiológico destes fungos incluem isolamento em ocasiões múltiplas e a presença de hifas anormais ou estruturas conidiais no exame microscópico do material da unha.

As infecções causadas por *Scopulariopsis brevicaulis, Scytalidium dimidiatum* e *S. hyalinum* são notoriamente difíceis de tratar, pois não são, em geral, suscetíveis a quaisquer antifúngicos. A remoção cirúrgica parcial das unhas infectadas associada com itraconazol ou terbinafina via oral, ou com tratamento intensivo com esmalte de unha com amorolfina a 5% ou pomada de Whitfield, podem ser úteis na obtenção de uma resposta clínica.

Estudo de Caso e Questões

Darrel, um estudante de medicina de 24 anos de idade, gosta muito de seu novo filhote de buldogue, Delbert. Ele adquiriu Delbert recentemente de um canil local. Darrel tem dado beijos frequentes no focinho de Delbert, pois sabe que logo em seguida virá uma brincadeira. Após aproximadamente três meses da posse orgulhosa e de beijos no filhotinho, Darrel percebeu que seu bigode começou a coçar e seu lábio superior estava começando a inchar. Em uma semana, seu lábio superior estava inchado e inflamado e pequenas áreas pustulares se tornaram aparentes entre os pelos esparsos de seu bigode. Alterações similares também se tornaram aparentes no focinho de Delbert. Isso preocupou Darrel, que prontamente levou Delbert ao veterinário. O veterinário deu uma olhada nos dois, escreveu uma prescrição para Delbert, e disse a Darrel que ele deveria fazer uma visita ao dermatologista.

1. Qual foi a provável causa da doença de Darrel/Delbert? Seja específico.

Ambos parecem estar sofrendo de uma dermatofitose. Dada a uma evidência clínica e epidemiológica, poderia esperar a infecção por um patógeno zoofílico como *Microsporum canis* ou *Trichophyton* spp.

2. Como você faria um diagnóstico?

O primeiro passo para fazer o diagnóstico seria examinar raspados de pele e cabelo utilizando KOH e calcoflúor. O diagnóstico etiológico específico exige cultura de cabelo e raspado de pele seguida de uma avaliação da aparência e microscopia do fungo em cultura. No caso dos dermatófitos, a identificação ainda pode ser feito pela avaliação das necessidades nutricionais do fungo utilizando meios especiais.

3. Como você trataria esta infecção?

Esta infecção, tinea da barba, vai exigir uma terapia com terbinafina ou itraconazol. Além disso, o paciente deve ser orientado a evitar o contato íntimo (beijo) com o cachorro.

4. Quem transmitiu o que a quem?

A transmissão usual de um dermatófito zoofilico é a forma animal para o humano.

Bibliografia

Chandler FW, Watts JC. Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago: ASCP, 1987.

Hay RJ. Cutaneous and subcutaneous mycoses. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Hiruma M, Yamaguchi H. Dermatophytes. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Summerbell RC, et al. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, and other agents of superficial mycoses. In Murray PR, et al, editors: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

72 Micoses Subcutâneas

Muitos patógenos fúngicos podem produzir lesões subcutâneas como parte de seu processo patológico; contudo, certos fungos são comumente introduzidos de maneira traumática através da pele e têm tendência a envolver as camadas mais profundas da derme, tecido subcutâneo e osso. Embora possam apresentar clinicamente lesões na superfície da pele, raramente se disseminam para órgãos distantes. Em geral, o curso clínico é crônico e insidioso; uma vez estabelecido, as infecções são refratárias à maioria da terapia antifúngica. As principais infecções fúngicas subcutâneas incluem esporotricose linfocutânea, cromoblastomicose, micetoma eumicótico, zigomicose subcutânea e feo-hifomicose subcutânea. Dois processos adicionais subcutâneos fúngicos ou fungiformes, a lobomicose e a rinosporidiose (protozoose), são discutidos separadamente no Capítulo 75.

Embora a esporotricose linfocutânea seja causada por um só patógeno fúngico, *Sporothrix schenckii*, as outras micoses subcutâneas são síndromes clínicas causadas por múltiplas etiologias fúngicas (Tab. 72-1). Os agentes causais das micoses subcutâneas são geralmente considerados com potencial patogênico baixo e são comumente isolados do solo, de madeira, ou de vegetação em decomposição. A exposição é geralmente ocupacional ou relacionada a passatempos (p. ex., jardinagem, trabalho com madeira). Os pacientes infectados geralmente não têm deficiência imune de base.

Tabela 72-1 Agentes Comuns de Micoses Subcutâneas

Tabela 72-1. Agentes Comuns de Micoses Subcutâneas

Doença	Agente(s) Etiológico(s)	Morfologia Típica no Tecido	Reação Comum do Hospedeiro
Esporotricose	*Sporothrix schenckii*	Leveduras pleomórficas, esféricas a ovais ou em forma de charuto, 2-10µm de diâmetro, com brotamento único ou múltiplos (raros). Ver Figura 72-3	Mista supurativa e granulomatosa; material de Splendore-Hoeppli ao redor do fungo (corpo asteroide). Ver Figura 72-4
Cromoblastomicose	*Cladophialophora (Cladosporium) carrionii, Fonsecaea compacta, F. pedrosoi, Phialophora verrucosa, Rhinocladiella, Exophiala* spp.	Células muriformes marrons grandes, com 6-12µm de diâmetro, esféricas, de paredes grossas (corpos escleróticos) com septações em 1 ou 2 planos; hifas pigmentadas podem estar presentes. Ver Figura 72-6.	Mista supurativa e granulomatosa; hiperplasia pseudoepiteliomatosa
Micetoma eumicótico	*Phaeoacremonium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus nidulans, Scedosporium apiospermum, Madurella* spp., *Exophiala jeanselmei*, entre outros.	Grãos com 0,2 a vários mm de diâmetro, compostos de hifas septadas grandes (2-6µm), hialinas (grãos claros) ou demaciáceas (grãos pretos) que se ramificam e formam clamidoconídios.	Supurativa com abscessos múltiplos, fibrose e tratos sinusais; material de Splendore-Hoeppli
Zigomicose subcutânea	*Basidiobolus ranarum (haptosporus), Conidiobolus coronatus*	Fragmentos de hifas curtas, fracamente coradas, 6-25µm de diâmetro, de lados não paralelos, pausi-septadas e ramos aleatórios. Ver Figura 72-10.	Abscessos eosinofílicos e tecido de granulação; material de Splendore-Hoeppli ao redor das hifas.
Feo-hifomicose subcutânea	*Exophiala jeanselmei, Wangiella dermatitidis, Bipolaris* spp., *Alternaria* spp., *Chaetomium* spp., *Curvularia* spp., *Phialophora* spp., entre outros.	Hifas pigmentadas (marrons), 2-6µm de diâmetro, ramificadas ou não ramificadas, muitas vezes contraídas nas septações proeminentes, formas de leveduras e clamidoconídios podem estar presentes. Ver Figura 72-11.	Granulomas subcutâneos císticos ou sólidos; epiderme sobrejacente raramente afetada.

Adaptada de Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.

Esporotricose Linfocutânea (Caso Clínico 72-1)

A esporotricose linfocutânea é causada por *Sporothrix schenckii*, um fungo dimórfico ubiquitário no solo e na vegetação em decomposição. A infecção com este organismo é crônica e caracterizada por lesões nodulares e ulcerativas que se desenvolvem ao longo dos linfáticos que drenam o sítio primário da inoculação (Fig. 72-1). A disseminação a outros locais como ossos, olhos, pulmões, e sistema nervoso central é extremamente rara (menos de 1% dos casos) e não será discutida. Em temperatura ambiente, *S. schenckii* cresce como um fungo filamentoso (Fig. 72-2), e a 37°C e em tecido, é uma levedura pleomórfica (Fig. 72-3; Tab. 72-1).

Caso Clínico 72-1 Esporotricose

Haddad e colaboradores (Med Mycol 40:425, 2002) descrevem um caso de esporotricose linfangítica após ferimento com espinha de peixe. O paciente, um pescador de 18 anos de idade, residente em área rural do estado de São Paulo feriu seu terceiro dedo da mão esquerda na espinha dorsal de um peixe que havia pescado durante seu trabalho. Posteriormente na área ao redor do ferimento se desenvolveu edema, ulceração, dor e secreção purulenta. O primeiro médico que o examinou interpretou a lesão como um processo bacteriano e prescreveu tetraciclina oral durante 7 dias. Nenhuma melhora foi observada, e a terapia foi alterada para cefalexina, com resultados similares.

Num exame, 15 dias após o acidente, o paciente apresentou úlcera e nódulos no dorso da mão esquerda e no braço, formando um padrão de linfangite nodular ascendente. As hipóteses diagnósticas consideradas foram esporotricose linfangítica localizada, leishmaniose esporotricoides e micobacteriose atípica (*Mycobacterium marinum)*. O exame histopatológico do material da lesão revelou um padrão granulomatoso ulcerado crônico de inflamação com microabscessos intradermais. Não foram observados bacilos ácidorresistentes ou elementos fúngicos. Na cultura do material de biópsia em agar Sabouraud cresceu um fungo filamentoso caracterizado por hifas finas e septadas com conídios dispostos em roseta na extremidade dos conidióforos, consistente com *Sporothrix schenckii*. A intradermorreação com esporotriquina foi positiva. O paciente foi tratado com iodeto de potássio via oral, com resolução clínica após 2 meses de terapia.

A apresentação clínica neste caso foi típica de esporotricose; contudo, a fonte de infecção (espinha de peixe) foi incomum. Apesar da grande incidência de infecção por *M. marinum* entre pescadores e aquaristas, a esporotricose deve ser lembrada quando estes trabalhadores mostram lesões com um padrão de linfangite ascendente após ferimentos por contato com peixes.

Figura 72-1 Forma linfocutânea clássica da esporotricose demonstrando uma cadeia de nódulos subcutâneos ao longo da drenagem linfática do braço.

(Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

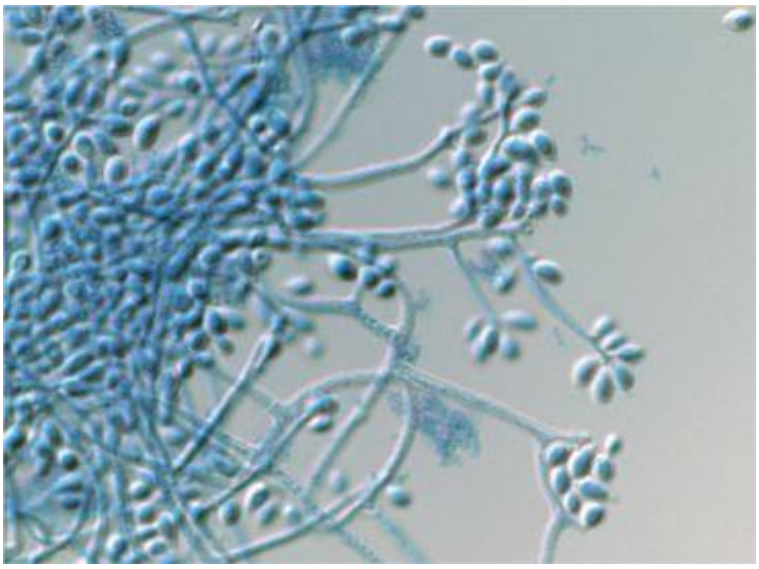


Figura 72-2 Fase filamentosa do *Sporothrix schenckii*.

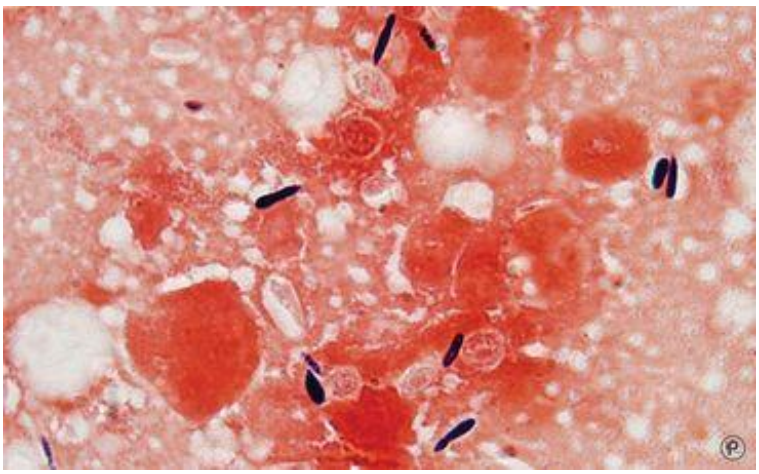


Figura 72-3 Fase de levedura de *Sporothrix schenckii* em tecido (coloração de Gram × 1000).

(De Marler LM, et al: Mycology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2004.)

Morfologia

S. schenkii é dimórfico. As culturas em forma filamentosa crescem rapidamente e têm uma superfície membranosa rugosa que gradualmente se torna acastanhada, marrom ou escura. Microscopicamente, a forma de fungo filamentoso consiste de hifas estreitas, septadas e hialinas que produzem conídios ovais abundantes (2 × 3µm a 3 × 6µm) em esterígmas delicados ou dispostos em forma de roseta ou em "pétalas de margarida" na extremidade dos conidióforos. A forma de levedura consiste de células leveduriformes esféricas, ovais, ou alongadas ("forma de charuto"), 2 a 10µm de diâmetro, com brotamento único ou múltiplo (raramente) (Tab. 72-1 e Fig. 72-3). Embora esta seja a "fase em tecido" de *S. schenckii*, as formas de levedura são raramente observadas no exame histopatológico.

Epidemiologia

A esporotricose é geralmente esporádica e mais comum em climas mais quentes. As principais áreas endêmicas estão no Japão e na América do Norte e do Sul, especialmente México, Brasil, Uruguai, Peru e Colômbia. Surtos de infecção, relacionados ao trabalho em floresta, mineração e jardinagem, têm ocorrido. A infecção clássica está associada com a inoculação traumática de solo, vegetais, ou matéria orgânica contaminada com o fungo. A transmissão zoonótica tem sido reportada em caçadores de tatus e em associação com gatos infectados. Entre 1998 e 2001, um grande surto de esporotricose transmitida por gatos envolvendo 178 pacientes foi moderado no Rio de Janeiro, Brasil.

Síndromes Clínicas

A esporotricose linfangítica classicamente aparece após o trauma local em uma extremidade. O local inicial da infecção aparece como um nódulo pequeno, que pode se ulcerar. Secundariamente, nódulos linfáticos aparecem em cerca de 2 semanas após o aparecimento da lesão primária que consistem de uma cadeia linear de nódulos subcutâneos indolores que se estendem ao longo do curso da drenagem linfática da lesão primária (Fig. 72-1). Com o tempo, os nódulos podem se ulcerar e liberar pus. As lesões cutâneas primárias podem permanecer “fixas” sem disseminação linfangítica. Clinicamente, estas lesões são nodulares, verrucoides e ulcerativas e grosseiramente, podem lembrar um processo maligno como carcinoma de células escamosas. Outras causas infecciosas de linfangite e lesões ulcerativas que devam ser excluídas incluem infecções por micobactérias e nocardias.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico definitivo usualmente requer cultura do pus ou do tecido infectado. *S. schenckii* cresce em 2 a 5 dias em uma variedade de meios micológicos e aparece como leveduras com brotamento a 35° C e como um fungo filamentoso a 25° C (Figs. 72-2 e 72-3). A confirmação laboratorial pode ser estabelecida por conversão do crescimento da fase filamentosa (micelial) à forma de levedura por subcultura a 37° C ou imunologicamente através da utilização do teste do exoantígeno. Em tecido, o organismo aparece como leveduras pleomórficas de 2 a 10µm, com brotamento (Fig. 72-3), mas são raramente observadas em lesões humanas. O aparecimento de material de Splendore-Hoeppli ao redor das células leveduriforme (corpo asteroide) pode ser útil (Fig. 72-4) mas isto é visto também em outros tipos de infecção (Tabela 72-1).

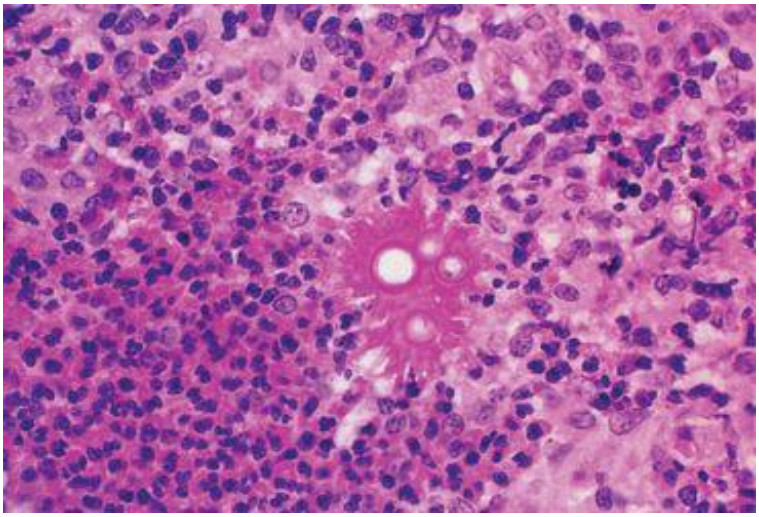


Figura 72-4 Corpo asteroide na esporotricose. As células leveduriformes esféricas são circundadas por material eosinofílico Splendore-Hoeppli (H&E, × 160).

(De Connor DH, et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Tratamento

O tratamento clássico da esporotricose linfocutânea é o iodeto de potássio em solução saturada, via oral. A eficácia e o baixo custo desta medicação fizeram dela opção favorável especialmente em países em desenvolvimento; contudo, deve ser administrada diariamente por 3 a 4 semanas e tem efeitos adversos frequentes (náusea, hipertrofia das glândulas salivares). O itraconazol tem se mostrado seguro e altamente eficaz em pequenas doses sendo o tratamento de escolha atual. Àqueles pacientes que não respondem bem, pode tomar doses maiores de itraconazol, terbinafina, ou iodeto de potássio. O fluconazol deve ser usado somente se o paciente não tolerar esses outros agentes. A remissão espontânea é rara, mas foi observada em 13 dos 178 casos no Brasil. A aplicação local de calor também se mostrou eficaz.

Cromoblastomicose (Caso Clínico 72-2)

A cromoblastomicose (cromomicose) é uma infecção fúngica crônica que afeta a pele e os tecidos subcutâneos. É caracterizada pelo desenvolvimento de nódulos ou placas verrucosas de crescimento lento (Fig. 72-5). A cromoblastomicose é mais comumente observada nos trópicos, onde o calor e o ambiente úmido, associados à falta de calçados protetores e roupas, predispõem as pessoas à inoculação direta com solo ou matéria orgânica infectados. Os organismos mais comumente associados com a cromoblastomicose são fungos pigmentados (demáceos) dos gêneros *Fonsecaea, Cladosporium, Exophiala, Cladophialophora, Rhinocladiella* e *Phialophora* (Tab. 72-1)

Caso Clínico 72-2 Cromoblastomicose

Marques et al. (Med Mycol 42:261, 2004) descreveram o caso de um fazendeiro do Brasil, com 52 anos de idade, que se apresentou com queixas de lesões na pele pruriginosas e escuras. O problema apareceu 2 anos antes e progrediu lentamente desde então. O paciente ignorava um trauma prévio, mas se lembrou da picada de inseto em seu braço esquerdo. Inicialmente, a lesão que se desenvolveu no local era uma pápula pequena, elevada e eritematosa. Mais tarde, um novo foco de lesões apareceram na perna esquerda e, mais recentemente, na testa e lado esquerdo da face. O exame físico revelou lesões extensivas em placas escamosas situadas em diferentes locais na face, braço e perna. O exame direto com KOH das biópsias das lesões revelou numerosas células escleróticas pigmentadas, redondas e bilateralmente divididas (corpos de Medlar), se confirmando o diagnóstico clínico de cromoblastomicose. Nas culturas da biópsia cresceu um bolor com pigmento escuro que foi identificado, com base nas características conidiogênicas como *Rhinocladiella aquaspersa*. As lesões regrediram após terapia com cetoconazol, com diminuição dos sintomas pruriginosos. Infelizmente o paciente não retornou. A cromoblastomicose causada por *R. aquaspersa* é relativamente incomum. Além disso, este caso é raro, uma vez que as lesões estavam dispersas em três diferentes regiões anatômicas. Notavelmente, a ocorrência de lesões faciais é muito incomum.

Figura 72-5 Cromoblastomicose do pé e da perna.

(De Connor DH, et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Morfologia

Os fungos que causam a cromoblastomicose são todos demáceos (pigmentados naturalmente), porém morfologicamente diversos, e muitos são capazes de produzir várias diferentes formas quando crescem em cultura. Por exemplo, espécies de *Exophiala* podem crescer como um fungo filamentoso e formar células produtoras de conídios denominadas **anelídios** e também como levedura que pode aparecer em colônias recentemente isoladas. Embora a forma básica destes organismos seja um fungo filamentoso septado pigmentado, os diferentes mecanismos de esporulação produzidos em cultura tornam difícil a identificação específica.

Em oposição à morfologia diversa observada em cultura, todos os fungos que causam a cromoblastomicose formam caracteristicamente células muriformes (corpos escleróticos, corpúsculos de Medlar) que são castanhas devido à melanina em suas paredes celulares (Fig. 72-6; Tab. 72-1). As células muriformes se dividem por septação interna e aparecem como células com linhas verticais e horizontais dentro do mesmo ou de diferentes planos (semelhante a um muro) (Fig. 72-6). Além das células muriformes, hifas pigmentadas também podem estar presentes. As células fúngicas podem estar livres no tecido, mas muitas vezes estão no interior de macrófagos ou de células gigantes.

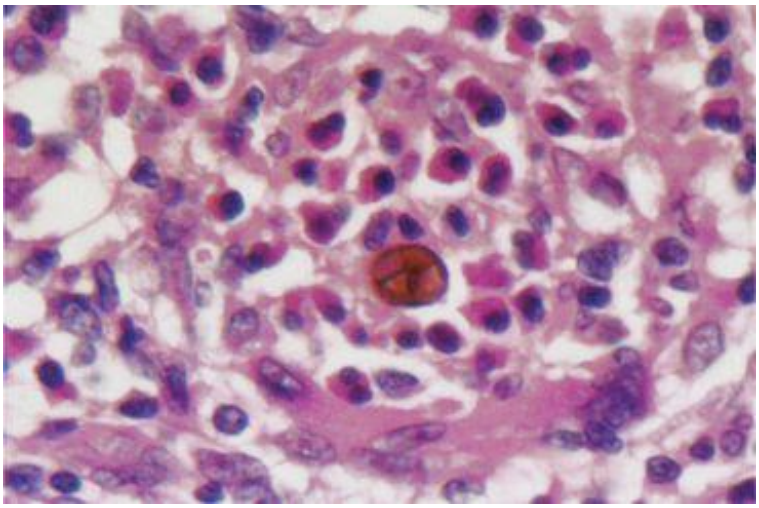


Figura 72-6 Célula muriforme pigmentada de marrom, ou corpo Medlar, da cromoblastomicose (H&E, × 250).

(De Connor DH, et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

A cromoblastomicose afeta, geralmente, pessoas que trabalham em áreas rurais dos trópicos. Os agentes etiológicos crescem em plantas silvestres e no solo. A maioria das infecções tem ocorrido em homens envolvendo as pernas e braços, provavelmente devido à exposição ocupacional. Outros locais do corpo incluem ombro, pescoço, tronco, nádegas, face e orelhas. Os fatores climáticos locais podem influenciar na distribuição de diferentes infecções e diversos agentes etiológicos. Por exemplo, em Madagascar, as infecções causadas por *Fonsecaea pedrosoi* são vistas em áreas de alta precipitação pluviométrica (200 a 300cm anualmente), enquanto que na mesma ilha, as infecções causadas por *Cladophialophora carrionii* ocorrem em áreas de pouca precipitação pluviométrica (50 a 60cm anualmente). Nas Américas, *F. pedrosoi* é a principal causa de cromoblastomicose, e as lesões envolvem comumente as extremidades inferiores. Em contraste, na Austrália a causa mais comum é *C. carrionii*, e as lesões são mais frequentes nos membros superiores, especialmente nas mãos. Não há nenhum relato de transmissão pessoa a pessoa.

Síndromes Clínicas

A cromoblastomicose tende a ser crônica, pruriginosa, progressiva, indolores e resistente ao tratamento. Em muitos casos, os pacientes não se apresentam até a infecção estar bem estabelecida. As lesões iniciais são pequenas pápulas verrugosas e, em geral, aumentam lentamente. Há formas morfológicas diferentes da doença, variando desde lesões verrugosas a placas planas. As infecções estabelecidas se apresentam com múltiplas verrugas grandes, semelhantes a uma “couve-flor”, geralmente agrupadas dentro da mesma região (Fig. 72-5). Lesões satélites podem ocorrer secundariamente à autoinoculação. Lesões em placa mostram, muitas vezes, cicatrização central enquanto elas aumentam. Ulceração e formação de cisto podem ocorrer. As lesões grandes não apresentam hiperqueratose, e o membro é grosseiramente distorcido devido à fibrose e ao linfoedema secundário (Fig. 72-5). Infecção bacteriana secundária também pode ocorrer e contribui para uma linfadenite regional, linfoestase e eventual elefantíase.

Diagnóstico Laboratorial

A apresentação clínica (Fig. 72-5), os achados histopatológicos das células muriformes castanhas (Fig. 72-6) e o isolamento em cultura de um dos fungos causais (Tab. 72-1) confirmam o diagnóstico. Raspados obtidos da superfície das lesões verrugosas, em que pequenos pontos negros são observados, quando montados em KOH 20%, podem resultar na demonstração das células características. Amostras de biópsia coradas com H&E (Cap. 69) também mostrarão o organismo presente na epiderme ou em microabscessos contendo macrófagos e células gigantes. A reação inflamatória é tanto supurativa como granulomatosa, com fibrose dérmica e hiperplasia pseudoepiteliomatosa. Os organismos são facilmente cultivados da lesão, embora sua identificação possa ser difícil. Não há testes sorológicos disponíveis para cromoblastomicose.

Tratamento

O tratamento com terapia antifúngica específica é, muitas vezes, ineficaz, devido ao estágio avançado da infecção no momento da apresentação. As drogas que parecem ser mais eficazes são itraconazol e terbinafina. Mais recentemente, o posaconazol está sendo utilizado com sucesso moderado. Estes agentes são, muitas vezes, combinados com a flucitosina em casos refratários. Num esforço para aumentar a resposta ao tratamento, são feitas várias tentativas de aplicação, nas lesões maiores, de calor ou crioterapia local antes da administração dos agentes antifúngicos. Devido ao risco de desenvolvimento recorrente dentro da cicatriz, as cirurgias não são indicadas. Carcinomas de células escamosas podem se desenvolver em lesões de longa duração, e aqueles com áreas atípicas ou florescimento carnudo devem ser biopsiados para excluir esta complicação.

Micetoma Eumicótico

Os micetomas eumicóticos são aqueles causados pelos fungos verdadeiros, contrariamente aos micetomas actinomicóticos, que são causados por actinomicetos aeróbicos (bactérias). Esta seção tratará apenas dos micetomas eumicóticos.

Como a cromomicose, a maioria dos micetomas eumicóticos ocorre nos trópicos. Um micetoma é definido clinicamente, como um processo infeccioso localizado, crônico e granulomatoso que envolve os tecidos cutâneos e subcutâneos. É caracterizado pela formação de múltiplos granulomas e abscessos que contêm grandes agregados de hifas fúngicas, conhecidos como **grânulos** ou **grãos**. Estes grãos contêm células que têm modificações marcadas de estrutura interna e externa, variando desde reduplicações da parede celular à formação de uma matriz extracelular dura, semelhante a cimento. Os abscessos drenam externamente através da pele, muitas vezes com eliminação dos grânulos. O processo pode ser bastante extenso e deformativo, com destruição do músculo, tecido conjuntivo e ossos. Os agentes etiológicos do micetoma eumicótico abrangem uma ampla variedade de fungos, incluindo *Phaeoacremonium, Curvularia, Fusarium, Madurella, Exophiala, Pyrenochaeta, Leptosphaeria* e espécies de *Scedosporium* (Tab. 72-1).

Morfologia

Os grânulos dos micetomas eumicóticos são compostos de hifas septadas de 2 a 6µm ou mais de largura, demáceas demaciáceas (grãos pretos), ou hialinas (grãos brancos ou brancos-amarelados), dependendo do agente etiológico (Fig. 72-7). As hifas são frequentemente distorcidas e irregulares em relação à forma e ao tamanho. Clamidoconídios grandes, esféricos e de parede espessa estão, muitas vezes, presentes. As hifas podem estar inseridas em uma substância amorfa semelhante a cimento. Material Splendore-Hoeppli muitas vezes observado entre os elementos micelianos na periferia do grânulo. Os grânulos eumicóticos podem ser diferenciados dos grânulos actinomicóticos baseado nas características morfológicas (filamentos ramificados *versus* hifas septadas e clamidoconídios) e de coloração (bastonetes em cadeia Gram positivos *versus* hifas PAS e GMS positivos) (Cap. 69). A cultura é geralmente necessária para uma identificação definitiva do fungo (ou actinomiceto) envolvido.

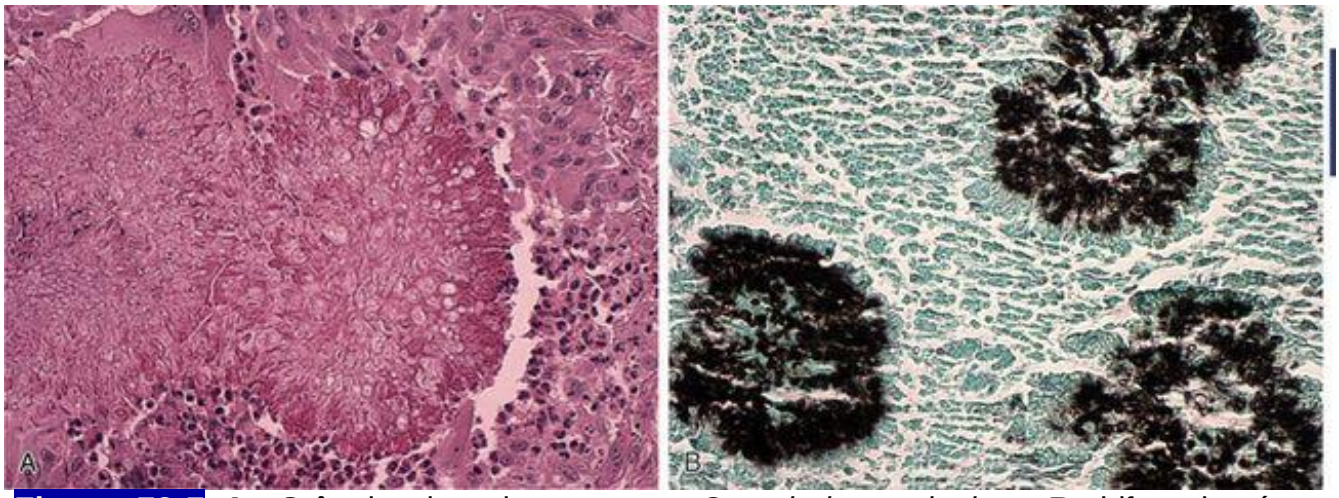


Figura 72-7 **A**, Grânulo de micetoma por *Curvularia geniculata*. **B**, hifas demáceas compactas e clamidoconídios inseridos no tecido.

Epidemiologia

Os micetomas ocorrem principalmente em áreas tropicais com baixos índices pluviométricos. Os micetomas eumicóticos são mais frequentes na África e na Índia, mas também têm sido observados no Brasil, Venezuela e no Oriente Médio. Todos os pacientes são infectados a partir de fontes na natureza, via implantação percutânea traumática do agente etiológico em partes expostas do corpo. O pé e a mão são mais comuns, mas também são vistas infecções no dorso, ombros e tórax. Os homens são afetados mais comumente que as mulheres. Os fungos que causam micetomas diferem de país para país, e os agentes que são comuns em uma região são raramente reportados de outras. Os micetomas não são contagiosos.

Síndromes Clínicas

Similar à cromoblastomicose, pacientes com micetoma eumicótico se apresentam mais comumente com infecção de longa duração. A lesão inicial é um nódulo ou placa subcutânea pequena e indolor que aumenta lenta, mas progressivamente, em tamanho. Enquanto o micetoma se desenvolve, a área afetada aumenta gradualmente e se torna desfigurada como resultado da inflamação crônica e da fibrose. Com o tempo, tratos sinusais aparecem sobre a superfície da pela e drenam um líquido serossanguinolento que contém, muitas vezes, grânulos grosseiramente visíveis. A infecção comumente rompe planos teciduais e destrói localmente, o músculo e o osso. A disseminação hematógena ou linfática a partir do foco primário a locais distantes ou víscera é extremamente rara.

Diagnóstico Laboratorial

A chave para o diagnóstico do micetoma eumicótico é a demonstração dos grãos ou grânulos. Os grãos podem ser grosseiramente visíveis na drenagem dos tratos sinusais ou observados em uma lâmina de vidro. O material também pode ser obtido por biópsia cirúrgica profunda.

Os grãos podem ser visualizados microscopicamente por montagem em KOH 20%. As hifas são, em geral, claramente visíveis, com presença ou ausência de pigmentação. Os grãos podem ser lavados e cultivados ou fixados e seccionados para histopatologia.

Os grãos são facilmente visualizados no tecido corado com H&E (Fig. 72-7). Corantes especiais como PAS e GMS também podem ser úteis. Embora a cor, a forma, o tamanho e a morfologia microscópica sejam características de um agente causal específico, a cultura é, em geral, necessária para a identificação definitiva do organismo. A maioria dos organismos cresce em meio micológico padrão; contudo, a inclusão de um antibiótico, como a penicilina, pode ser útil para inibir bactérias contaminantes que podem crescer sobre o fungo.

Tratamento

O tratamento do micetoma eumicótico é, geralmente, sem sucesso. A resposta dos vários agentes etiológicos à anfotericina B, cetoconazol ou itraconazol é variável e, muitas vezes, fraca, embora tais terapias possam diminuir o curso da infecção. Respostas promissoras de tratamento têm sido atualmente reportadas para terbinafina, voriconazol e posaconazol. A excisão local é geralmente ineficaz ou impossível, e a amputação é o único tratamento definitivo. Como estas infecções são, em geral, lentamente progressivas e podem ser reduzidas por uma terapia antifúngica específica, a decisão de amputação deve levar em consideração a rapidez da progressão, a sintomatologia, a disponibilidade de prótese adequada, e as circunstâncias individuais do paciente. Por todas estas razões, é imperativo diferenciar o micetoma eumicótico do micetoma actinomicótico. A terapia médica é geralmente efetiva nos casos de micetoma actinomicótico.

Zigomicose Subcutânea

A zigomicose subcutânea, também conhecida como **entomoftoromicose**, é causada por zigomicetos da ordem Entomophtorales: *Conidiobolus coronatus* e *Basidiobolus ranarum (haptosporus)* (Tab. 72-1). Ambos causam uma forma subcutânea crônica de zigomicose que ocorre esporadicamente como resultado de implantação traumática do fungo presente em detritos vegetais de ambientes tropicais. Eles diferem por ocasionar infecções com diferentes localizações anatômicas. *B. ranarum* causa infecção dos membros proximais em crianças, enquanto que a infecção por *C. coronatus* se localiza na área facial, predominantemente em adultos (Figs. 72-8 e 72-9).

Figura 72-8 Zigomicose subcutânea causada por *Conidiobolus coronatus*.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Figura 72-9 Zigomicose subcutânea causada por *Basidiobolus ranarum*. A coxa direita está extensivamente inchada e endurecida.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Morfologia

A aparência dos agentes da zigomicose subcutânea em tecido difere daquela dos zigomicetos da família *Mucoraceae*. As hifas são escassas e muitas vezes aparecem com fragmentos de hifas rodeados por material eosinofílicos (Splendore-Hoeppli) (Fig. 72-10). A resposta inflamatória é granulomatosa e rica em eosinófilos. Os fragmentos de hifas são de parede fina e se coram fracamente. Embora os septos não sejam frequentes, podem ser mais proeminentes que os observados na família *Mucoraceae*. As hifas de *Entomophthoraceae* não são angioinvasivas.

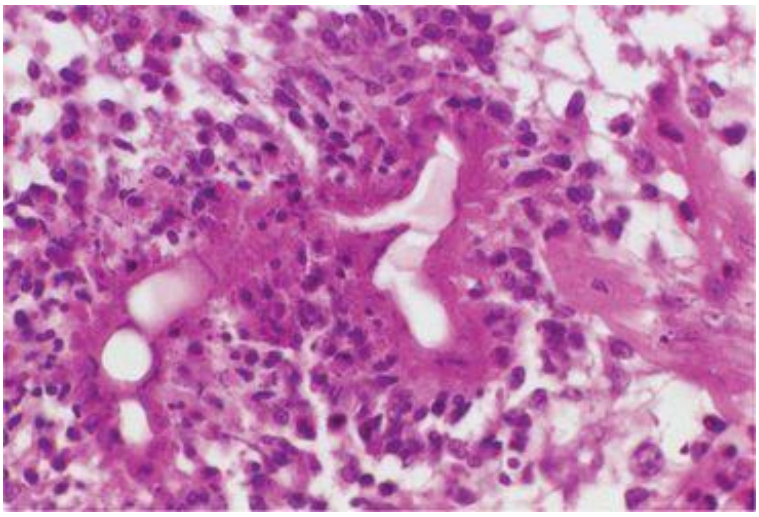


Figura 72-10 Zigomicose subcutânea. Fragmentos de hifas largas cercadas por material eosinofílico (Splendore-Hoeppli) (H&E, × 160).

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Epidemiologia

Ambos os tipos de zigomicose subcutânea são observados mais comumente na África e, numa extensão menor, na Índia. A infecção causada por *B. ranarum* também tem sido reportada no Oriente Médio, na Ásia e na Europa, enquanto que a causada por *C. coronatus* tem sido reportada na América Latina, como na África e Índia. Ambos os fungos são saprófitos que estão presentes nas folhas e detritos vegetais. *B. ranarum* também tem sido encontrado no conteúdo intestinal de pequenos répteis e anfíbios. Ambas são doenças raras sem fatores predisponentes conhecidos (p. ex., acidose ou imunodeficiência). A infecção por *B. ranarum* acontece após implantação traumática do fungo nos tecidos subcutâneos das coxas, nádegas e tronco. Esta forma de zigomicose subcutânea atinge principalmente crianças (80% com menos de 20 anos de idade) com uma relação homem-mulher de 3:1. As infecções por *C. coronatus* ocorrem após inalação dos esporos fúngicos, que invadem os tecidos da cavidade nasal, os seios paranasais e os tecidos moles faciais. Há uma relação homem-mulher de 10:1, e a doença é observada predominantemente entre adultos jovens. A infecção entre crianças é rara.

Síndromes Clínicas

Os pacientes infectados com *B. ranarum* têm massas discoides, flexíveis e móveis que podem ser muito grandes e são localizadas no ombro, na pelve, nos quadris e nas coxas (Fig. 72-9). As massas podem se expandir localmente e eventualmente se ulcerar. A disseminação ou o envolvimento de estruturas mais profundas é raro. Basidiobolomicose gastrintestinal tem sido recentemente reportada no sudoeste dos Estados Unidos.

A infecção por *C. coronatus* é confinada à área rinofacial e, muitas vezes, não chama a atenção do clínico até que ocorra tumefação evidente da parte superior do lábio ou da face (Fig. 72-8). A tumefação é firme e indolor e pode progredir lentamente envolvendo a ponte nasal e a parte superior e inferior da face, inclusive a órbita. A deformidade facial pode ser bastante dramática; contudo, devido à falta de angioinvasão, a extensão intracraniana não ocorre.

Diagnóstico Laboratorial

Ambos os tipos de zigomicose subcutânea requerem biópsia para o diagnóstico, apesar dos aspectos clínicos característicos das infecções. O quadro histopatológico é o mesmo para estes organismos (Fig. 72-10) e é marcado por zonas focais de inflamação, com eosinófilos e hifas zigomicóticas típicas, muitas vezes, rodeadas por material eosinofílico de Splendore-Hoeppli. Os organismos podem ser cultivados do material clínico em meio micológico padrão.

Tratamento

Os dois tipos de infecção podem ser tratados com itraconazol. Alternativamente, tem sido utilizado iodeto de potássio via oral. A cirurgia facial reconstrutiva pode ser necessária no caso de infecção por *C. coronatus*; uma extensiva fibrose permanece após a erradicação do fungo.

Feo-hifomicose Subcutânea (Caso Clínico 72-3)

Feo-hifomicose é um termo utilizado para descrever um conjunto heterogêneo de infecções fúngicas causadas por fungos pigmentados ou demáceos, presentes em tecidos como hifas irregulares (Fig. 72-11) ao invés de células muriformes escleróticas vistas na cromoblastomicose (Tab. 72-1 e Fig. 72-6). Estas infecções podem ser causadas por uma ampla variedade de fungos, todos existentes na natureza como saprófitas do solo, da madeira e vegetação em decomposição. Os processos podem ser superficiais, subcutâneos, ou profundamente invasivos ou disseminados. As formas superficiais (Cap. 71) e profundamente invasivas (Cap. 74) são discutidas em seus respectivos capítulos. A forma subcutânea é discutida nesta seção.

Caso Clínico 72-3 Feo-hifomicose em Paciente com Transplante Renal

Marques et al. (Med Mycol 44:671, 2006) descreveram um caso de feo-hifomicose em um receptor de transplante renal. O paciente era um homem diabético de 49 anos de idade, que, durante 5 anos, foi aplicada terapia imunossupressiva com prednisona e ciclosporina logo após o transplante renal. Ele se apresentou com história de 1 ano de lesões fistulosas no pé. O paciente negou qualquer história de trauma no local, porém, tinha trabalhado em atividades rurais até a ocasião da queixa inicial. Foi tratado para presumida infecção bacteriana, sem resposta. O exame dermatológico revelou dois tumores císticos confluentes no dorso do pé esquerdo, com pontos de drenagem emitindo uma secreção serossanguinolenta. O exame local mostrou somente uma lesão hipodensa circunscrita. Uma aspiração com agulha e uma ampla biópsia foram feitas para confirmar o diagnóstico presumido de feo-hifomicose. O exame histopatológico revelou um infiltrado inflamatório extenso e raras hifas. A cultura do material de biópsia revelou um fungo filamentoso de crescimento lento com uma coloração de bege a acastanhada. O organismo foi finalmente identificado como *Phaeoacremonium parasiticum* através de uma combinação da morfologia e dos métodos de identificação molecular. O paciente foi tratado com itraconazol associado com irrigação local e diminuição na dosagem de ciclosporina A obtendo uma resposta satisfatória.

Este caso ilustra uma aparente tendência, de pacientes transplantados imunocomprometidos, com infecções localizadas por *P. parasiticum* de ter adquirido tal infecção sem traumatismo reconhecido. Não está claro se estas infecções são adquiridas via fissuras menores na pele ou inalação ou ingestão de uma partícula infecciosa, com subsequente translocação aos vasos capilares subcutâneos, quando a temperatura é diminuída ligeiramente ou outras condições locais que podem favorecer o crescimento.

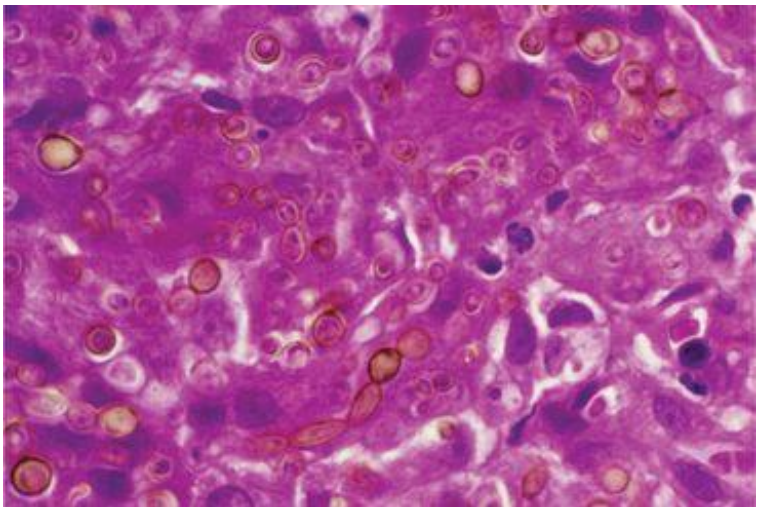


Figura 72-11 Feo-hifomicose subcutânea. Células leveduriformes demáceas e hifas septadas de *Exophiala spinifera* (H&E, × 250).

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Morfologia

Os agentes da feo-hifomicose subcutânea são numerosos e diversos (Tab. 72-1), mas todos crescem como fungos filamentosos negros em cultura e aparecem como hifas irregulares com paredes escuras e formas semelhantes a leveduras em tecido (Fig. 72-11). As hifas variam de 2 a 6µm de largura e podem ser ramificadas, septadas e, muitas vezes, comprimidas no ponto de septação. Tumefações vesiculares estranhas e de paredes espessas podendo ser maiores que 25µm de diâmetro podem estar presentes, como estruturas leveduriformes com brotamento. A pigmentação da parede celular varia de clara a escura e pode necessitar de corantes especiais como o corante de melanina de Fontana-Masson para confirmar a natureza demácea do fungo. Em cultura, os diferentes fungos crescem como fungos filamentosos negros ou marrons e são identificados pelas estruturas de reprodução.

Epidemiologia

Mais de 20 diferentes fungos demáceos têm sido citados como causas da feo-hifomicose subcutânea. Os agentes etiológicos mais frequentes são *Exophiala jeanselmei, Alternaria, Curvularia, Phaeoacremonium* e *Bipolaris* spp. (Tab. 72-1). Como estes fungos são encontrados no solo e em detritos vegetais, a rota de infecção parece ser secundária à implantação traumática do fungo. De fato, fragmentos de madeira têm sido encontrados em material histopatológico, sugerindo o modo de inoculação e, possivelmente, que a formação do cisto feo-hifomicótico característico é uma reação à implantação. Não há explicação porque alguns organismos produziram cistos feo-hifomicótico e outros se desenvolveram em micetomas.

Síndromes Clínicas

Mais comumente, a feo-hifomicose subcutânea se apresenta como um cisto inflamatório solitário. As lesões ocorrem, geralmente, nos pés e nas pernas, embora as mãos e outros locais do corpo possam ser envolvidos. As lesões aumentam lentamente e se expandem num período de meses ou anos. Podem ser firmes ou flutuantes e são em geral indolores. Se localizadas próximo a uma articulação, podem ser confundidas com um cisto sinovial e se tornarem grandes o suficiente para interferirem com os movimentos. Outras manifestações incluem a formação de lesões pigmentadas em placa que são endurecidas e indolores.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é feito baseado na excisão cirúrgica do cisto. No exame histopatológico, a aparência é de um cisto inflamatório com uma cápsula fibrosa, reação granulomatosa e necrose central. Os elementos fúngicos demáceos individuais ou agrupados são vistos dentro de células gigantes e extracelularmente no meio dos detritos necróticos (Fig. 72-11). Geralmente, a pigmentação é facilmente observada no exame de tecido corado por H&E. Os organismos podem crescer em cultura e identificados por seus padrões de reprodução.

Tratamento

O tratamento principal é a excisão cirúrgica. As lesões semelhantes a placas podem não ser tratáveis com esta abordagem e em geral respondem ao tratamento com itraconazol concomitante ou não com flucitosina. Posaconazol, voriconazol e terbinafina também podem ser ativos contra este grupo de fungos.

Estudo de Caso e Questões

Uma ecoturista de 40 anos de idade estava numa viagem prolongada nas florestas da Costa Rica. Neste período, ela acampou, subiu em árvores, atravessou rios, andou através da lama e suportou ficar encharcada na chuva. Ela perdeu seus sapatos em aproximadamente 2 semanas de sua "aventura" e continuou sua longa caminhada descalça por outras 2 semanas, durante as quais teve pequenos cortes e abrasões nos pés. Aproximadamente 6 meses após seu retorno, no centro-oeste dos Estados Unidos, observou uma tumefação branda em seu pé direito. Não sentia dor, inflamação ou drenagem do pé. Ela veio até você para um aconselhamento médico.

1. Qual é o diagnóstico diferencial deste processo?

O diagnóstico diferencial deste processo inclui um processo bacteriano subagudo devido a bactérias aeróbias e anaeróbias Gram positivas e Gram negativas, infecção devido à micobactéria não tuberculose, micetoma actinomicótico, ou um micetoma eumicótico.

2. Quais tipos de fungos poderiam causar esta infecção?

A lista dos fungos mais prováveis envolvidos em tal processo é extensa e inclui *Acremonium, Fusarium, Scedosporium, Madurella, Exophiala* spp., entre outros.

3. Como você procederia para o estabelecimento do diagnóstico?

A avaliação deste processo deve incluir radiografias da extremidade e exame microscópico direto de qualquer liquido de drenagem. Se fístulas estão presentes, elas devem ser examinadas para a presença de grânulos. Na ausência de drenagem ou de grânulos, uma biópsia cirúrgica profunda deve ser obtida. Rotina H&E, Gram, acidorresistência e colorações para fungos (p. ex., PAS ou GMS) devem ser realizadas. Drenagem, grânulos e material de biópsia devem ser cultivados para bactérias de rotina, BAAR e fungos (meios seletivos e não seletivos).

4. Quais são as opções terapêuticas e a probabilidade de que terão sucesso?

O tratamento de micetoma eumicótico geralmente é malsucedido, enquanto que a terapia (com agentes antibacterianos) é geralmente eficaz em casos de micetoma actinomicótico. A progressão de um micetoma eumicótico pode ser retardada pela administração de antifúngicos ativos sistemicamente como anfotericina B, terbinafina, cetoconazol e itraconazol. Eventualmente a amputação é o único tratamento definitivo, mas deve ser avaliada junto com a taxa de progressão, a sintomatologia, a disponibilidade de prótese

adequada e o estado geral do paciente.

Bibliografia

de Basto Lima Barros M, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: Description of a series of cases. *Clin Infect Dis*. 2004;38:529-535.

Chandler FW, Watts JC. Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago: ASCP, 1987.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange, 1997.

De Hoog GS, Vitale RG, et al. Bipolaris, Exophiala, Scedosporium, Sporothrix, and other dematiaceous fungi. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

De Hoog GS, et al. Fungi causing eumycotic mycetoma. In Murray PR, et al, editors: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Hay RJ. Cutaneous and subcutaneous mycoses. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Kauffman CA, et al. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2007;45:1255.

73 Micoses Sistêmicas devida a Fungos Dimórficos

Os fungos **dimórficos** são organismos que existem na forma de fungo filamentoso na natureza ou em laboratório, quando cultivados entre 25°C e 30°C e na forma de levedura ou esférula em tecido, ou quando cultivados em meios enriquecidos em laboratório a 37°C (Fig. 73-1). Os organismos neste grupo são considerados patógenos **sistêmicos** primários devido às suas habilidades em causar infecção em hospedeiros "normais" e imunocomprometidos e por suas propensões em envolver as vísceras após a disseminação do fungo a partir dos pulmões depois de sua inalação da natureza. Os patógenos dimórficos incluem *Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis e C. posadasii, Histoplasma capsulatum* var *capsulatum, H. capsulatum* var *duboisii, Paracoccidioides brasiliensis* e *Penicillium marneffei* (Tab. 73-1). Estes organismos também são conhecidos como patógenos **endêmicos**, uma vez que seu hábitat natural é delimitado a regiões geográficas específicas (Fig. 73-2) e a infecção gerada por estes fungos particulares é adquirida pela inalação de esporos daquele ambiente específico e localização geográfica (Tab. 73-1). *H. capsulatum, C. immitis* (*C. posadasii*) e *P. marneffei* emergiram como principais patógenos oportunistas em pessoas com AIDS e outras formas de imunossupressão. O reconhecimento destas micoses endêmicas pode ser dificultado pelo fato que elas podem se manifestar somente após o paciente ter deixado a área de endemicidade. Muitas vezes, a infecção pode ser quiescente e reativar somente quando o paciente se tornar imunossuprimido e vivendo numa área onde o fungo não é endêmico.

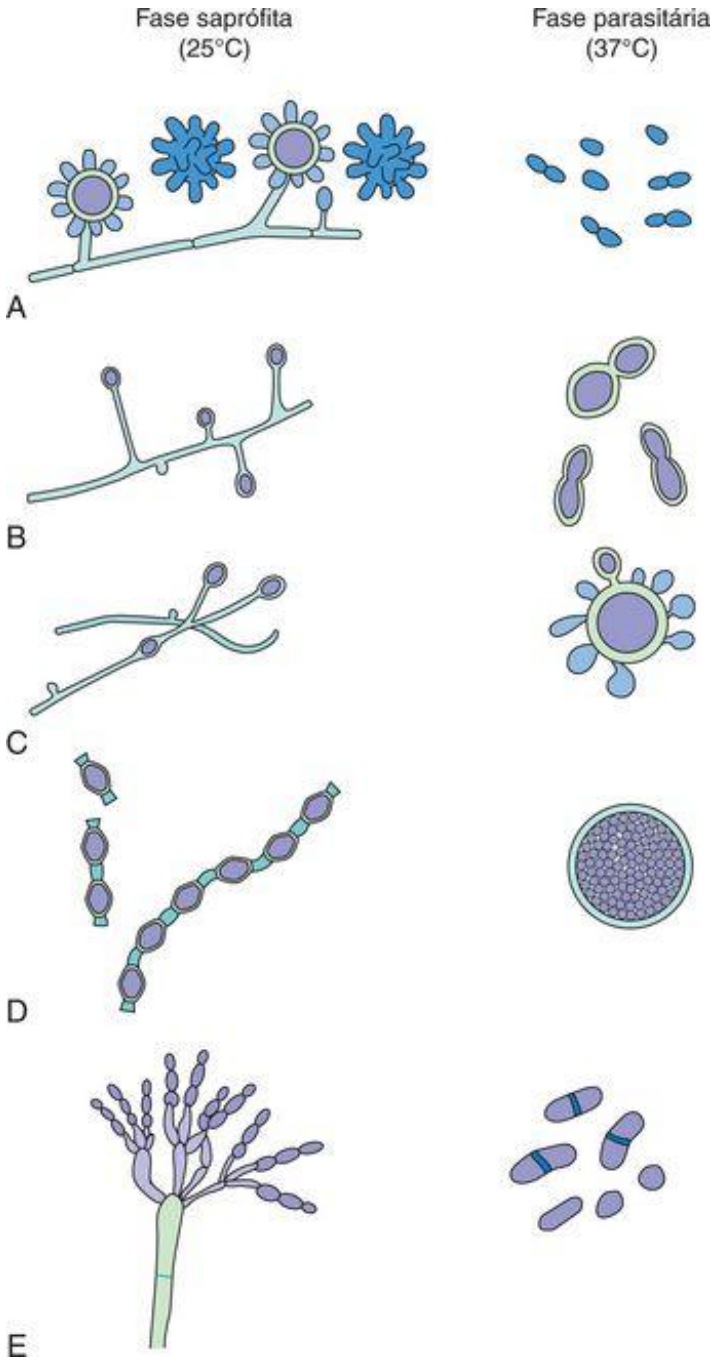


Figura 73-1 Fase saprófita e parasitária dos fungos dimórficos endêmicos. **A**, *Histoplasma capsulatum*; **B**, *Blastomyces dermatitidis*; **C**, *Paracoccidioides brasiliensis*; **D**, *Coccidioides immitis*; **E**, *Penicillium marneffei*.

Tabela 73-1 Características das Micoses Endêmicas Disfórmicas

Tabela 73-1. Características das Micoses Endêmicas Disfórmicas

Micose	Etiologia	Ecologia	Distribuição Geográfica	Morfologia no Tecido	Manifestações Clínicas
Blastomicose	*Blastomyces dermatitidis*	Material orgânico em decomposição	América do Norte (vales dos rios Ohio e Mississipi), África	Leveduras com brotamento de base larga (8-15µm de diâmetro)	Doença pulmonar (<50%), extrapulmonar: pele, osso, sistema genitourinário, sistema nervoso central; doença disseminada em pacientes imunocomprometidos
Coccidioidomicose	*Coccidioides immitis/ C. posadasii*	Solo, poeira	Sudeste dos Estados Unidos, México, América Central e do Sul	Esférulas (20-60µm) contendo endósporos (2-4µm)	Infecção pulmonar assintomática (60%) no hospedeiro normal; infecção pulmonar progressiva e disseminação (pele, osso, articulações, meninges) nos pacientes imunocomprometidos
Histoplasmose capsulatum	*Histoplasma capsulatum* var *capsulatum*	Solo com alto conteúdo de nitrogênio (excrementos de pássaros/morcegos)	América do Norte (vales dos rios Ohio e Mississipi), México, América Central e do Sul	Leveduras pequenas, ovais (2-4µm) com brotamentos de base estreita (intracelulares)	Infecção pulmonar assintomática (90%) no hospedeiro normal e exposição de pouca intensidade; doença disseminada no hospedeiro imunocomprometido e em crianças.
Histoplasmose duboisii	*Histoplasma capsulatum* var *duboisii*	Solo com alto conteúdo de nitrogênio	Áreas tropicais da África	Leveduras maiores (8-15 µm) com parede espessa com brotamento, istmo proeminente e cicatriz no brotamento	Baixa frequência de doença pulmonar; frequência maior de envolvimento ósseo e cutâneo
Paracoccidioidomicose	*Paracoccidioides brasiliensis*	Provavelmente associado ao solo	América do Sul e Central	Leveduras com parede fina a moderadamente espessa com múltiplos brotamentos (15-30µm; roda de leme)	Doença pulmonar autolimitada; infecção pulmonar progressiva e disseminação (pele, mucosa, ossos, linfonodos, vísceras e meninges) mais comum em crianças e pacientes imunocomprometidos
Peniciliose marneffei	*Penicillium marneffei*	Solo, rato do bambu	Sudeste asiático	Leveduras globosas a alongadas em forma de salsicha (3-5µm) que são intracelulares e se dividem por fissão	Infecção disseminada (pele, tecidos moles, vísceras) mais comum naqueles com AIDS; parecida com histoplasmose, criptococose ou tuberculose

Adaptado de Perea S, Patterson TF: Endemic mycosis. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (Eds): Clinical Mycology, New York, Churchill Livingstone, 2003.

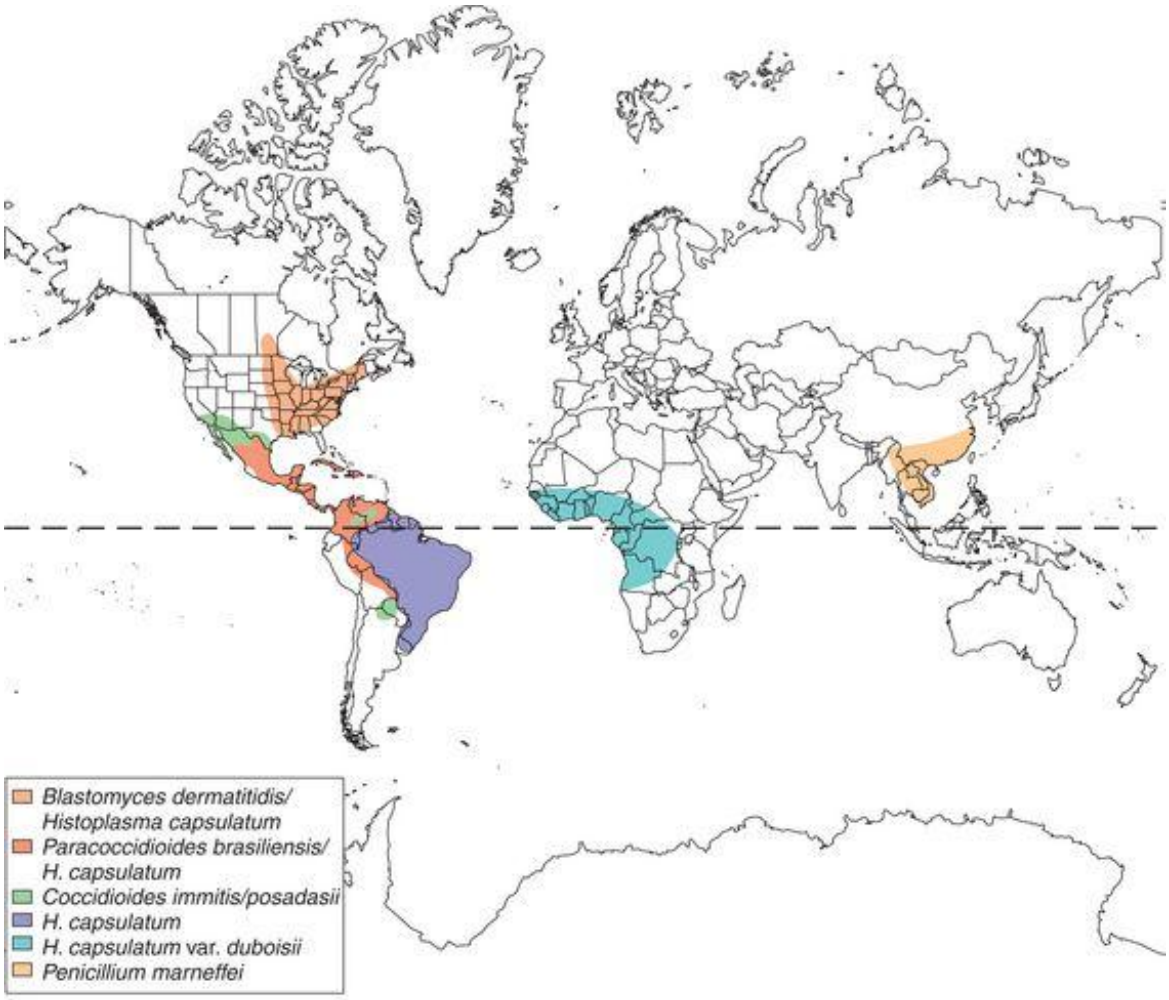


Figura 73-2 Distribuição regional geográfica das principais micoses endêmicas.

Blastomicose (Caso Clínico 73-1)

A blastomicose é uma infecção fúngica causada pelo fungo dimórfico *Blastomyces dermatitidis*. Como outras micoses endêmicas, esta infecção é confinada a regiões geográficas específicas; muitas infecções se originam na bacia do rio Mississipi, em torno dos Grandes Lagos, e na região Sudeste dos Estados Unidos (Fig. 73-2). Os casos também têm sido diagnosticados em outras partes do mundo, incluindo África, Europa e Oriente Médio.

Caso Clínico 73-1 Blastomicose do Sistema Nervoso Central

Buhari e colegas (Infect Med 24 (Suppl 8):12-14, 2007) reportaram um caso de blastomicose do sistema nervoso central (SNC). Um paciente masculino, desabrigado, de 56 anos de idade, de Detroit, apresentando histórico de 2 semanas de hemiparesia esquerda, afasia e cefaleia generalizada. Não há histórico de erupção, sintomas respiratórios ou febre. Seu histórico clínico era significativo para craniotomia esquerda, relata hemorragia intracranial devido a trauma há 30 anos. Ele vivia em um prédio abandonado e não estava utilizando qualquer medicamento. No exame, tinha expressiva afasia, novo início de hemiparesia esquerda e sopro carotídeo bilateral. O restante do exame físico não era relevante, como era a rotina bioquímica e parâmetros hematológicos. Ele era negativo para pesquisa de anticorpos contra HIV. O raios X de tórax não era relevante. Tomografia computadorizada contrastada de crânio demonstrou múltiplas lesões anulares aumentadas no lado direito do cérebro, circundado por edema vasogênico e desvio da linha média; significativa encefalomalácia e atrofia generalizada estavam presentes no lado esquerdo do cérebro.

A pesquisa de antígenos no soro e urina para *Cryptococcus* (soro) e *Histoplasma* (soro e urina) foram negativos. Testes cutâneos para tuberculina foi negativo e estudos de imagem de seios nasais, tórax e abdômen não eram relevantes.

Uma biópsia de cérebro foi realizada e exame histopatológico revelou inflamação granulomatosa, células em brotamento consistente com *Blastomyces dermatitidis*. Subsequente cultura confirmou o diagnóstico de blastomicose do sistema nervoso central. O paciente foi tratado com dexametasona e anfotericina B, mas desenvolveu hipertensão e bradicardia com subsequente parada cardiorrespiratória e óbito.

Este é um exemplo de uma apresentação incomum de blastomicose do sistema nervoso central sem qualquer evidência de doença disseminada. A síndrome clínica de hipertensão, bradicardia e parada cardiorrespiratória sugerem que o paciente morreu do aumento da pressão intracraniana, como complicação da infecção ou biópsia do cérebro.

Morfologia

Como um fungo dimórfico, *B. dermatitidis* produz células leveduriformes não encapsuladas no tecido e em cultura em meio enriquecido a 37°C e colônias de fungo filamentoso branco a acastanhado em meio micológico padrão a 25°C. A forma de fungo filamentoso produz conídios arredondados a ovais ou em forma de pera (2 a 10µm) localizado em ramos hifais terminais longos ou curtos (Fig. 73-3). As culturas mais velhas também podem produzir clamidoconídios de paredes espessas de 7 a 18µm de diâmetro. Esta forma de *B. dermatitidis* não diagnóstica pode não ser distinguivel de *Chrysosporium* spp. monomórfico ou de uma cultura inicial de *H. capsulatum*.

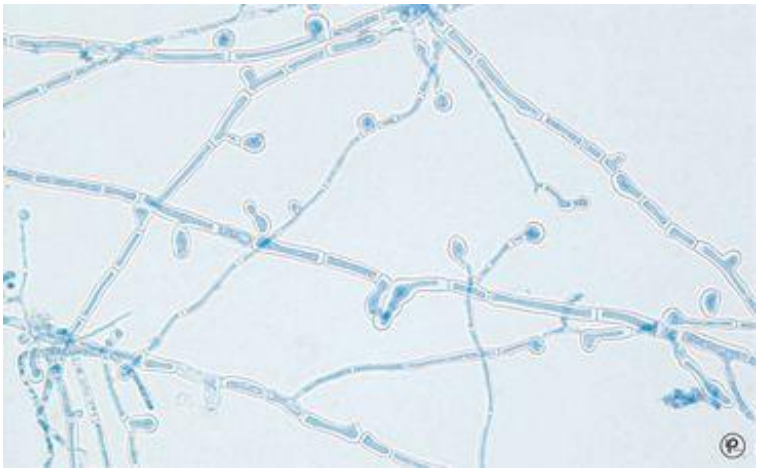


Figura 73-3 Fase de fungo filamentoso de *Blastomyces dermatitidis*. (Reimpresso de Indiana Pathology Images).

A forma de levedura de *B. dermatitidis* é vista no tecido e em cultura a 37°C. Esta forma é bastante distinta (Fig. 73-4). As células leveduriformes são esféricas, hialinas, de 8 a 15µm de diâmetro, multinucleadas e com paredes espessas e de contorno duplo. O citoplasma é frequentemente retraído da rígida parede celular como resultado do encolhimento durante o processo de fixação. As células leveduriformes se reproduzem pela formação de brotamentos ou **blastoconídios**. Estes brotamentos são, em geral, únicos e ligados a células-mãe por base larga (Fig. 73-4).

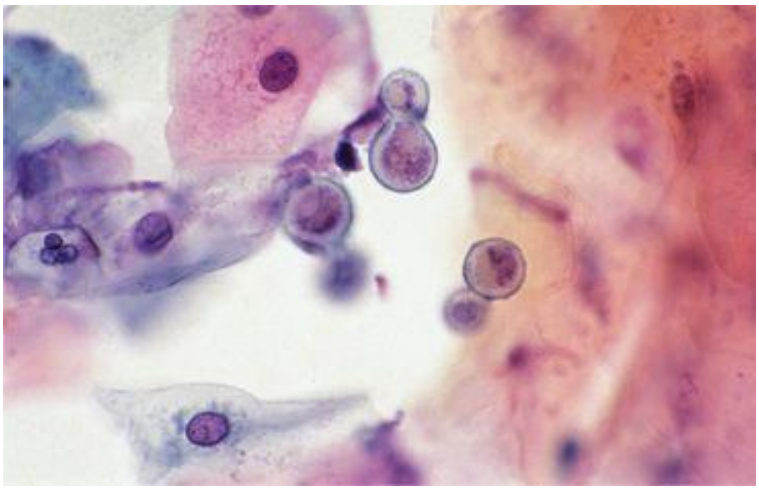


Figura 73-4 Coloração de Giemsa de *Blastomyces dermatitidis* mostrando leveduras com brotamento de base larga.

As formas de leveduras podem ser visualizas no tecido corado com hematoxilina e eosina

(H&E); entretanto, os corantes fúngicos de metenamina prata de Gomori (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS) ajudam a localizar os organismos e delinear suas morfologias.

Epidemiologia

O nicho ecológico de *B. dermatitidis* parece ser matéria orgânica em decomposição. Estudos no homem e nos animais indicam que a infecção é adquirida após a inalação de conídios aerossolizados produzidos pelo fungo que está crescendo no solo e nos detritos de folhas (Fig. 73-5). Os surtos de infecção têm sido associados a contato ocupacional e recreacional com o solo, e os indivíduos infectados incluem todas as idades e ambos os sexos. A blastomicose não é transmitida de paciente para paciente; entretanto, tem sido reportada a blastomicose cutânea primária e pulmonar, adquirida em laboratório.

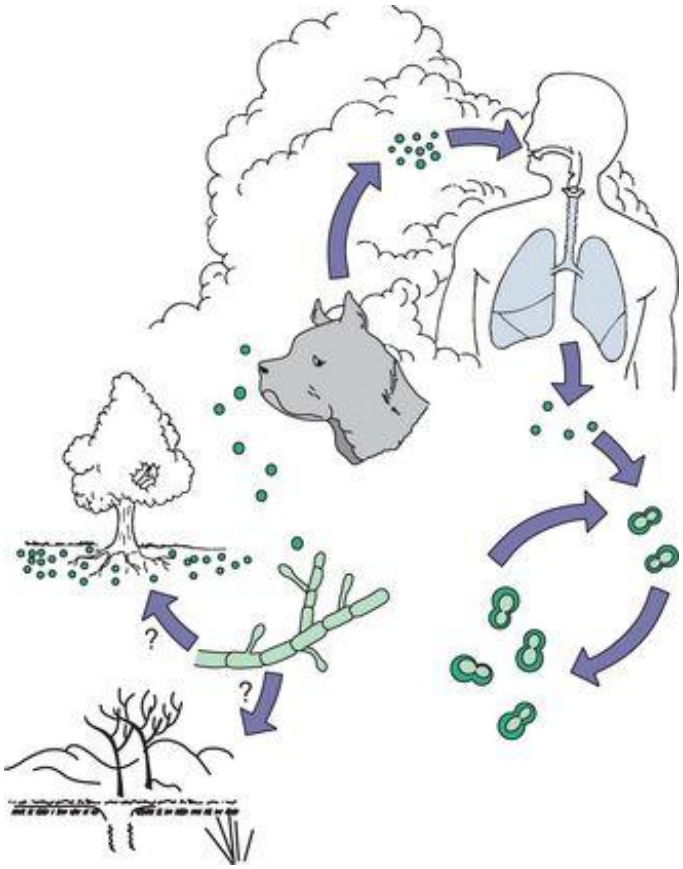


Figura 73-5 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprofita) e da levedura (parasita) de *Blastomyces dermatitidis*.

Na América do Norte a área de endemicidade se sobrepõe à da histoplasmose (Fig. 73-2) e inclui os Estados do Sudeste e do Centro-Sul, especialmente aqueles com limites nas bacias dos rios Ohio e Mississippi; os Estados do meio-oeste e as províncias canadenses com limites dos Grandes Lagos; e uma área em Nova York e Canadá junto a rio St. Lawrence. A blastomicose é também endêmica na África. Estima-se que de um a dois casos de blastomicose sintomática que necessitam de terapia ocorram por 100 mil habitantes por ano em áreas com doença endêmica. Entre os animais, os cães são mais suscetíveis; estima-se que a frequência de infecção seja 10 vezes maior que no homem.

Síndromes Clínicas

A via comum de infecção na blastomicose é a inalação de conídios (Fig. 73-5). Como na maioria das micoses endêmicas, a gravidade dos sintomas e o curso da doença são dependentes da extensão de exposição e o grau de imunidade do hospedeiro. Baseada amplamente nos estudos dos surtos de blastomicose, parece que a doença sintomática ocorre em menos da metade das pessoas infectadas. A doença clínica causada por *B. dermatitidis* pode se apresentar como doença pulmonar ou extrapulmonar disseminada. Entre aqueles pacientes com disseminação extrapulmonar, dois terços exibem envolvimento da pele e dos ossos. Outros locais de disseminação hematogênea incluem próstata, fígado, baço, rim e sistema nervoso central.

A blastomicose pulmonar pode ser assintomática ou se apresentar como doença branda semelhante ao resfriado. A infecção mais grave lembra a pneumonia bacteriana com início agudo, febre alta, infiltrados lobares e tosse. Pode ocorrer progressão para a síndrome do desconforto respiratório fulminante do adulto, com febre alta, infiltrados difusos e insuficiência respiratória. A forma respiratória subaguda ou crônica da blastomicose pode lembrar a tuberculose ou o câncer de pulmão com padrão radiológico de aglomerados de lesões pulmonares ou infiltrados fibronodulares.

Uma forma clássica de blastomicose é a de envolvimento cutâneo crônico. A forma cutânea da blastomicose é quase sempre o resultado da disseminação hematogênea do pulmão, em muitos casos sem lesões pulmonares evidentes ou sintomas sistêmicos. As lesões podem ser papulares, pustulares, ou indolentes, ulcerativo nodulares e verrucosas com superfícies encrostadas e margens serpiginosas elevadas. São geramente, indolores e estão localizadas em áreas expostas, como face, couro cabelo, pescoço e mãos. Podem ser confundidas com carcinoma de células epiteliais escamosas. Na ausência de tratamento, a blastomicose cutânea tem um curso crônico com remissões, exacerbações e aumento gradual no tamanho das lesões.

A blastomicose é relativamente incomum entre pessoas com AIDS ou outras condições imunossupressoras. Todavia, quando ocorre nestes indivíduos, ela tende a ser aguda, envolvendo o sistema nervoso central, e tem um prognóstico muito pior.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da blastomicose se baseia na detecção microscópica do fungo no tecido ou outro material clínico e com confirmação pela cultura (Tab. 73-2). As amostras mais adequadas para o diagnóstico da blastomicose pulmonar incluem escarro, lavado broncoalveolar ou biópsia de pulmão. O exame direto deve ser realizado de material corado com GMS, PAS, Papanicolau ou Giemsa. Desta mesma forma, preparados a fresco de escarro, líquido cefalorraquidiano, urina, pus, escamas de pele e esfregaços de impressão tecidual podem ser examinados diretamente utilizando calcoflúor e microscopia de fluorescência para detectar as formas características de leveduras. Quando células leveduriformes com típicos brotamentos de base larga estiverem presentes, o diagnóstico definitivo poderá ser feito.

Tabela 73-2 Diagnóstico das Micoses Endêmicas Disfórmicas

Tabela 73-2. Diagnóstico das Micoses Endêmicas Dimórficas

Micose	Cultura	Morfologia na Cultura		Histopatologia	Sorologia
		25°C	37°C		
Blastomicose	Escarro, LBA, tecido pulmonar, biópsia de pele	Fungo filamentoso com conídios arredondados a ovais ou em forma de pera (2-10µm de diâmetro)	Leveduras de parede espessa com brotamentos de base larga (8-15µm)	Leveduras com brotamentos de base larga	Anticorpos: FC, ID, EIA (baixa sensibilidade e especificidade) Antígeno: urina (desempenho indefinido)
Coccidioidomicose	Escarro, LBA, tecido	Fungo filamentoso com artroconídios em forma de barril (3-6µm)	NA	Esférulas (20-60µm) contendo endósporos	Anticorpos: TP, FC, ID, PL (diagnóstica e prognóstica)
Histoplamose (*H. capsulatum*)	Escarro, LBA, sangue, medula óssea, tecido	Fungo filamentoso com macroconídios tuberculados (8-15µm) e microconídios pequenos e ovais (2-4µm)	Leveduras pequenas com brotamento (2-4µm)	Leveduras intracelulares com brotamentos	Anticorpos: FC, ID, PL (diagnóstica e prognóstica)
Paracoccidioidomicose	Escarro, LBA, tecido	Fungo filamentoso com microconídios arredondados (2-3µm) e clamidósporos intercalados	Leveduras grandes com múltiplos brotamentos (15-30µm)	Leveduras grandes com múltiplos brotamento	Anticorpos: ID, FC (especificidade variável, FC útil para monitoramento da resposta)
Penicilliose mameffei	Sangue, medula óssea, tecido	Fungo filamentoso com pigmento vermelho difusível; conidióforos terminando em penicilus (pincel) evidente sustentando conídios lisos e elipsoidais).	Leveduras pleomórficas alongadas (1-8µm) com septos transversais	Leveduras intracelulares alongadas com septos transversais	Em desenvolvimento

LBA, lavado broncoalveolar; NA, não aplicável; FC, fixação do complemento; ID, imunodifusão; EIA, ensaio imunoenzimático; TP, precipitinas em tubo; PL, aglutinação de partícula de látex.

Deve ser realizada cultura do material clínico em meio micológico seletivo e não seletivo, ambos incubados entre 25°C e 30°C e a 37°C. A forma filamentosa do fungo é facilmente cultivada entre 25°C e 30°C; entretanto, o crescimento é lento, necessitando, muitas vezes, de 4 semanas ou mais. A forma miceliana (Fig. 73-3) não é diagnóstica, e a identidade deve ser confirmada pela conversão para a forma de levedura a 37°C, pelo teste do exoantígeno (detecção imunológica do antígeno A liberado pela célula), ou por hibridização com sonda de ácido nucleico. Deve-se tomar cuidado para manusear a cultura numa cabine de biossegurança apropriada, pois os conídios são infecciosos.

Ainda que os testes sorológicos para detectar os anticorpos direcionados aos antígenos de *B. dermatitidis* estejam disponíveis (Tab. 73-2) não são sensíveis e específicos e são de pouca utilização no diagnóstico. O teste para detectar o antígeno no soro e na urina está comercialmente disponível porém suas características no desempenho não são bem descritas e não está claro qual papel ele desempenha no diagnóstico.

Tratamento

A decisão em tratar pacientes com blastomicose deve levar em consideração a forma clínica, a gravidade da doença, a condição imune do paciente e a toxicidade dos agentes antifúngicos. Claramente, a blastomicose pulmonar em pacientes imunocomprometidos e naqueles com doença pulmonar progressiva deve ser tratada. Desta forma, todos os pacientes com evidência de disseminação hematogênea (p. ex., pele, osso, todos os sítios extrapulmonares) requerem terapia antifúngica. A anfotericina B é o agente de escolha no tratamento de doença meníngea ou com risco à vida. A doença branda ou moderada pode ser tratada com itraconazol. O fluconazol pode ser uma alternativa àqueles pacientes incapazes de tolerar o itraconazol. Dependendo da gravidade da doença e da condição do hospedeiro, os índices de sucesso terapêutico com anfotericina B ou terapia com azólicos variam de 70% a 95%. A sobrevivência dos pacientes com AIDS e outros pacientes imunocomprometidos é aproximadamente metade deste número. Os pacientes citados podem necessitar de terapia imunossupressora de longo prazo com itraconazol, numa tentativa de evitar a reincidência da infecção.

Coccidioidomicose (Caso Clínico 73-2)

A coccidioidomicose é uma micose endêmica causada por qualquer uma de duas espécies indistinguíveis, *C. immitis* e *C. posadasii*. A doença é causada pela inalação de artroconídios infecciosos (Fig. 73-6) podendo variar de uma infecção assintomática (na maioria das pessoas) para uma infecção progressiva e morte. As duas espécies diferem na distribuição geográfica e no genótipo: *C. immitis* está localizado na Califórnia, e *C. posadasii* é responsável pela maioria das infecções fora da Califórnia. Fora destas diferenças, não parece haver quaisquer diferenças adicionais no fenótipo ou na patogenicidade. Como tal, o nome mais familiar *C. immitis* será utilizado neste capítulo.

Caso Clínico 73-2 Coccidioidomicose

Stafford et al. (Infect Med 24 (suppl 8) 23-25, 2007) descreveram o caso de um soldado do exército americano, afro-americano de 31 anos de idade, apresentando febre, calafrios, sudorese noturna e tosse não produtiva de 4 semanas. Ele recentemente detectou uma massa indolor no tórax direito. Seu histórico médico não foi relevante. Estava lotado no Forte Irwin, California, onde trabalhava na manutenção de telefone. O exame físico não era relevante, exceto por uma massa firme, dura subcutânea de 3cm sobrejacente ao peito direto. Pequenos e múltiplos (menor de 1cm) linfonodos duros eram palpáveis na axila e região inguinal. Estudos laboratoriais revelaram uma contagem de células brancas de 11,9/microlitros, com 30% de eosinófilos. Análise bioquímica do soro apresentava elevação nos níveis de fosfatase alcalina. Resultados de hemocultura, teste para pesquisa de antígeno de *Cryptococcus* no soro, antígeno de *Histoplasma* na urina e anticorpos contra HIV eram negativos, como o teste cutâneo à tuberculina. O raios X de tórax mostrou micronódulos intersticiais bilaterais, num padrão miliar, como a região paratraqueal direita cheia. Tomografia computadorizada do peito confirmou a presença difusa de micronódulos de 1 a 2mm em todos os lobos. A tomografia computadorizada também mostrou uma lesão lobular parenquimatosa no lobo médio direito e uma massa na parede torácica direita.

O aspirado com agulha fina, da massa direta do tórax revelou esférulas preenchidas com endosporos, consistente com coccidioidomicose. Na cultura do material cresceu *Coccidioides immitis*. Painel sorológico para *C. immitis* era positivo e revelou título de IgG em fixação de complemento maior do que 1:256. Análise do fluido cerebroespinhal estava normal, mas a tomografia óssea revelou múltiplas regiões de atividade osteoblástica aumentada, envolvendo a escápula esquerda, quinta vértebra direita anterior e região vertebral média torácica. O tratamento foi iniciado com anfotericina B, mas, o aumento da cervicalgia levou à solicitação de novas imagens, que demonstraram uma lesão lítica de vértebra C1 e uma massa paravertebral. Apesar da terapia antifúngica, aumento progressivo da massa necessitou debridamento cirúrgico. O paciente continuou o tratamento com formulações lipídicas de anfotericina B, com planos de longo prazo, talvez contínua terapia antifúngica.

Este foi o exemplo de um sério problema causado pela coccidioidomicose. Pistas para o diagnóstico da coccidioidomicose neste paciente devem incluir os primeiros sintomas da infecção, eosinofilia periférica, linfadenopatia hilar, padrão característico do envolvimento do órgão (pulmão, osso e tecidos moles), residência em área endêmica e etnia afro-americana (maior grupo de risco para disseminação).

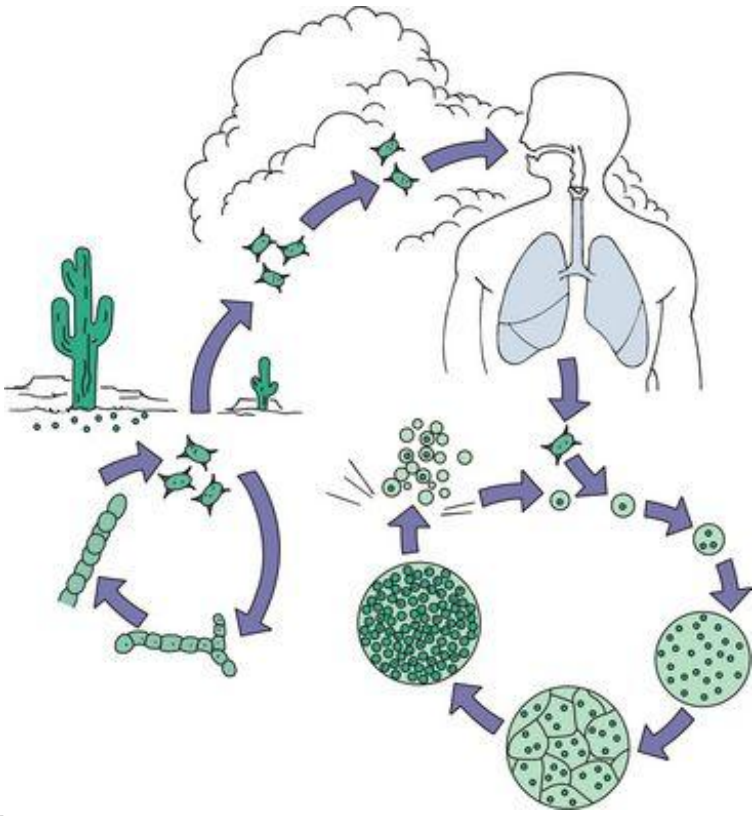


Figura 73-6 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprofita) e da esférula (parasita) de *Coccidioides immitis*.

Como a sífilis e a tuberculose, a coccidioidomicose causa uma ampla variedade de lesões e tem sido denominada de “o grande imitador”. Os sinônimos à coccidioidomicose incluem **granuloma coccidioidal** e **febre do vale de São Joaquim**, entre outros.

Morfologia

C. immitis (*C. posadasii*) é um fungo dimórfico que existe como um fungo filamentoso na natureza e quando cultivado no laboratório a 25°C, como esférula endosporulada no tecido e sob condições muito específicas *in vitro* (Figs. 73-7 e 73-8; Tab. 73-2 e Fig. 73-1). Uma variedade morfologica do fungo filamentoso pode ser vista em cultura a 25°C. O crescimento inicial é branco a cinza, úmido, glabroso ocorrendo de 3 a 4 dias. Desenvolve rapidamente micélio aéreo abundante, e a colônia aumenta numa "florescência" circular. As colônias maduras se tornam, geralmente, acastanhadas a marrons ou lavanda.

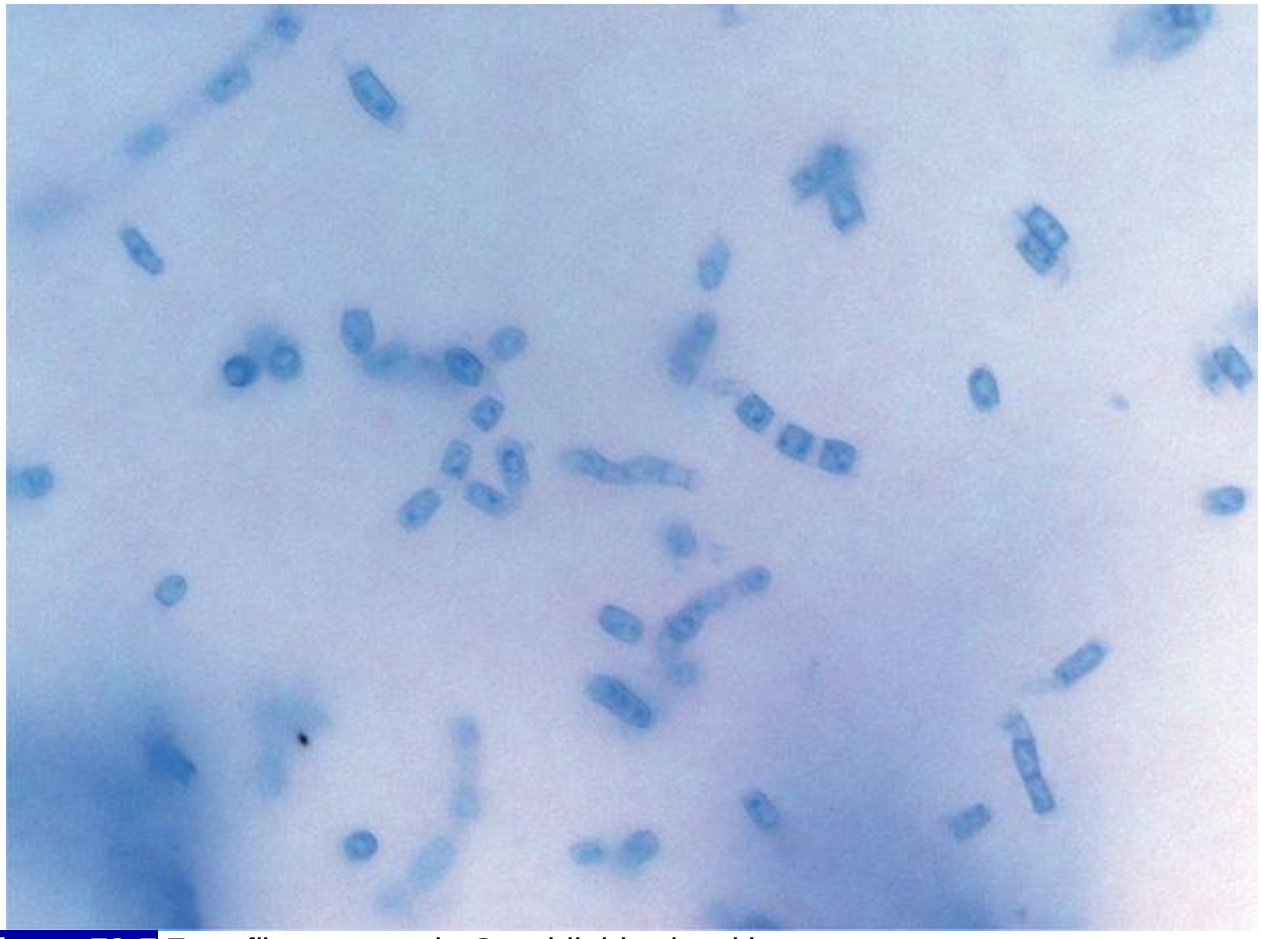


Figura 73-7 Fase filamentosa de *Coccidioides immitis*.

(De Marler LM, Siders JA, Simpson, AL, Allen SD: Mycology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2004.)

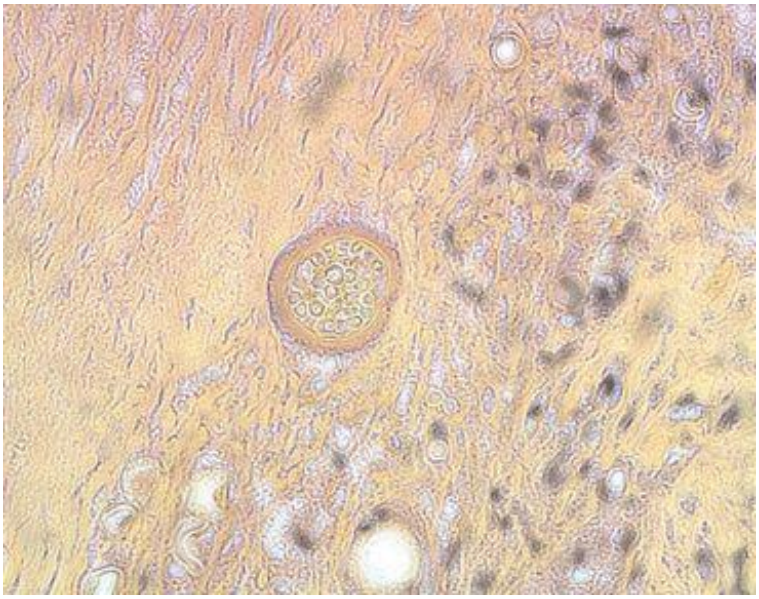


Figura 73-8 Esférula de *Coccidioides immitis*.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic diagnosis of fungal infections, Chicago, 1987, ASPC Press. Copyright 1987, American Society of Clinical Pathologists.)

Microscopicamente, as hifas vegetativas dão origem a hifas férteis que produzem alternadamente artroconídios hialinos (separadas por células disjuntoras) (Fig. 73-7). Quando liberados, os conídios infecciosos possuem tipicamente forma de "barril" e têm uma gola anular em ambas as terminações. Com o envelhecimento da cultura, as hifas vegetativas também se fragmentam em artroconídios.

Inalados, os artroconídios (2,5 a 4µm de diâmetro) se tornam arredondados e se convertem em esférulas no pulmão (Fig. 73-8). Na maturidade, as esférulas (20 a 60µm de diâmetro) produzem endosporos por um processo conhecido como **clivagem progressiva**. O rompimento das paredes da esférula libera endosporos, que, um após outro, formam novas esférulas (Fig. 73-6). Aproximadamente 10% a 30% das cavidades pulmonares associadas a coccidioidomicose, hifas ramificas septadas e artroconídios podem ser produzidos.

Epidemiologia

A coccidioidomicose é endêmica no sudoeste desértico dos Estados Unidos, norte do México e em áreas dispersas da América Central e do Sul (Fig. 73-2). *C. immitis* é encontrado no solo e o fungo no ambiente é intensificado pelos excretos de morcegos e roedores. A exposição aos artroconídios infecciosos é maior no final do verão e outono quando prevalecem as condições onde há uma quantidade de pequenas partículas que se depositam a partir da suspensão pelo ar (poeira). O ciclo de estiagem e chuvas intensifica a dispersão do organismo, pois as chuvas intensas facilitam o crescimento do organismo nos resíduos nitrogenosos do solo, e condições subsequentes de estiagem e ventos que favorecem a aerossolização dos artroconídios (Fig. 73-6). A aquisição da coccidioidomicose ocorre, principalmente, pela inalação dos artroconídios, e os índices de infecção em áreas endêmicas podem ser de 16% a 42% no início da fase adulta. A incidência da coccidioidomicose é de aproximadamente 15 casos por 100 mil habitantes anualmente numa área endêmica; entretanto, sabe-se que afeta desproporcionalmente pessoas com 65 anos de idade ou mais velhas (em torno de 36 por 100 mil) e aquelas com infecção pelo HIV (em torno de 20 por 100 mil).

C. immitis é, provavelmente, o mais virulento de todos os patógenos fúngicos que afetam o homem. A inalação de poucos artroconídios produz a coccidioidomicose primária, que pode incluir doença pulmonar assintomática (em torno de 60% dos pacientes) ou uma doença autolimitada semelhante ao resfriado com sintomas de febre, tosse, dor torácica e perda de peso. Os pacientes com coccidioidomicose primária podem ter uma variedade de reações alérgicas (em torno de 10%) como resultado da formação de imunocomplexo, incluindo erupção macular eritomatosa, eritema multiforme e eritema nodoso.

A doença primária se resolve principalmente sem terapia e confere uma imunidade forte e específica à reinfecção, que é detectada pelo teste cutâneo coccidioidina. Em pacientes sintomáticos por 6 semanas ou mais a doença progride para a coccidioidomicose secundária, que pode incluir nódulos, doença cavitária, ou doença pulmonar progressiva (5% dos casos); disseminação única ou sistêmica segue em aproximadamente 1% desta população. Os sítios extrapulmonares da infecção incluem pele, tecidos moles, ossos, articulações e meninges. Pessoas de certos grupos étnicos (p. ex., filipinos, afro-americanos, americanos nativos, hispânicos) correm um alto risco de disseminação, com o envolvimento meníngeo como sequela comum (Tab. 73-3). Além da etinicidade, homens (9:1), mulheres no terceiro trimestre de gravidez, pessoas com imunodeficiência (incluindo AIDS, transplantado de órgão e aqueles tratados com antagonista do fator de necrose tumoral [TNF]) e pessoas com idade avança apresentam alto risco à doença disseminada (Tab. 73-3). A mortalidade na doença disseminada excede 90% sem tratamento, e a infecção crônica é comum.

Tabela 73-3 Fatores de Risco à Coccidioidomicose Disseminada

Fator de Risco	Maior Risco
Idade	Lactentes e idosos
Sexo	Masculino
Genética	Filipinos > afro-americanos > americanos nativos > hispânicos > asiáticos
Título de anticorpo FC sérico	>1:32
Gravidez	Final da gestação e pós-parto
Teste cutâneo	Negativo
Imunidade mediada por célula deprimida	Malignidade, quimioterapia, tratamento esteroide, infecção pelo HIV

De Mitchell TG: Systemic fungi. In Cohen J, Powderly WG (eds): Infectious diseases, 2nd. St Louis, Mosby, 2004.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da coccidioidomicose envolve a utilização de exame histopatológico do tecido ou outro material clínico, isolamento do fungo em cultura e teste sorológico (Tab. 73-2). A visualização por microscopia direta das esférulas endosporuladas no escarro, exsudatos ou tecido é suficiente para estabelecer o diagnóstico (Fig. 73-8) e é preferida em relação à cultura devido à natureza altamente infecciosa do fungo filamentoso quando crescendo em cultura. Os exsudatos clínicos devem ser examinados diretamente em hidróxido de potássio (KOH) de 10% a 20% com calcoflúor branco, e o tecido da biópsia pode ser corado com H&E ou corantes fúgicos específicos como GMS e PAS (Fig. 73-8).

As amostras clínicas podem ser cultivadas em meio micológico de rotina a 25°C. As colônias de *C. immitis* se desenvolvem de 3 a 5 dias e a esporulação típica pode ser vista em 5 a 10 dias. Devido à natureza altamente infecciosa do fungo, todas as placas ou tubos devem ser selados utilizando fita gás permeável (placas) ou tampa de rosca (tubos) e examinadas somente numa cabine de biossegurança apropriada. A identificação de *C. immitis* em cultura pode ser realizada pela utilização do teste de imunodifusão através do exoantígeno ou da hibridização do ácido nucleico. A conversão do fungo filamentoso em esférulas *in vitro* não é geralmente realizada fora do ambiente de pesquisa.

Vários procedimentos sorológicos existem para uma triagem inicial, confirmação ou avaliação prognóstica (Tab. 73-2). Para o diagnóstico inicial, a utilização combinada do teste de imunodifusão e o teste de aglutinação da partícula de látex detectam aproximadamente 93% dos casos. Os testes de fixação do complemento e precipitina em tubo também podem ser utilizados para o diagnóstico e prognóstico. Exames prognóstico frequentemente utilizam títulos de fixação do complemento; títulos crescentes são um sinal de não prognóstico, e títulos decrescentes indicam melhora. Um teste em urina (detecção de antígeno) é comercialmente disponível, mas não está claro sua aplicação diagnóstica.

Tratamento

A maioria das pessoas com coccidioidomicose primária não necessita de terapia antifúngica específica. Para aqueles com fatores de risco simultâneos (Tab. 73-3), como transplante de órgão, infecções por HIV ou altas doses de corticosteroides, ou quando é evidente a infecção excepcionalmente grave, o tratamento é necessário. A coccidioidomicose primária no 3º trimestre de gravidez ou durante o pós-parto imediato à terapia requer o tratamento com anfotericina B.

Os pacientes imunossuprimidos ou outros com pneumonia difusa devem ser tratados com anfotericina B seguida por um azólico (tanto fluconazol ou itraconazol) como terapia de manutenção. A duração total da terapia deve ser de, pelo menos, um ano. Os pacientes imunocomprometidos devem ser mantidos com azólico via oral como profilaxia secundária.

A pneumonia cavitária crônica deve ser tratada com um azólico via oral por pelo menos, um ano. Nos casos em que a resposta é inadequada, as alternativas são trocar para outro azólico (p. ex., do itraconazol para fluconazol), aumentar a dose do azólico no caso do fluconazol, ou trocar para anfotericina B. O tratamento cirúrgico é necessário no caso de rompimento de uma cavidade no espaço pleural, hemoptise, ou lesões refratárias localizadas.

O tratamento das infecções disseminadas extrapulmonares não meníngeas se baseia na terapia por azólico via oral com fluconazol ou itraconazol. No caso de envolvimento vertebral ou resposta clínica inadequada, o tratamento com anfotericina B é recomendado junto com debridamento cirúrgico apropriado e estabilização.

A coccidioidomicose meníngea é tratada com administração de fluconazol ou itraconazol (escolha secundária pela pouca penetração no SNC) indefinidamente. A administração intratecal de anfotericina B é recomendada somente no caso de fracasso da terapia com azólico, devido a sua toxicidade quando administrada por esta via.

Histoplasmose (Caso Clínico 73-3)

A histoplasmose é causada por duas variedades de *Histoplasma capsulatum*: *H. capsulatum* var *capsulatum* e *H. capsulatum* var *duboissi* (Tab. 73-1) . *H. capsulatum* var *capsulatum* causa infecções pulmonares e disseminadas na metade oriental dos Estados Unidos e na maioria da América Latina, enquanto que *H. capsulatum* var *duboisii* causa, predominantemente, lesões cutâneas e ósseas e é restrito às áreas tropicais da África (Fig. 73-2).

Caso Clínico 73-3 Histoplasmose Disseminada

Mariani e Morris (Infect Med 24 (suppl 8): 17-19, 2007) descreveram um caso de histoplasmose disseminada em uma paciente com AIDS. A paciente, uma mulher salvadorenha de 42 anos de idade, foi admitida no hospital para avaliação de uma dermatose progressiva, envolvendo a narina direita, bochecha e lábio, apesar da terapia antibiótica. Ela era HIV positiva (contagem de linfócitos CD4 21/microlitro) e tinha vivido em Miami durante os últimos 18 anos. A lesão apareceu primariamente na narina direta, 3 meses antes da admissão. A paciente procurou atendimento médico e foi tratada sem sucesso com antibióticos orais. Nos 2 meses seguintes, a lesão aumentou de tamanho, envolvendo a região direta do nariz e bochecha, e acompanhado de febre, mal-estar e emagrecimento (cerca de 20 kg). Uma área necrótica se desenvolveu na parte superior da narina direta, estendendo até o lábio superior. O diagnóstico presumido de leishmaniose foi admitido, baseado no país de origem da paciente e a possibilidade de uma picada de flebotomíneos.

O estudo laboratorial revelou anemia e linfopenia. O raios X de tórax era normal, e a tomografia computadorizada da cabeça mostrou uma massa de tecidos moles na cavidade nasal. A análise histopatológica de uma biópsia de pele mostrou inflamação crônica com leveduras em brotamento intracitoplasmática. Na cultura da biópsia cresceu *Histoplasma capsulatum*, e o resultado do teste de antígeno de *Histoplasma* na urina foi positivo. A paciente foi tratada com anfotericina B seguida por itraconazol com bons resultados.

Este caso ressalta a capacidade de *H. capsulatum* permanecer clinicamente latente por muitos anos, somente reativar após a imunossupressão do hospedeiro. Manifestações cutâneas da histoplasmose são habitualmente consequência da progressão primária (latente) à doença disseminada. A histoplasmose não é endêmica no sul da Flórida, mas é endêmica em muitos países da América Latina, onde a paciente viveu antes de se mudar para Miami. Um elevado índice de suspeita e confirmação com biópsia de pele, cultura e teste de antígeno urinário são cruciais para o tratamento oportuno e adequado da histoplasmose disseminada.

Morfologia

Ambas as variedades de *H. capsulatum* são fungos dimórficos que existem como fungo filamentoso hialino na natureza e em cultura a 25°C e como leveduras intracelulares com brotamento no tecido e em cultura a 37°C (Figs. 73-9, 73-10 e 73-11; Tab. 73-2). Em cultura, as formas de fungo filamentoso de *H. capsulatum* var *capsulatum* e var *duboisii* são macro e microscopicamente indistinguíveis. As colônias de fungo filamentoso crescem lentamente, e se desenvolvem colônias com hifas brancas ou marrons após vários dias a semanas. A forma de fungo filamentoso produz dois tipos de conídios: (1) macroconídios esféricos grandes (8 a 15µm) de parede espessas com projeções puntiformes (macroconídios tuberculados) que se originam de conidióforos curtos (Fig. 73-1 e 73-12); e (2) microconídios pequenos e ovais (2 a 4µm) com paredes lisas ou levemente rugosas sésseis ou em hastes curtas (Figs. 73-1 e 73-12). As células leveduriformes são de parede finas, ovais, de 2 a 4µm (var *capsulatum*) (Fig. 73-10) ou são de paredes mais finas de 8 a 15µm (var *duboisii*) (Fig. 73-11). As células leveduriformes de ambas as variedades de *H. capsulatum* são intracelulares uninucleadas *in vivo* (Figs. 73-10 e 73-11).

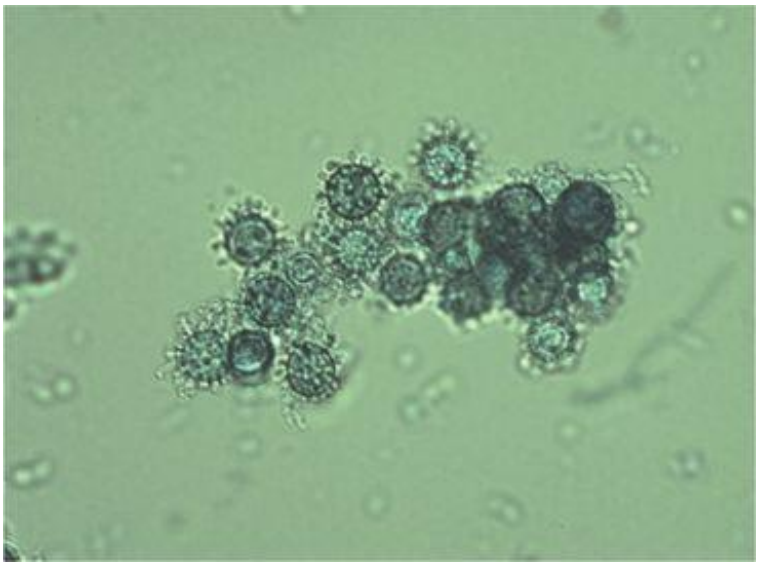


Figura 73-9 Fase filamentosa de *Histoplasma capsulatum* mostrando macroconídios tuberculados.

(De Marler LM, Siders JA, Simpson AL, Allen SD: Mycology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2004.)

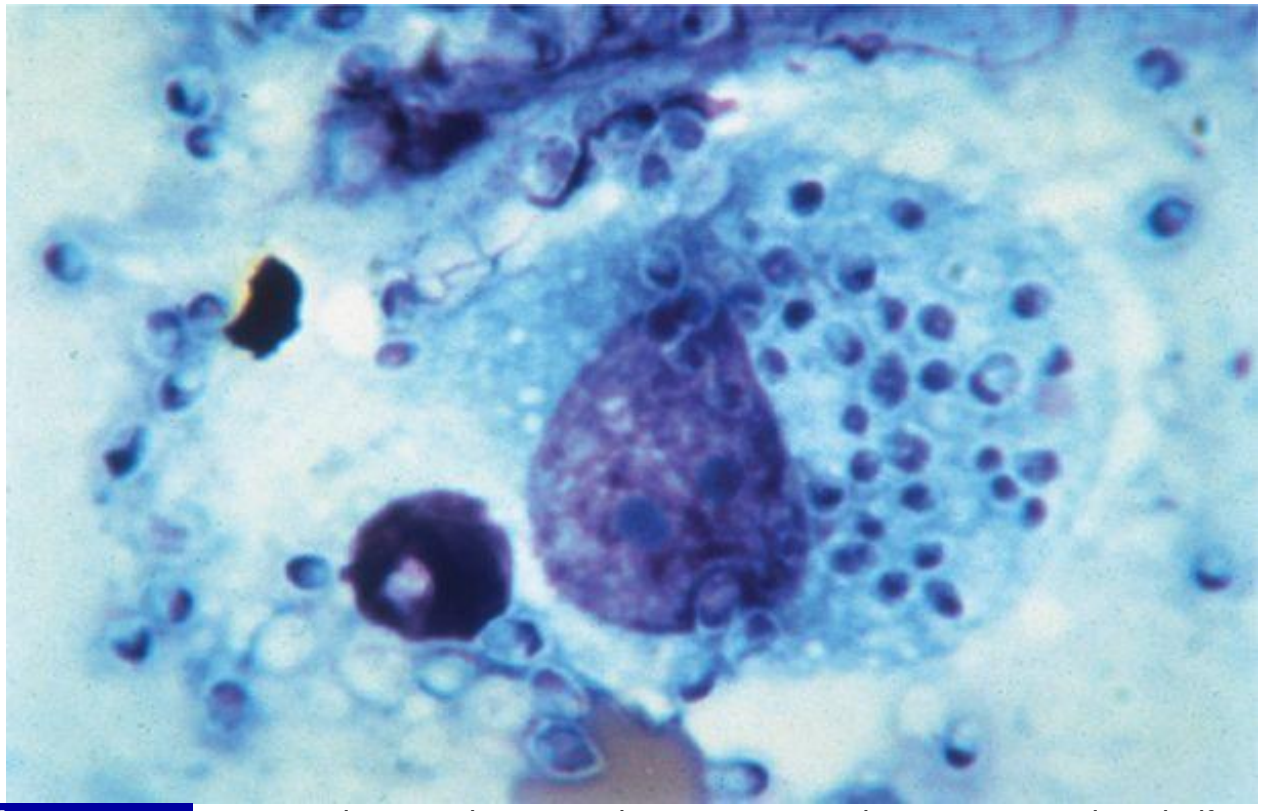


Figura 73-10 Preparado corado por Giemsa mostrando estruturas leveduriformes intracelulares de *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum*.

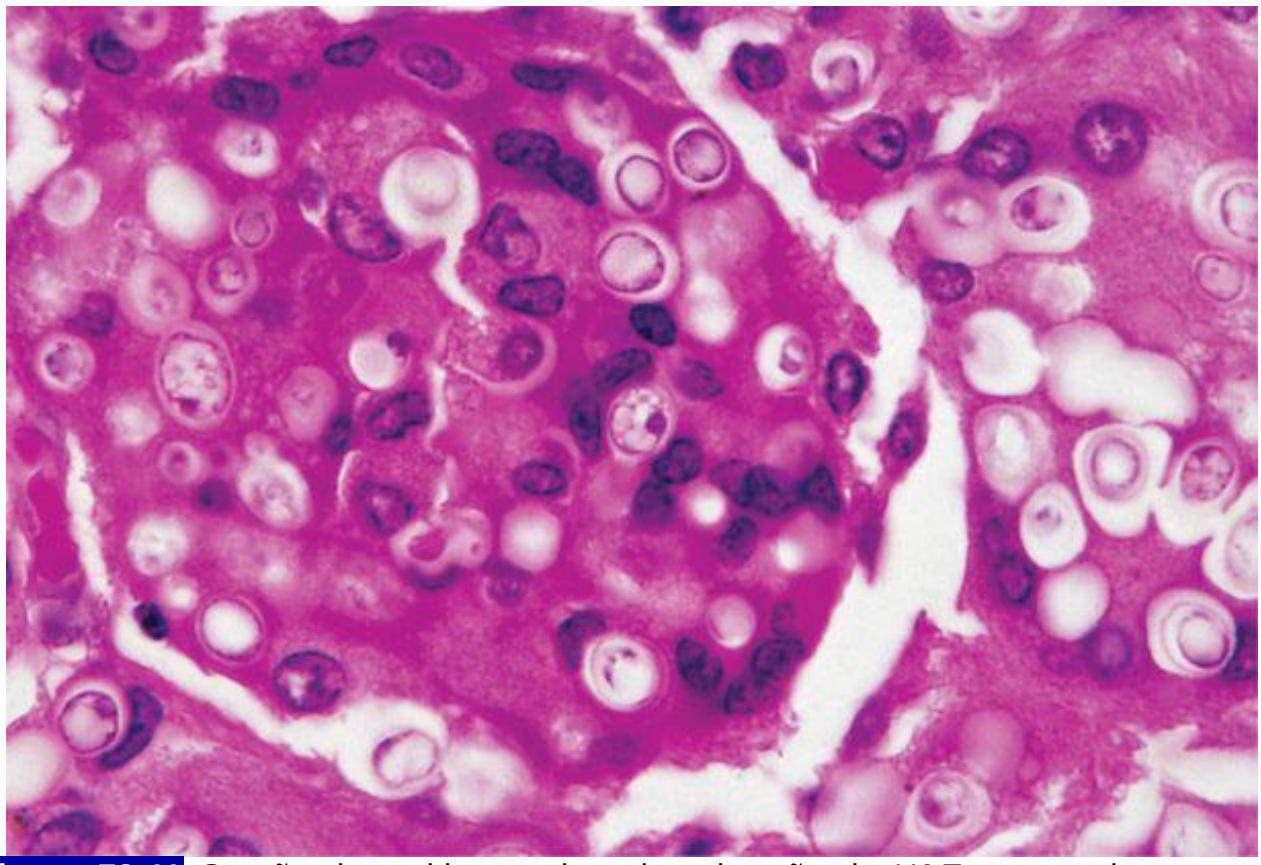


Figura 73-11 Secção de tecido corado pela coloração de H&E mostrando estruturas leveduriformes intracelulares de *Histoplasma capsulatum* var *duboisii*.

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Diseases, Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

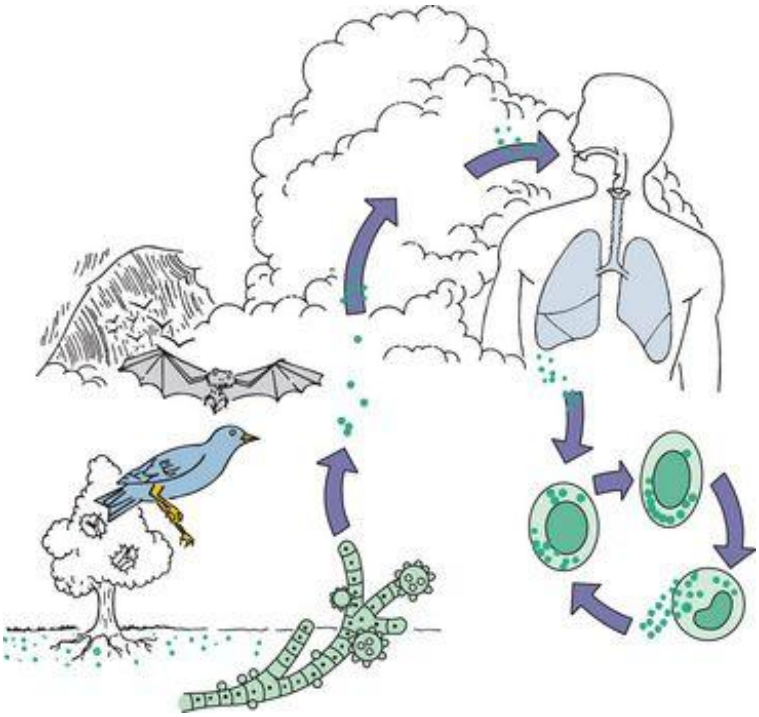


Figura 73-12 Historia natural do ciclo do fungo filamentoso (saprofita) e da levedura (parasita) de *Histoplasma capsulatum*.

Epidemiologia

A Histoplasmose produzida pelo *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* se localiza em regiões amplas dos vales dos rios Ohio e Mississipi, nos Estados Unidos, e ocorre por todo o México e Américas Central e do Sul (Fig. 73-2 e Tab. 73-1). A histoplasmose duboisii, ou histoplasma africana, está confinada às áreas tropicais da África, incluindo Gabão, Uganda e Quênia (Fig. 73-2 e Tab. 73-1).

O hábitat da forma fimalentosa de ambas as variedades de *H. capsulatum* é o solo com alto conteúdo de nitrogênio, como aquele encontrado em áreas contaminadas com excretos de pássaros ou morcegos. Os surtos de histoplasmose têm sido associados a exposições a puleiro de aves, cavernas e construções deterioradas ou projetos de renovação urbana envolvendo escavação e demolição. A aerossolização dos microconídios e fragmentos de hifas no solo revolvido e subsequente inalação por pessoas expostas é considerada a base para estes surtos (Fig. 73-12). Ainda que a proporção da infecção possa alcançar 100% em algumas exposições, muitos casos permanecem assintomáticos e são detectados somente pelo teste cutâneo. As pessoas imunocomprometidas e crianças são mais propensas a desenvolver doença sintomática com qualquer uma das duas variedades de *Histoplasma*. A reativação da doença e a disseminação são comuns entre pessoas imunossuprimidas, especialmente aquelas com AIDS.

Síndromes Clínicas

A via de infecção a ambas as variedades da histoplasmose é por inalação dos microconídios, que um após outro germinam em leveduras dentro do pulmão e podem permanecer localizados ou disseminados hematogenicamente ou pelo sistema linfático (Fig. 73-12). Os microconídios são fagocitados rapidamente pelos macrófagos e neutrófilos pulmonares, e parece que a conversão é a forma parasitária de levedura intracelular.

Histoplasmose (*H. Capsulatum*)

A apresentação clínica da histoplasmose causada por *H. capsulatum* var *capsulatum* depende da intensidade da exposição e estado imunológico do hospedeiro. A infecção assintomática ocorre em 90% dos casos após uma exposição de pequena intensidade. No caso de uma exposição a um grande inóculo, entretanto, muitos indivíduos exibem alguns sintomas. A forma autolimitada de histoplasmose pulmonar aguda é marcada por sintomas de resfriado com febre, calafrios, cefaleia, tosse, mialgias e dor torácica. A evidência radiográfica de adenopatia hilar ou mediastinal e infiltrados pulmonares irregulares podem ser observados. Muitas infecções agudas se resolvem com cuidados assistenciais e não necessitam de tratamento antifúngico específico. Em raros casos, geralmente após exposição bastante intensa, a síndrome do desconforto respiratório agudo pode ser vista. Em aproximadamente 10% dos pacientes, sequela inflamatória, como linfadenopatia persistente com obstrução brônquica, artrite, artralgias, ou pericardite, pode ser vista. Outra complicação rara da histoplasmose é uma condição conhecida como **fibrose mediastinal**, em que a resposta persistente do hospedeiro ao organismo pode resultar em fibrose invasiva e constrição das estruturas mediastinais, incluindo o coração e os grandes vasos.

Histoplasmose pulmonar progressiva pode se seguir à infecção aguda em aproximadamente 1 em 100 mil casos por ano. Os sintomas pulmonares crônicos estão associados a cavidades apicais e fibrose e são mais prováveis que ocorram em pacientes com doença pulmonar prévia de base. Estas lesões, em geral, não cicatrizam espontaneamente, e a persistência do organismo leva a uma destruição progressiva e fibrose secundária à resposta imune do organismo.

À histoplasmose disseminada segue a infecção aguda 1 em 2.000 adultos e é muito maior em crianças e adultos imunocomprometidos. A doença disseminada pode assumir um curso crônico, subagudo ou agudo. A histoplasmose disseminada crônica é caracterizada por perda de peso e fadiga, com ou sem febre. Úlceras orais e hepatoesplenomegalia são comuns.

A histoplasmose disseminada subaguda é marcada por febre, perda de peso e mal-estar. As úlceras orofaríngeas e hepatoesplenomegalia são proeminentes. O envolvimento da medula óssea pode produzir anemia, leucopenia e trombocitopenia. Outros locais de envolvimento incluem as adrenais, válvulas cardíacas e o sistema nervoso central. A histoplasmose disseminada subaguda não tratada evolui para óbito em 2 a 24 meses.

A histoplasmose disseminada aguda é um processo fulminante, mais comumente visto em indivíduos gravemente imunossuprimidos, incluindo aqueles com AIDS, transplantados e os que recebem esteroides ou outra quimioterapia imunossupressora. Além disso, crianças com menos de 1 ano de idade e adultos com condições médicas debilitantes também correm risco, em função de uma exposição suficiente ao fungo. Ao contrário de outras formas de histoplasmose a doença disseminada aguda pode se apresentar com um quadro semelhante ao choque séptico com febre, hipotensão, infiltrados pulmonares e desconforto respiratório agudo. As ulcerações gastrointestinais e orais, sangramento, insuficiência adrenal, meningite e endocardite também podem estar presentes. Se não tratadas, a histoplasmose disseminada aguda é fatal em um curto período (dias a semanas).

Histoplasmose Duboisii

Ao contrário da histoplasmose clássica, as lesões pulmonares são incomuns na histoplasmose africana. A forma localizada da histoplasmose duboisii é uma doença crônica caracterizada por linfadenopatia regional com lesões cutâneas e ósseas. As lesões cutâneas são papulares ou nodulares e progridem, eventualmente, para abscessos que se ulceram. Aproximadamente um terço dos pacientes exibirá lesões ósseas características por osteolise e envolvimento de articulações contíguas. O crânio, o esterno, as costelas e os ossos longos são mais frequentemente envolvidos, muitas vezes, com abscessos de base e drenagem de seios.

Uma forma disseminada mais fulminante da histoplasmose duboisii pode ser vista em indivíduos profundamente imunodeficientes. A disseminação hematogênea e linfática à medula óssea, ao fígado, baço e a outros órgãos ocorrem e são marcadas por febre, linfadenopatia, anemia, perda de peso e organomegalia. Esta forma de doença é uniformemente fatal, a menos que prontamente diagnosticada e tratada.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da histoplasmose pode ser feito por microscopia direta, cultura do sangue, medula óssea, ou outro material clínico e por sorologia, incluindo a detecção do antígeno no sangue e na urina (Tabs. 73-4; Tab. 73-2). A fase leveduriforme do organismo pode ser detectada no escarro, lavado broncoalveolar, sangue periférico, medula óssea e tecido corado com corante Giemsa, GMS ou PAS (Fig. 73-10). Nos cortes teciduais, as células de *H. capsulatum* var *capsulatum* são leveduriformes, hialinas, esféricas a ovais, de 2 a 4µm de diâmetro, uninucleadas e com brotamentos únicos ligados por base estreita. As células são, em geral, intracelulares e agrupadas. As células de *H. capsulatum* var *duboisii* também são intracelulares, leveduriformes e uninucleadas, porém são muito maiores (8 a 15µm) e têm paredes espessas de "duplo contorno". Elas estão, geralmente, em macrófagos e células gigantes (Fig. 73-11).

Culturas de amostras respiratórias, sangue, medula óssea e tecido são de valor nos pacientes com doença disseminada, devido à alta sobrecarga do organismo. Elas são menos úteis na doença autolimitada ou localizada (Tab. 73-4). O crescimento da forma micelial em cultura é lento e uma vez isolado, a identificação deve ser confirmada pela conversão à fase leveduriforme ou pela utilização do teste do exoantígeno ou hibridização do ácido nucleico. Como outros patógenos dimórficos, as culturas de *H. capsulatum* devem ser manuseadas com cuidado numa cabine de biossegurança.

Tabela 73-4 Testes Laboratoriais para Histoplasmose

Tabela 73-4. Testes Laboratoriais para Histoplasmose

Teste	Sensibilidade (% verdadeiro-positivos) em condições patológicas		
	Disseminada	Pulmonar Crônica	Autolimitada*
Antígeno	92	21	39
Cultura	85	85	15
Histopatologia	43	17	9
Sorologia	71	100	98

De Wheat LJ: Endemic mycoses. In Cohen J, Powderly WG (eds): Infectious diseases, 2nd, St Louis Mosby, 2004.
** inclui histoplasmose pulmonar aguda, síndrome reumatológica e pericardite.*

O diagnóstico sorológico da histoplasmose envolve testes para a detecção tanto do antígeno como do anticorpo (Tab. 73-2). Os ensaios de detecção do anticorpo incluem reação de fixação do complemento e teste de imunodifusão. Estes testes são, em geral, utilizados juntos para aumentar a sensibilidade e especificidade, porém não são úteis na fase aguda e ambos, muitas vezes, têm resultados negativos nos pacientes imunocomprometidos com infecção disseminada.

A detecção do antígeno de *Histoplasma* no soro e na urina por ensaio imunoenzimático tem sido muito útil, particularmente no diagnóstico da doença disseminada (Tabs. 73-2 e 73-4). A sensibilidade da detecção do antígeno é maior em amostras de urina do que nas de sangue e varia de 21% na doença pulmonar crônica a 92% na doença disseminada. A detecção seriada do antígeno pode ser utilizada para avaliar a resposta à terapia e no estabelecimento da regressão da doença.

Tratamento

Visto que muitos pacientes com histoplasmose se recuperam sem terapia, a primeira decisão deve ser se a terapia antifúngica é necessária. Alguns pacientes imunocompetentes com infecção mais grave podem exibir sintomas prolongados e podem se beneficiar do tratamento com itraconazol. Em casos de histoplasmose pulmonar aguda grave, com hipoxemia e síndrome do desconforto respiratório agudo, a anfotericina B deve ser administrada seguida por itraconazol via oral para completar um curso de 12 semanas.

A histoplasmose pulmonar crônica também justifica o tratamento, pois é sabido que ela progride se não for tratada. O tratamento é recomendado com anfotericina B seguida por itraconazol por 12 a 24 meses.

A histoplasmose disseminada, em geral, responde bem à terapia com anfotericina B. Uma vez estabelecida, a terapia do paciente pode ser trocada para itraconazol via oral a ser administrada por 6 a 18 meses. Os pacientes com AIDS podem necessitar de uma terapia por tempo mais prolongado com itraconazol.

A histoplasmose do sistema nervoso central é universalmente fatal e não tratada. A terapia de escolha é a anfotericina B seguida por fluconazol por 9 a 12 meses.

Os pacientes com histoplasmose mediastinal obstrutiva requerem terapia com anfotericina B. O itraconazol pode ser utilizado na terapia em pacientes ambulatoriais.

Paracoccidioidomicose

A paracoccidioidomicose é uma infecção fúngica sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*. Esta infecção é também conhecida como **blastomicose sul-americana** e é a principal infecção fúngica endêmica dimórfica nos países da América Latina. A paracoccidioidomicose primária aparece, geralmente, em pessoas jovens, como um processo pulmonar autolimitado. Neste estágio, raramente exibe um curso progressivo agudo ou subagudo. A reativação de uma lesão quiescente primária pode ocorrer anos depois, resultando numa doença pulmonar progressiva com ou sem envolvimento de outros órgãos.

Morfologia

A fase de fungo filamentoso de *P. brasiliensis* cresce lentamente *in vitro* a 25°C. As colônias brancas se tornam aparentes em 3 a 4 semanas, tomando eventualmente aparência aveludada. Colônias glabrosas, enrugadas e acastanhadas também podem ser vistas. A forma micelial não é descritiva e/ou diagnóstica: hifas hialinas, septadas com clamidoconídios intercalados. A identificação específica requer a conversão à forma de levedura ou o teste do exoantígeno.

A forma de levedura característica é vista em tecido e em cultura a 37°C. As células leveduriformes ovais a arredondadas, de tamanho variável (3 a 30µm ou mais de diâmetro) com paredes refráteis duplas e brotamentos únicos ou múltiplos (blastoconídios) são característicos deste fungo (Fig. 73-13). Os blastoconídios são ligados à célula-mãe por um istmo estreito, e seis ou mais de vários tamanhos podem ser produzidos a partir de uma única célula assim denominadas de morfologia em "roda de leme". A variabilidade no tamanho e no número de blastoconídios e suas conexões a células-mãe são aspectos de identificação (Fig. 73-13). Estes aspectos são mais bem revelados pelos corantes de GMS, mas também podem ser vistos em tecidos corados pela coloração H&E ou em montagens do material clínico com KOH.

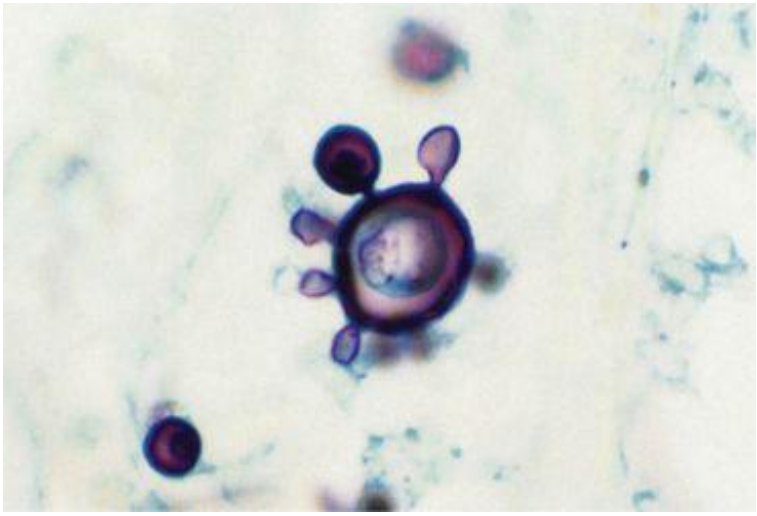


Figura 73-13 Células leveduriforme de *Paracoccidioides brasiliensis* corado pelos corantes de GMS, mostrando a morfologia de múltiplos brotamento em "roda de leme".

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

A paracoccidioidomicose é endêmica por toda a América Latina, porém é mais prevalente na América do Sul do que na América Central (Fig. 73-2). A maior incidência é observada no Brasil, seguida por Colômbia, Venezuela, Equador e Argentina. Todos os pacientes diagnosticados fora da América Latina viveram, previamente, na América Latina. A ecologia das áreas endêmicas inclui umidade alta, vegetação rica, temperaturas moderadas e solo ácido. Estas condições são encontradas junto aos rios da selva amazônica às pequenas florestas indígenas do Uruguai. *P. brasiliensis* tem sido recuperado do solo nestas áreas; entretanto, seu nicho ecológico não é bem estabelecido. A porta de entrada é pela via inalatória (Fig. 73-14). A infecção natural tem sido documentada em tatus.

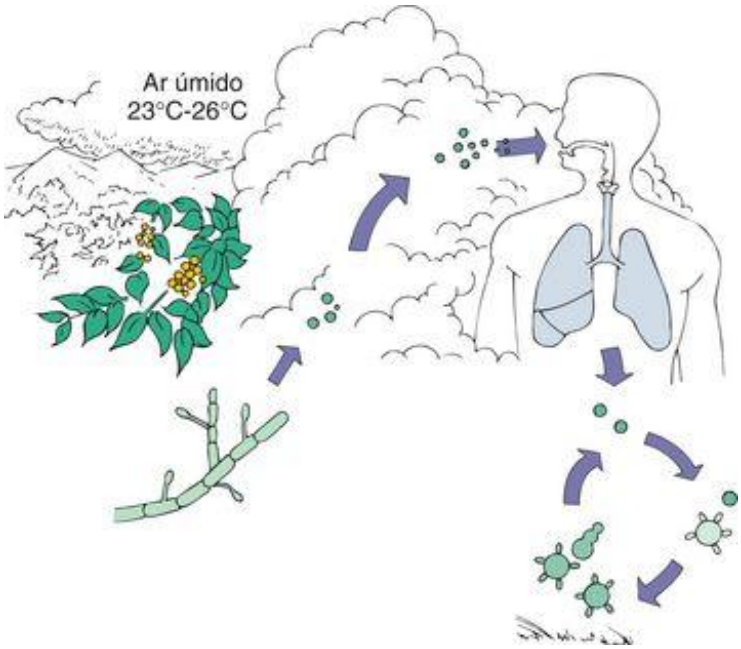


Figura 73-14 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprofita) e da levedura (parasita) de *Paracoccidioides brasiliensis*.

Embora a infecção ocorra em crianças (maior incidência de 10 a 19 anos de idade), a doença evidente é incomum em crianças e adolescentes. Nos adultos, é mais comum em homens com idade de 30 a 50 anos. Muitos pacientes com doença clinicamente aparente vivem em áreas rurais e têm contato próximo com o solo. Não existem relatos de epidemias ou transmissão de uma pessoa à outra. A depressão da imunidade mediada por células se correlaciona com a forma progressiva aguda da doença.

Síndromes Clínicas

A paracoccidioidomicose pode ser subclínica ou progressiva com formas pulmonares aguda ou crônica, ou formas disseminadas aguda, subaguda, ou crônica da doença. Muitas infecções primárias são autolimitadas; entretanto, o organismo pode se tornar inativo por longos períodos de tempo e reativar para causar doença clínica concomitante com as defesas deficientes do hospedeiro. Uma forma disseminada subaguda é vista em pacientes mais jovens e indivíduos imunocomprometidos com linfadenopatia marcada, hepatoesplenomegalia, envolvimento da medula óssea e manifestações osteoarticulares imitando a osteomielite. A fungemia recorrente resulta de disseminação e lesões cutâneas são frequentes. As lesões pulmonares e de mucosa não são vistas nesta forma de doença.

Os adultos se apresentam, muitas vezes, com uma forma pulmonar crônica da doença marcada por problemas respiratórios, muitas vezes como manifestação única. A doença progride lentamente por meses a anos com tosse persistente, escarro purulento, dor torácica, perda de peso, dispneia e febre. As lesões pulmonares são nodulares, infiltrativas, fibróticas e cavitárias.

Embora 25% dos pacientes somente exibam manifestações pulmonares da doença, a infecção pode se disseminar em sítios extrapulmonares na ausência de diagnóstico e tratamento. As localizações extrapulmonares proeminentes incluem pele e mucosa, linfonodos, glândulas adrenais, fígado, baço, sistema nervoso central e ossos. As lesões de mucosa são dolorosas e ulceradas e, geralmente, estão confinadas a boca, lábios, gengivas e palato. Mais de 90% dos afetados são do sexo masculino.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é estabelecido pela demonstração das células leveduriformes características no exame microscópico do escarro, lavado broncoalveolar, raspados ou biópsias de úlceras, pus drenado de linfonodos, líquido cerebrospinal ou tecido (Tab. 73-2). O organismo pode ser visualizado por uma variedade de métodos de coloração, incluindo calcoflúor, H&E, GMS, PAS ou coloração de Papanicolau (Fig. 73-13). A presença de brotamentos múltiplos distingue *P. brasiliensis* de *Cryptococcus neoformans* e de *Blastomyces dermatitidis*.

O isolamento do organismo em cultura requer confirmação pela demonstração do dimorfismo térmico ou teste do exoantígeno (detecção do exoantígeno 1, 2 e 3). As culturas devem ser manipuladas numa cabine de biossegurança.

O teste sorológico utilizando tanto imunodifusão ou fixação do complemento para demonstrar o anticorpo pode ser útil sem sugerir o diagnóstico e na avaliação da resposta à terapia (Tab. 73-2).

Tratamento

O itraconazol é o tratamento de escolha na maioria das formas da doença e, geralmente, deve ser dado por, pelo menos, 6 meses. As infecções mais graves ou refratárias podem requerer terapia com anfotericina B acompanhada por terapia com itraconazol ou sulfonamida. Recaídas são comuns com a terapia por sulfonamida, e a dose e duração requerem ajustes baseados em parâmetros clínicos e micológicos. O fluconazol tem alguma atividade contra este organismo, por recaídas frequentes e tenham limitado sua utilização ao tratamento desta doença.

Peniciliose marneffei

A peniciliose marneffei é uma micose disseminada causada pelo fungo dimórfico *Penicillium marneffei*. Esta infecção envolve o sistema fagocitário mononuclear e ocorre, principalmente, em pessoas infectadas pelo HIV na Tailândia e China meridional (Fig. 73-2)

Morfologia

P. marneffei é a única espécie de *Penicillium* que é um fungo dimórfico patogênico. Em sua fase de fungo filamentoso em cultura a 25°C, exibe estruturas esporuladas que são típicas do gênero (Fig. 73-1). A identificação é auxiliada pela formação de um pigmento vermelho solúvel que se difunde no agar (Tab. 73-3).

Em cultura a 37°C e em tecido, *P. marneffei* cresce como um organismo leveduriforme que se divide por fissão e exibe um septo transversal (Fig. 73-15). A levedura é intracelular *in vivo* e, nesse sentido, lembra *H. capsulatum*, embora seja um tanto mais pleomórfico e alongado, e não apresenta brotamento (Tab. 73-2 e Figs. 73-10 e 73-15).

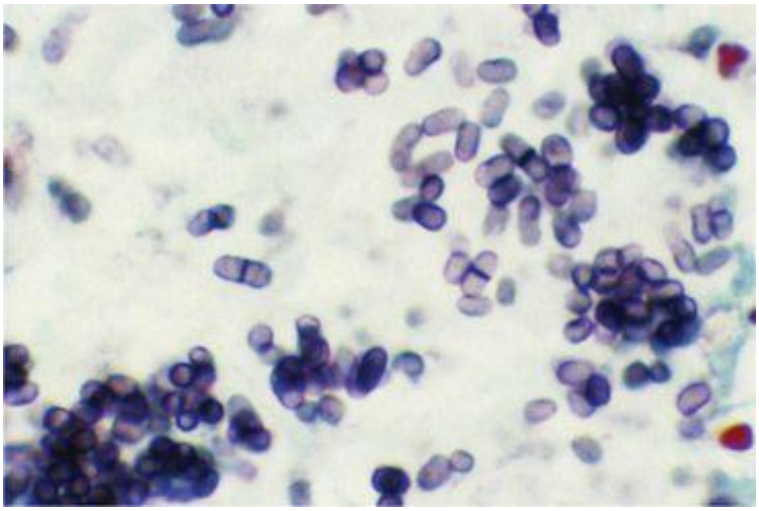


Figura 73-15 Célula leveduriforme corada por GMS de *Penicillium marneffei*, incluindo formas com septos transversais únicos e amplos (centro).

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

P. marneffei emergiu como um patógeno fúngico proeminente entre indivíduos infectados pelo HIV no sudeste asiático (Fig. 73-2). Os casos importados foram reportados na Europa e nos Estados Unidos. Ainda que a infecção tenha sido em hospedeiros imunocompetentes, a grande maioria das infecções desde 1987 ocorreu em pacientes com AIDS ou em outros hospedeiros imunossuprimidos que residem ou visitaram o sudeste asiático ou a China meridional. A peniciliose marneffei se tornou um indicador precoce da infecção pelo HIV naquela parte do mundo. *P. marneffei* tem sido isolado de ratos dos bambus e, ocasionalmente, do solo. A infecção adquirida em laboratório tem sido reportada em pessoas imunocomprometidas expostas à forma filamentosa em cultura.

Síndromes Clínicas

A peniciliose marneffei é causada quando um hospedeiro suscetível inala os conídios de *P. marneffei* do ambiente e a doença disseminada se desenvolve. A infecção pode imitar a tuberculose, leishmaniose, outras infecções oportunistas relacionadas com a AIDS, como a histoplasmose e criptococose. Os pacientes apresentam febre, tosse, infiltrados pulmonares, linfadenopatia, organomegalia, anemia, leucopenia e trombocitopenia. As lesões cutâneas refletem a disseminação hematogênica e aparecem como lesões semelhantes ao molusco contagioso na face e no tronco.

Diagnóstico Laboratorial

P. marneffei é recuperado prontamente das amostras clínicas, incluindo amostras de sangue, de medula óssea, do lavado broncoalveolar e de tecido. O isolamento de um fungo filamentoso em cultura de 25°C a 30°C que exibe a morfologia típica de *Penicillium* e um pigmento vermelho difusível é altamente sugestivo. A conversão à fase leveduriforme a 37°C é confirmada. A detecção microscópica de leveduras com fissão elíptica dentro dos fagócitos em esfregaços de medula óssea, lesões cutâneas ulcerativas, linfonodos ou preparos em camadas de células brancas é diagnosticada (Fig. 73-15). Os testes sorológicos estão em desenvolvimento.

Tratamento

A anfotericina B com ou sem flucitosina é o tratamento de escolha. A administração da anfotericina B por 2 semanas deve ser seguida por itraconazol por outras 10 semanas. Os pacientes com AIDS podem requerer tratamento por toda a vida com itraconazol para prevenir as recorrências da infecção. A terapia com fluconazol tem sido associada a um alto índice de fracasso e não é recomendada.

Estudo de Caso e Questões

Jane e Joan era duas mulheres com seus 30 e poucos anos de idade que participam avidamente numa atividade ao ar livre. Nos últimos 5 anos elas foram estudar as cavernas no Missouri meridional, com mochilas nas costas no Wisconsin setentrional, e acamparam no Arizona. Mais recentemente, reformaram uma velha casa de fazenda na zona rural de Iowa e no processo tiveram que demolir um galinheiro ligado aos fundos da casa. Após 1 semana do processo, sofreram de uma doença "semelhante a um resfriado", e Jane desenvolveu tosse e dispneia. Foram numa clínica para serem examinadas. Na clínica, Joan pareceu bem, porém Jane observou que estava bastante dispneica e parecia doente. O médico pensou que seria boa ideia realizar uma radiografia de tórax. Joan também tirou uma radiografia "só para garantir". Os resultados mostraram uma pneumonia bilateral difusa. Ainda que a radiografia de Joan não mostrasse pneumonia, se observou que ela tinha um nódulo solitário no lobo superior direto.

1. A quais patógenos fúngicos Jane e Joan se expuseram?

1. Em suas viagens, eles foram expostos ao *Histoplasma capsulatum* (cavernas no Missouri e galinheiros em Iowa), *Blastomyces dermatitidis* (Wisconsin), *e Coccidiodes posadasii* (immitis) (Arizona).

2. O que constitui um fungo dimórfico?

2. Fungos dimórficos são organismos que existem em uma forma filamentosa na natureza ou em laboratório a 25°C a 30°C (fase saprófita) e sob a forma de levedura ou forma esférula em tecidos ou quando cultivadas em meio enriquecido em laboratório a 37°C (fase parasitária).

3. À parte do dimorfismo, qual aspecto é comum a todas as micoses endêmicas?

3. Além do dimorfismo todos os agentes das micoses endêmicas possuem a capacidade de replicar a 37°C.

4. Descreva os ciclos de vida dos seis patógenos dimórfico endêmicos.

4. Em geral, os ciclos de vida de todos os seis agentes patogênicos dimórficos envolvem a inalação de esporos de natureza infecciosa, seguida de transformação dentro do pulmão para a fase de levedura, onde escapam da destruição pelos fagócitos, tanto no meio intracelular e extracelular. A especificidade de cada uma é mostrada nas Figuras 73-5, 73-6, 73-12 e 73-14.

5. O que você pensa qual a causa da pneumonia de Jane? Como você faria o diagnóstico?

5. A pneumonia da paciente Jane muito provavelmente seja uma histoplasmose pulmonar aguda. O diagnóstico pode ser feito por sorologia (detecção de antígeno na urina e / ou anticorpos no soro), a cultura de secreções respiratórias e pelo exame microscópico de escarro ou lavado broncoalveolar.

6. Como você trataria a pneumonia?

6. A maioria das infecções agudas é resolvida com cuidados de suporte e não requerem tratamento antifúngico específico. Em casos raros, geralmente após a exposição pesada, síndrome da angústia respiratória aguda pode ser vista. Tratamento antifúngico específico com itraconazol mais suporte pode ser necessário em casos graves.

7. O que você pensa ser responsável pelo nódulo pulmonar de Joan? Como você faria o diagnóstico? Como você a trataria?

7. O diagnóstico diferencial do nódulo pulmonar de Joan inclui câncer de pulmão, histoplasmose (nódulos únicos são raros), coccidioidomicose (comum), ou um nódulo devido a uma infecção transmitida pelo cão (*Dirofilaria immitis)*. A tuberculose também deve ser considerada. Devido à possibilidade de malignidade, a biópsia associada à histopatologia é necessária. Culturas para fungos e micobactérias devem ser realizadas, mas pode não ser necessário se os elementos característicos de fungos forem observados no exame histopatológico. Dada a sua exposição, o nódulo representa muito provável coccidioidomicose (granuloma). Este não requer tratamento antifúngico.

Bibliografia

Brandt ME, Warnock DW, et al. Histoplasma, Blastomyces, Coccidioides, and other dimorphic fungi causing systemic mycoses. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Chu JH, et al. Hospitalization for endemic mycoses: A population-based national study. *Clin Infect Dis*. 2006;42:822.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange, 1997.

Kauffman CA. Histoplasmosis: A clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:115.

Mitchell TG. Systemic fungi. In Cohen J, Powderly WG, editors: *Infectious Diseases*, 2nd ed, St Louis: Mosby, 2004.

Perea S, Patterson TF. Endemic mycoses. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Vanittanakom N, et al. Penicillium marneffei infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:95.

Wheat LJ. Endemic mycoses. In Cohen J, Powderly WG, editors: *Infectious Diseases*, 2nd ed, St Louis: Mosby, 2004.

74 Micoses Oportunistas

A frequência de micoses invasivas causadas por patógenos fúngicos oportunistas aumentou significativamente nas últimas décadas (Cap. 5, Tab. 5-2). Esse aumento na incidência está associado a índices muito elevados de morbidade e mortalidade (Cap. 5, Tab. 5-1) e diretamente relacionado a populações cada vez maiores de pacientes com risco de desenvolvimento de infecções fúngicas graves. O grupo de alto risco inclui indivíduos submetidos à transfusão de sangue e transplante de medula (BMT, do inglês, *blood and marrow transplantation*), transplante de órgãos sólidos e cirurgias de grande porte (especialmente a cirurgia do trato gastrointestinal [GI]), os portadores de AIDS e doença neoplásica, aqueles sob terapia de imunossupressão, os idosos e as crianças nascidas prematuramente (Tab. 74-1). Os agentes mais comuns de micoses oportunistas são *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e *Aspergillus fumigatus* (Quadro 74-1). A incidência anual estimada de micoses invasivas causadas por esses patógenos é de 72 a 290 infecções por milhão de pessoas para *Candida*, 30 a 66 por milhão para *C. neoformans* e de 12 a 34 por milhão para *Aspergillus* (Cap. 5, Tab. 5-2). Além desses agentes, existe uma lista crescente de "outros" fungos oportunistas cuja importância aumenta a cada dia (Quadro 74-1). Esses patógenos novos e emergentes incluem espécies de *Candida* e *Aspergillus* diferentes de *C. albicans* e *de A. fumigatus*, outros fungos oportunistas leveduriformes como *Trichosporon* spp., *Malassezia* spp., *Rhodotorula* spp. e *Geotrichum capitatum* (*Blastoschizomyces capitatus*), os zigomicetos, fungos filamentosos hialinos como espécies de *Fusarium, Acremonium, Scedosporium, Scopulariopsis, Paecilomyces* e *Trichoderma*, além de uma ampla variedade de fungos demáceos (Quadro 74-1). As infecções causadas por esses organismos variam desde a fungemia relacionada a cateteres e peritonite até infecções mais localizadas envolvendo pulmão, pele e seios paranasais e para a disseminação hematogênica muito extensa. Acreditou-se, anteriormente, que muitos desses fungos não fossem patogênicos, mas hoje eles são considerados como causas reconhecidas de micoses invasivas em pacientes comprometidos. Quanto às micoses menos comuns, praticamente não existem estimativas de incidência anual dessas infecções; entretanto, os dados de uma pesquisa com base na população e conduzida pelos Centros de Controle de Doenças (*CDC – Central for Disease Control*) dos EUA indicam que a zigomicose ocorre à taxa de 1,7 infecção por milhão de pessoas por ano, a hialo-hifomicose (*Fusarium, Acremonium*, etc.) à taxa de 1,2 infecção por milhão ao ano, e a feo-hifomicose (fungos filamentosos demáceos) à taxa de 1 infecção por milhão ao ano (Cap. 5, Tab. 5-1).

Tabela 74-1 Fatores Predisponentes para Micoses Oportunistas

Fator	Possível Papel na Infecção	Principais Patógenos Oportunistas
Agentes antimicrobianos (número e duração)	Promover a colonização de fungosFornecer acesso intravascular	*Candida* spp., outros fungos leveduriformes
Corticosteroide adrenal	Imunossupressão	*Cryptococcus* spp. *Aspergillus* spp., zigomicetos, outros fungos filamentosos, *Pneumocystis jirovecii*
Quimioterapia	Imunossupressão	*Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Pneumocystis jirovecii*
Tumores malignos hematológicos e do	Imunossupressão	*Candida* spp., *Aspergillus* spp., zigomicetos, outros fungos

hematológicos e de órgãos sólidos	Imunossupressão	filamentosos e fungos leveduriformes, *Pneumocystis jirovecii*
Colonização prévia	Translocação através da mucosa	*Candida* spp.
Cateter de demora (venosa central, transdução de pressão, Swan-Ganz)	Acesso vascular diretoProduto contaminado	*Candida* spp., outros fungos leveduriformes
Nutrição parenteral total	Acesso vascular diretoContaminação de solução	*Candida* spp., *Malassezia* spp., outros fungos leveduriformes
Neutropenia (células brancas <500/mm^3)	Imunossupressão	*Aspergillus* spp., *Candida* spp., outros fungos filamentosos e fungos leveduriformes
Cirurgia extensa ou queimaduras	Via de infecçãoAcesso vascular direto	*Candida* spp., *Fusarium* spp., zigomicetos
Ventilação assistida	Via de infecção	*Candida* spp., *Aspergillus* spp.
Hospitalização ou permanência em unidade de terapia intensiva	Exposição a patógenosExposição a fatores de risco adicionais	*Candida* spp., outros fungos leveduriformes, *Aspergillus* spp.
Hemodiálise, diálise peritoneal	Via de infecçãoImunossupressão	*Candida* spp., *Rhodotorula* spp., outros fungos leveduriformes
Desnutrição	Imunossupressão	*Pneumocystis, Candida* spp., *Cryptococcus* spp.
Infecção por HIV/AIDS	Imunossupressão	*Cryptococcus* spp., *Pneumocystis, Candida* spp.
Extremos etários	Imunossupressão Numerosas comorbidades	*Candida* spp.

Quadro 74-1 Agentes de Micoses Oportunistas[*]

Candida

C. albicans

C. glabrata

C. parapsilosis

C. tropicalis

C. krusei

C. lusitaniae

C. guilliermondii

C. dubliniensis

C. rugosa

Cryptococcus spp. e Outros Fungos Leveduriformes Oportunistas

Cryptococcus spp.

Malassezia spp.

Trichosporon spp.

Rhodotorula spp.

Blastoschizomyces capitatus

Espécies de *Aspergillus*

A. fumigatus

A. flavus

A. niger

A. versicolor

A. terreus

Zigomicetos

Rhizopus spp.

Mucor spp.

Rhizomucor spp.

Absidia spp.

Cunninghamella spp.

Outros Fungos Filamentosos Hialinos

Fusarium spp.

Acremonium spp.

Scedosporium spp.

Paecilomyces spp.

Trichoderma spp.

Scopulariopsis spp.

Fungos Filamentosos Demáceos

Alternaria spp.

Bipolaris spp.

Cladophialophora spp.

Curvularia spp.

Exophiala spp.

Exserohilum spp.

Wangiella spp.

Pneumocystis jirovecii

* Agentes mais frequentes.

Devido à complexidade dos pacientes com risco de contrair infecção e a série variada de patógenos fúngicos, as micoses oportunistas representam um desafio diagnóstico e terapêutico considerável. O diagnóstico depende de uma suspeita clínica altamente significativa (pense **FUNGO**) e da obtenção de material apropriado para cultura e histopatologia. O isolamento e a identificação dos organismos infectantes são muito importantes no tratamento adequado de infecções causadas por fungos oportunistas menos comuns. Alguns desses organismos são inerentes não suscetíveis à terapia padrão com azólicos e polienos (Cap. 70) podendo exigir o uso de outros agentes antifúngicos em complemento ao tratamento cirúrgico e à reversão das deficiências das defesas do hospedeiro.

Candidose

Está comprovado que as espécies de *Candida* constituem o grupo mais importante de patógenos fúngicos oportunistas. *Candida* spp. é a quarta causa mais comum de infecções sanguíneas (BSI, do inglês, *bloodstream infection*) nosocomiais (adquiridas no hospital), superando aqueles formados por qualquer patógeno Gram negativo individual (Tab. 74-2, caso clínico 74-1). Entre 1980 e atualmente, a frequência de BSI por *Candida* vem aumentando regularmente em todos hospitais e em todos os grupos etários (Cap. 5, Tab. 5-2).

Tabela 74-2 Infecções nosocomiais da corrente sanguínea: Patógenos associados mais frequentes — Programa SCOPE de vigilância.

Classificação	Patógeno	% de Isolados*
1	Estafilococos coagulase-negativa	31,3
2	*Staphylococcus aureus*	20,2
3	*Enterococcus* spp.	9,4
4	*Candida* spp.	9,0
5	*Escherichia coli*	5,6
6	*Klebsiella* spp.	4,8
7	*Pseudomonas aeruginosa*	4,3
8	*Enterobacter spp*.	3,9
9	*Serratia spp*.	1,7
10	*Acinetobacter baumannii*	1,3

* *Porcentagem de um total de 20.978 infecções.*

Dado de Wisplinghoff H. et al: Nosacomial bloodstream infections in U.S. hospitais: analysis of 24.179 cases from a porospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 39: 309, 2004.

Caso Clínico 74-1 Candidemia

Posteraro et al. (J Clin Microbiol 44: 3046-3047, 2006) descreveram um caso de fungemia recorrente em uma mulher de 35 anos de idade. A paciente foi atendida na 5ª semana de gestação após inseminação intrauterina. Ela apresentava febre, taquicardia e hipotensão. A contagem de células brancas era de 23.500 por microlitro com 78% de neutrófilos. Teve um aborto espontâneo. Foi diagnosticada severa corioamnionite, tecido da placenta e fetal foram cultivados, cultura de sangue e *swab* vaginal foram obtidos. A paciente foi tratada com agentes antibacterianos de amplo espectro. Cinco dias após, não foi observada melhora clínica. Na hemocultura e na amostra da placenta cresceu a levedura *Candida glabrata*, que também foi isolada da cultura vaginal da paciente. A concentração inibitório mínima (CIM) de fluconazol indicou que o organismo era suscetível, e a paciente foi tratada com este antifúngico. Quatro semanas mais tarde, ela apresentou completa resolução de seus sintomas, com erradicação do fungo da corrente sanguínea. O tratamento antifúngico foi descontinuado, a paciente recebeu alta, e foi para casa, onde esteve bem. Seis meses depois,

foi novamente internada no hospital com febre, calafrios e fadiga. As células brancas estavam elevadas com 21.500 por microlitro e 73% de neutrófilos. Consecutivas hemoculturas apresentaram resultado positivo para *C. glabrata*, que também foi encontrada na cultura do fluido vaginal. Todos os isolados encontrados foram resistentes ao fluconazol. Baseado nestes achados, a paciente foi tratada com anfotericina B. Em uma semana, a condição clínica da paciente melhorou. Após um mês de tratamento com anfotericina B, as hemoculturas apresentaram resultado negativo e ela recebeu alta do hospital. Três anos mais tarde, permaneceu livre de evidências da infecção.

Este caso é atípico, em que a paciente não era imunossuprimida, ainda apresentou candidemia recorrente com *C. glabrata*. O uso de fluconazol na terapia inicial, embora aparentemente bem sucedida, induziu maior expressão de bombas de efluxo no organismo e permitiu posteriormente que isolados se tornassem resistentes ao fluconazol e outros azólicos.

Embora mais de 100 espécies de *Candida* já tenham sido descritas, apenas algumas têm sido implicadas com infecções clínicas (Quadro 74-1). *Candida albicans* é a espécie isolada com mais frequência de material clínico e responde, em geral, por 90% a 100% de isolados mucosos e 50% a 70% dos isolados de infecções sanguíneas (BSI) (Tab. 74-3). Cerca de 95% de todas as BSI por *Candida* são causadas por quatros espécies: *C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (Tab. 74-3). Entre essas espécies comuns, apenas *C. glabrata* pode ser considerada como causa verdadeiramente "emergente" de BSI devido, em parte, à sua resistência intrínseca e adquirida aos azólicos e a outros agentes antifúngicos normalmente usados. Os 5% remanescentes dos casos de BSI por *Candida* abrangem 12 a 14 espécies diferentes, incluindo *C. krusei, C. lusitaniae, C. dubliniensis* e *C. rugosa*, entre outras (Quadro 74-1). Embora essas espécies devam ser consideradas como causas "raras" de candidose, várias têm sido observadas ocorrendo em agrupamentos nosocomiais ou exibindo resistência inata ou adquirida a um ou mais dos agentes antifúngicos estabelecidos.

Tabela 74-3 Distribuição de Espécies de Isolados Clínicos de *Candida* por Ano: Dados do Programa Global de Vigilância Antifúngica, 1997-2005

Tabela 74-3. Distribuição de Espécies de Isolados Clínicos de *Candida* por Ano: Dados do Programa Global de Vigilância Antifúngica, 1997-2005

	% de Isolados por Ano (N° testado)					
Espécie	*1997-2000*	*2001*	*2002*	*2003*	*2004*	*2005*
Total de casos	(55.229)	(21.809)	(24.680)	(33.002)	(33.406)	(28.387)
C. albicans	70,9	65,4	61,4	62,3	62,8	65,9
C. glabrata	10,2	11,1	10,7	12,0	11,7	11,2
C. tropicalis	5,4	7,5	7,4	7,5	7,5	7,6
C. parapsilosis	4,8	6,9	6,6	7,3	6,7	5,6
C. Krusei	2,2	2,5	2,6	2,7	2,3	2,4
C. guilliermondii	0,7	0,7	1,0	0,8	0,7	0,7
C. lusitaniae	0,5	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6

Adaptado de Pfaller MA, et al: Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997-2005: An 8.5-year analysis of susceptibility of Candida and other yeast species to fluconazole and voriconazole by CLSI standardized disk diffusion testing J Clin Microbiol 45: 1735, 2007.

Morfologia

Todas as espécies de *Candida* possuem formas de leveduras ovaladas (3 a 5µm) que produzem brotamentos ou blastoconídios. As espécies de *Candida*, exceto *C. glabrata*, também produzem pseudo-hifas e hifas verdadeiras (Fig. 74-1; também Cap. 5, Fig. 5-2 A e Cap. 69, Fig. 69-1). Além disso, *C. albicans* forma tubos germinativos (Cap. 5, Fig. 5-2) e clamidoconídios terminais de paredes espessas (Fig. 74-2). *C. glabrata*, a segunda espécie mais comum de *Candida* em muitos ambientes, é incapaz, na maioria das vezes, de formar pseudo-hifas, tubos germinativos ou hifas verdadeiras. Em cortes histológicos, todas *Candida* spp. são fracamente coradas com hematoxilina e eosina (H&E), mas coram intensamente com os corantes: ácido periódico de Schiff, metanamina prata de Gomori e de Gridley para fungos.

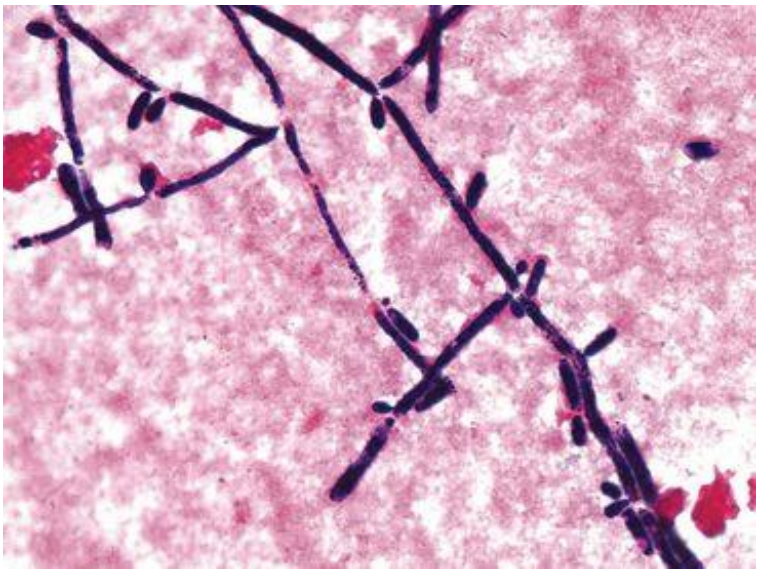


Figura 74-1 Blastoconídios e pseudo-hifas de *Candida tropicalis* (Corante de Gram, ampliação de × 1.000).

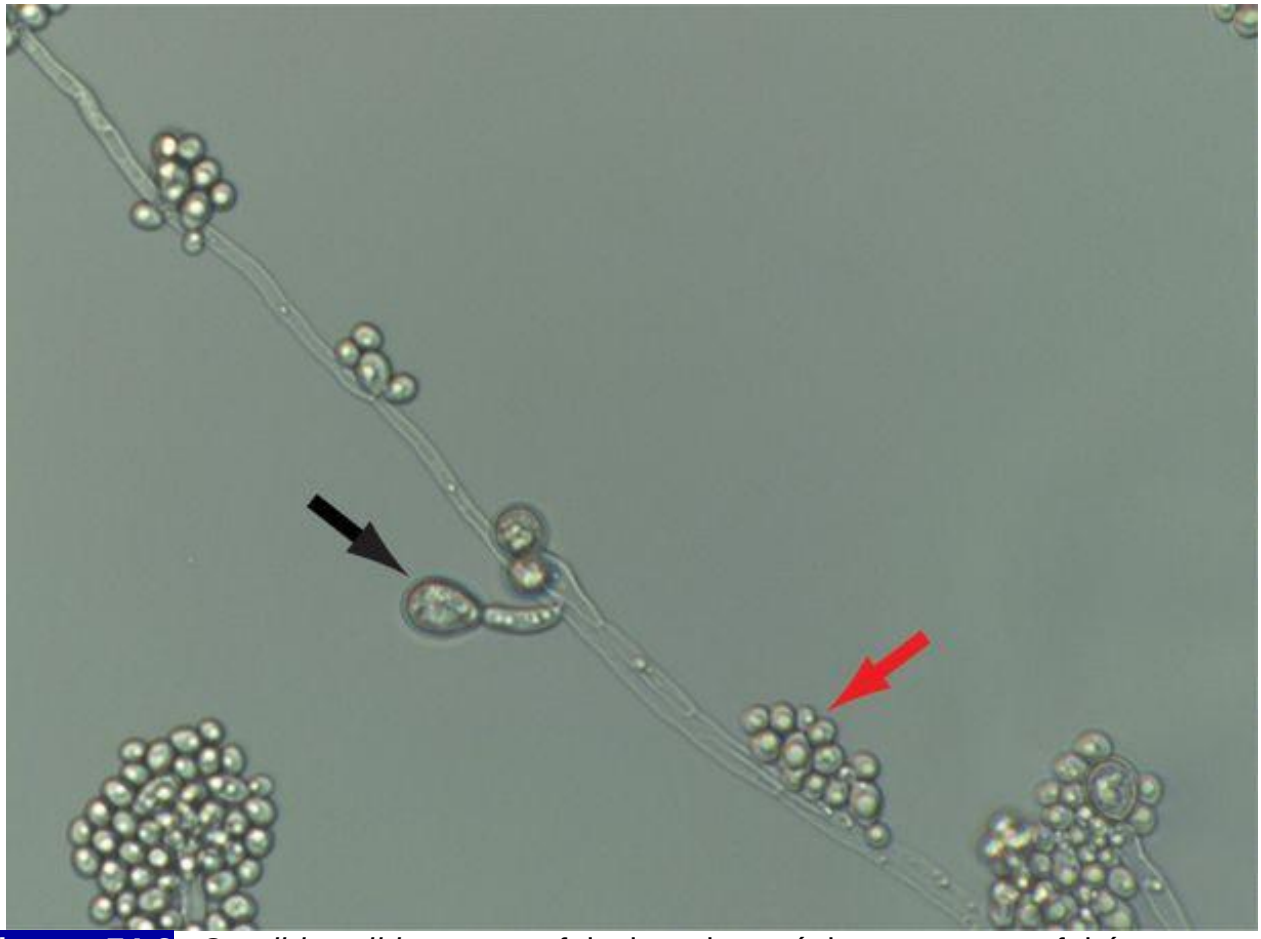


Figura 74-2 *Candida albicans*: morfologia microscópica em agar fubá mostrando clamidoconídios grandes (*seta preta*), blastoconídios (*seta vermelha*), hifas e pseudo-hifas.

Em cultura, a maioria das *Candida* spp. formam colônias brancas, lisas, cremosas e convexas. *C. albicans* e outras espécies também podem sofrer **alterações de fenótipo** na qual uma única cepa de *Candida* pode se alterar de maneira reversível entre vários tipos morfológicos, variando desde colônias típicas, brancas e lisas compostas predominantemente de células leveduriformes e em brotamento, até colônias muito “felpudas” ou “cabeludas” compostas principalmente de pseudo-hifas e hifas. A frequência do fenômeno de alteração é alta demais para resultar de mutações genéticas e baixa demais para ser atribuível à conversão de massa, por meio da qual todas as células na população alteram seu fenótipo em resposta a sinais provenientes do ambiente. É provável que a alteração funcione como um tipo de sistema mestre em *C. albicans* e em outras espécies para uma resposta rápida ao nível das células individuais às mudanças no microambiente local. Já foi defendido que essa troca de fenótipo explica a habilidade de *C. albicans* em sobreviver em muitos diferentes micronichos ambientais no hospedeiro humano.

Epidemiologia

Candida spp. colonizam o homem e outros animais de sangue quente e sendo encontradas no homem e na natureza em todo o mundo. O principal sítio de colonização é o trato gastrointestinal (GI), desde a boca até o reto. Esses organismos também podem ser encontrados como comensais na vagina e na uretra, na pele e sob as unhas das mãos e dos pés. *C. albicans*, agente etiológico mais comum da doença no homem, também já foi encontrado, além de humanos e animais, no ar, na água e no solo.

Estima-se que 25% a 50% dos indivíduos sadios possuam *Candida* como parte da microbiota normal da boca, sendo *C. albicans* responsável por 70% a 80% dos isolados. As taxas de portadores normais se mostram substancialmente elevadas em pacientes hospitalizados, portadores de infecção pelo HIV, usuários de próteses dentárias, diabéticos, pacientes sob quimioterapia antineoplásica, recebendo antibióticos, e crianças. Virtualmente todos os seres humanos podem ser portadores de uma ou mais espécies de Candida em seu trato GI, e os níveis da colonização podem aumentar até a detecção em doenças ou em outras circunstâncias na quais os mecanismos de supressão microbiana do hospedeiro se tornem comprometidos.

A fonte predominante de infecção causada por *Candida* spp. — desde doença da mucosa superficial e cutânea até a disseminação hematogênica – é o próprio paciente. Ou seja, a maioria dos tipos de candidose representa infecções **endógenas** nas quais a microbiota normalmente comensal do hospedeiro se aproveita da "oportunidade" para causar a infecção. Para isso, é necessário que ocorra enfraquecimento da barreira do hospedeiro contra *Candida*. No caso de BSI por *Candida*, a transferência do organismo desde a mucosa GI até a corrente sanguínea exige o supercrescimento prévio do número de leveduras em seu hábitat comensal associado ao rompimento na integridade da mucosa gastrointestinal.

A transmissão **exógena** da *Candida* também pode ser responsável por grande parte de certos tipos de candidose. Os exemplos incluem o uso de soluções contaminadas, nutrição parenteral, transdutores de pressão vascular, válvulas cardíacas e córneas. A transmissão de *Candida* spp. por profissionais de saúde para pacientes e de paciente para paciente também já está bem documentada, especialmente no ambiente das unidades de terapia intensiva. As mãos dos profissionais de saúde servem como reservatórios potenciais para a transmissão nosocomial desses organismos.

Entre as várias espécies de *Candida* capazes de causar infecções humanas (Quadro 74-1 e Tab. 74-3), *C. albicans* predomina na maioria das infecções. As infecções de sítios genitais, cutâneos e orais quase sempre envolvem *C. albicans*. Uma série mais ampla de *Candida* spp. pode causar BSI e, embora *C. albicans* geralmente predomine (Tab. 74-3), a frequência com a qual essa e outras espécies de *Candida* são isoladas do sangue varia consideravelmente conforme a idade do paciente (Fig. 74-3) e do ambiente local, regional ou global (Tab. 74-4). Embora, *C. albicans* e *C. parapsilosis* sejam predominantemente a causa de BSI entre lactentes e crianças, se observa diminuição da infecção causada por esses dois organismos e aumento proeminente nas infecções por *C. glabrata* entre idosos (Fig. 74-3). Da mesma forma, embora *C. glabrata* seja a segunda espécie mais comum a causar BSI na América do Norte, ela é vista em baixa frequência na América Latina, onde *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são mais comuns (Tab. 74-4). As diferenças no número e nos tipos de *Candida* spp. causadoras de infecção podem ser influenciadas por numerosos fatores, incluindo idade do paciente, aumento da imunossupressão, exposição a agentes antifúngicos ou a diferenças na prática de controle de infecções. Cada um desses fatores, isoladamente ou combinados, pode afetar a prevalência de diferentes *Candida* spp. em cada instituição. Por exemplo, o uso de azólicos (p. ex., fluconazol) para profilaxia antifúngica pode aumentar a probabilidade de infecções causadas por *C. glabrata* e *C. krusei*, duas espécies com suscetibilidade reduzida a essa classe de agentes antifúngicos. Da mesma forma, falhas nas precauções no controle das infecções e cuidado no uso de cateteres vasculares podem levar a mais ocorrências de *C. parapsilosis*, a espécie predominante isolada das mãos de profissionais de saúde e causa frequente de fungemia relacionada a cateteres.

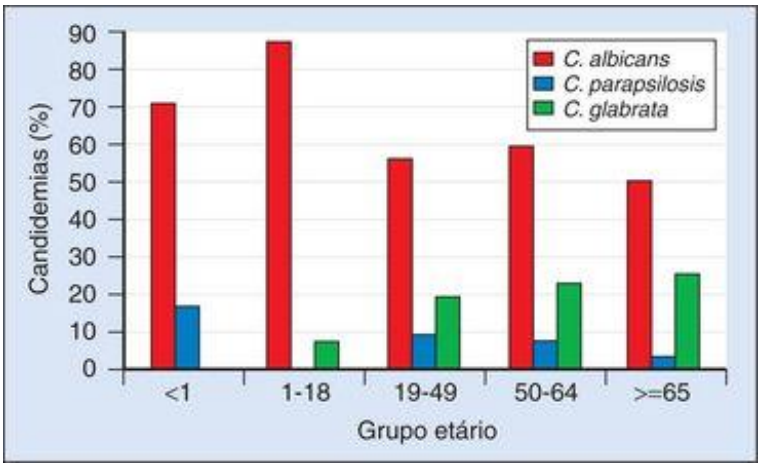


Figura 74-3 Porcentagem de todas as candidemias causadas por *Candida* spp. selecionadas em cada grupo etário. Dados da pesquisa *"Emerging Infections and the Epidemiology of Iowa Organisms Survey", 1998 a 2001.*

(Reproduzido de Pfaller MA, Diekema DJ: Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 20: 133, 2007).

Tabela 74-4 Distribuição de Espécie de *Candida* Isoladas de Infecção da Corrente Sanguínea, por Região Geográfica

Tabela 74-4. Distribuição de Espécie de *Candida* Isoladas de Infecção da Corrente Sanguínea, por Região Geográfica

Região	Número de Hospitais	Número de Isolados	% de Isolados por Espécie					
			CA	*CG*	*CP*	*CT*	*CK*	*Outros*
Ásia-Pacífico	17	441	73,5	10,2	8,4	3,9	3,2	0,8
Europa	40	775	57,6	12,9	14,1	7,5	3,4	4,5
América Latina	18	560	46,6	7,5	17,1	21,3	3,6	3,3
Canadá	8	623	58,9	20,1	10,3	5,9	2,4	2,4
EUA	167	3.683	54,4	18,3	13,2	9,6	2,1	2,4
Total	250	6.082	55,9	16,2	13,1	9,6	2,5	2,7

Adaptado de Pfaller MA, Diekema DJ: Twelve years of fluconazole in clinical practice: Global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of Candida. Clin Microbiol Infect 10 [Suppl 1]: 11-23, 2004.
CA = Candida albicans; CG = Candida glabrata; CP = Candida parapsilosis; CT = Candida tropicalis; CK = Candida krusei.

As consequências da BSI por *Candida* em pacientes hospitalizados são graves. Estes, apresentando candidemia, têm mostrado risco duas vezes maior de morte no hospital do que aqueles com BSI não causada por *Candida*. Entre todos os pacientes com BSI nosocomial (adquirida no hospital), a candidemia foi considerada um prognóstico independente de morte em hospitais. Embora as estimativas de mortalidade possam ser confundidas pela natureza grave das doenças subjacentes em muitos desses pacientes, estudos de comparação com cortes confirmaram que a mortalidade diretamente atribuível à infecção fúngica é significativamente alta (Tab. 74-5). Notadamente, a mortalidade atribuída à candidemia não diminuiu em relação àquela observada na metade dos anos 1980 e à observada nos dias atuais, apesar da introdução de novos agentes antifúngicos com atividade satisfatória contra a maioria das espécies de *Candida*.

Tabela 74-5 Mortalidade Geral e Atribuída em Infecções Nosocomiais por *Candida* e *Aspergillus*

Tabela 74-5. Mortalidade Geral e Atribuída em Infecções Nosocomiais por *Candida* e *Aspergillus*

Tipo de Taxa de Mortalidade	Mortalidade Porcentual		
	*Candida**		*Aspergillus*†
	1988	*2001*	*1991*
Mortalidade geral			
Casos	57	61	95
Controles	19	12	10
Mortalidade atribuída	38	49	85

**Pacientes com candidemia. (Dados de Wey SB et al: Hospital-acquired candidemia: attributable mortality and excess length of stay. Arch Intern Med 148: 2642-2645, 1988; e de Gudlagson O et al: Attributable mortality of nosocomial candidemia, revised. Clin Infect Dis 37: 1172-1177, 2003).*
†Pacientes submetidos a transplante de medula óssea com aspergilose pulmonar invasiva. Dados de Pannuti CS et al: Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation: A 9-year study. J Clin Oncol 9: 1-5, 1991.

Sabe-se mais sobre a epidemiologia de candidemia nosocomial que sobre qualquer outra infecção fúngica. As evidências acumuladas nos permitem propor uma visão geral sobre essa infecção nosocomial (Fig. 74-4). Certos indivíduos hospitalizados se mostram nitidamente com alto risco de adquirirem candidemia durante a hospitalização, como resultado de suas condições clínicas subjacentes: pacientes com tumores hematológicos malignos ou neutropenia, aqueles submetidos à cirurgia do trato gastrointestinal e bebês prematuros como os idosos acima de 70 anos (Tab. 74-1 e Fig. 74-4). Comparados aos indivíduos dos grupos-controle sem os fatores específicos de risco ou de exposições, a probabilidade desses pacientes já com alto risco contraírem candidemia no hospital é cerca de duas vezes maior para cada classe de antibiótico que recebem, sete vezes maior se estiverem usando um cateter venoso central, 10 vezes maior se forem encontradas colônias de *Candida* em outros sítios anatômicos, e 18 vezes maior se o paciente tiver sido submetido a hemodiálise. A hospitalização no ambiente de terapia intensiva (UTI) fornece a oportunidade para a transmissão de *Candida* entre pacientes e já demonstrou ser um fator de risco adicional independente.

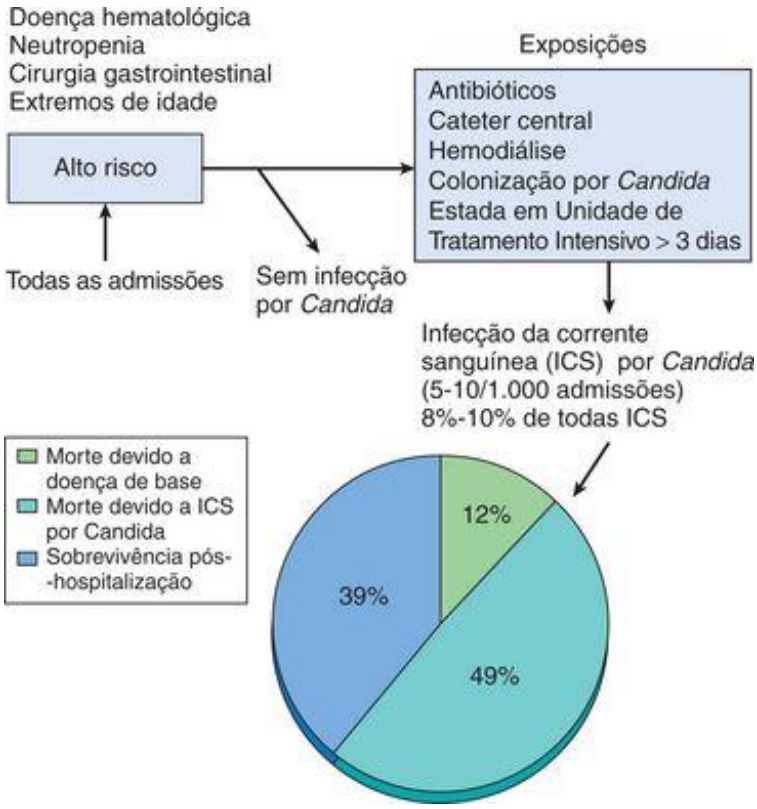


Figura 74-4 Visão global de candidemia nosocomial. GI= gastrointestinal; UTI= unidade de tratamento intensivo.

(Adaptado de Pfaller MA, Wenzel RP: The epidemiology of fungal infections. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds): Clinical Mycology, New York, Churchill Livingstone, 2003.)

Os dados epidemiológicos disponíveis indicam que entre 5 a 10 de cada 1.000 pacientes com alto risco expostos aos fatores anteriormente mencionados contrairão BSI causada por *Candida* spp. (8% a 10% de todas as BSI nosocomiais; Tab. 74-2). Cerca de 49% desses pacientes evoluem para óbito como resultado da infecção, 12% por causa da doença subjacente e 39% sobrevivem à hospitalização (Fig. 74-4). Esse cenário não se alterou e pode piorar em relação ao que ocorreu em meados de 1980. O resultado para quase a metade daqueles pacientes com candidemia poderia ter melhorado com meios mais eficazes de prevenção, diagnóstico e terapia. Nitidamente, o mais desejável é a prevenção, que é mais bem executada por controle rigoroso de exposição aos fatores de risco, especialmente pela limitação no uso de antibióticos de amplo espectro, aperfeiçoamento dos cuidados com cateteres e cumprimento das práticas de controle de infecção.

Síndromes Clínicas

No ambiente certo, *Candida* spp. pode causar infecções clinicamente evidentes em virtualmente qualquer sistema orgânico (Tab. 74-6). Essas infecções variam desde a candidose superficial mucosa e cutânea até a disseminação hematogênica muito extensa, envolvendo órgãos-alvo como fígado, baço, rins, coração e cérebro. Neste último caso, a mortalidade diretamente atribuível ao processo infeccioso chega a 50% (Tab. 74-5 e Fig. 74-4).

Tabela 74-6 Tipos de Infecção por Candida e Fatores Predisponentes Associados

Tipo de Doença	Fatores Predisponentes
Infecção orofaríngea	Extremos etários Usuários de próteses dentárias Diabete melito Uso de antibióticos Radioterapia para câncer de cabeça e pescoço Esteroides inalados e sistêmicos Quimioterapia citotóxica Infecção por HIV Tumores hematológicos malignos Transplante de células-tronco ou de órgãos sólidos
Esofagite	Corticosteroides sistêmicos AIDS Câncer Transplante de células-tronco ou de órgãos sólidos
Infecção vulvovaginal	Contraceptivos orais Gravidez Diabete melitoCorticosteroides sistêmicos Infecção por HIV Uso de antibióticos
Infecções da pele e das unhas	Umidade e oclusão localizadas Imersão das mãos em água Doença vascular periférica
Candidose mucocutânea crônica	Defeitos de linfócitos T

Infecção do trato urinário	Cateter urinário de demora Obstrução urinária Procedimentos urináriosDiabete melito
Pneumonia	Aspiração
Endocardite	Cirurgia de grande porte Doença valvular anterior Prótese valvar Uso de fármaco endovenoso Cateter venoso central de longa duração
Pericardite	Cirurgia torácica Imunossupressão
Infecção do sistema nervoso central (SNC)	Cirurgia SNC Desvio ventriculoperitoneal Cirurgia ocular
Infecção ocular	Trauma Cirurgia
Infecção dos ossos e articulações	Trauma Injeções intra-articulares Pé diabético
Infecção abdominal	Perfuração Cirurgia abdominal Vazamentos anastomóticos Pancreatite Diálise peritoneal contínua em ambulatório
Infecção hematogênica	Transplante de órgãos sólidos Colonização Uso prolongado de antibióticos Cirurgia abdominal Suporte com cuidados intensivos

	Nutrição parenteral total HemodiáliseImunossupressão Extremos etários Transplante de células-tronco

Adaptado de Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ: Candida. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds): Clinical mycology, New York, Churchill Livingstone, 2003.

As infecções mucosas causadas por *Candida* spp. (conhecidas como "sapinho") podem se limitar à orofaringe ou se estender para o esôfago e todo o trato gastrointestinal. Nas mulheres, a mucosa vaginal constitui também um sítio comum de infecção. As infecções são observadas geralmente em pessoas com imunossupressão local ou generalizada ou nos ambientes que favorecem o crescimento exagerado dos organismos infecciosos (Tab. 74-6). Essas infecções se apresentam normalmente com manchas brancas semelhantes a queijo *cottage* na superfície mucosa. Outras apresentações incluem o tipo **pseudomembranoso**, que revela uma superfície que sangra quando removida; o tipo **eritematoso**, representado por áreas planas, avermelhadas e ocasionalmente doloridas; a **leucoplasia** por *Candida*, que é o espaçamento esbranquiçado e irremovível de epitélio, causada por *Candida* spp. e a **quelite** angular, representada por fissuras doloridas nos cantos da boca.

Candida spp. pode provocar infecçção cutânea localizada em áreas nas quais a superfície da pele é ocluída e úmida (p. ex., região inguinal, axilas, membranas dos dedos dos pés e dobras da mama). Essas infecções se apresentam como um exantema, com prurido e lesões vesiculopustulares eritematosas.

Quadros de onicomicose e paroníquia podem ocorrer no ambiente da microbiota microbiana mista que inclui *Candida*. As espécies mais frequentemente envolvidas são *C. albicans, C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*.

Lesões de pele também podem aparecer durante o curso da disseminação hematogênica. Essas lesões são fundamentais no diagnóstico, podendo ser submetidas diretamente à biópsia e fornecer um diagnóstico etiológico de um processo sistêmico.

A candidose mucocutânea crônica é um quadro raro marcado por uma deficiência na capacidade de resposta dos linfócitos T a *Candida* spp. Esses pacientes sofrem de lesões mucocutâneas graves e irreversíveis causadas por *Candida* que incluem o envolvimento das unhas e a vaginite. Essas lesões podem se tornar significativamente extensas, chegando a uma aparência granulomatosa desfigurante.

O envolvimento do trato urinário com *Candida* spp. varia desde a colonização assintomática da bexiga até abscessos renais secundários à disseminação hematogênica. A colonização da bexiga por *Candida* spp. não é essencialmente notada, a menos que um paciente precise usar um cateter de longa permanência, tenha diabetes, sofra de obstrução urinária ou passou por procedimentos urinários anteriores. A colonização benigna desse órgão é mais comum nesses quadros, mas podem ocorrer quadros de uretrite ou cistite. A colonização hematogênica do rim pode resultar em abscesso renal, necrose papilar ou em "bola fúngica" na uretra ou na pelve renal.

A peritonite por *Candida* pode ser observada no ambiente de diálise peritoneal crônica ambulatorial ou após cirurgia gastrointestinal, vazamento anastomótico ou perfuração do intestino. Essas infecções podem permanecer localizadas no abdome, envolver órgãos adjacentes ou levar à candidose hematogênica.

Esse quadro de candidose hematogênica pode ser agudo ou crônico e normalmente resulta em colonização de tecidos profundos, incluindo vísceras abdominais, coração, olhos, ossos e articulações, além do cérebro. A candidose hepatosplênica crônica pode ocorrer após fungemia oculta ou aberta e se apresentar como um processo indolente marcado por febre, níveis elevados de fosfatase alcalina e lesões múltiplas no fígado e no baço.

A candidose do sistema nervoso central pode ocorrer como resultado da doença hematogênica ou estar associada a procedimentos neurocirúrgicos e desvios ventriculoperitoniais. Esse processo pode limitar um quadro de meningite bacteriana, ou então se apresentar como um curso indolente ou crônico.

A maioria dos casos de envolvimento cardíaco com *Candida* spp. resulta da colonização hematogênica de uma válvula cardíaca danificada ou protética, do miocárdio ou do espaço pericárdico. A literatura informa casos de implantação de válvulas cardíacas contaminadas com *C. parapsilosis*. A apresentação clínica lembra a endocardite bacteriana com febre e um sopro cardíaco novo ou alterado. As vegetações são classicamente grandes e friáveis e os eventos embólicos são mais comuns nos quadros causados por *Candida* spp. que na endocardite bacteriana.

Os pacientes com candidose hematogênica demonstram envolvimento frequente dos olhos, manifestando quadros de coriorretinite e endoftalmite. Por essa razão, todos os pacientes com risco de candidemia deverão passar por exames oftálmicos cuidadosos e frequentes. Outra ocorrência comum é a ceratite traumática.

As infecções dos ossos e das articulações causadas por *Candida* spp. são quase sempre sequelas de candidemia. Com frequência, essas infecções aparecerão vários meses após o tratamento bem-sucedido da candidemia. Desta forma, a candidemia oculta ou “transitória” pode resultar em colonização de um foco ósseo que mais tarde se torna clinicamente aparente. A osteomielite vertebral é uma apresentação frequente com dores locais e febre baixa.

Embora a candidose hematogênica seja, com mais frequência, uma infecção endógena que surge dos tratos gastrointestinal ou genitourinário, também pode resultar da contaminação de cateter de longa duração. Os organismos transferidos para o cubo ou lúmen do cateter podem formar um biofilme no interior do lúmen, com disseminação subsequente na circulação. Embora essas infecções não sejam menos graves que aquelas decorrentes de fontes endógenas, podem ser tratadas com um pouco mais de sucesso, já que a remoção do cateter retira essencialmente o foco da infecção. Naturalmente, se o cateter infectado resultou na colonização de órgãos distantes, as consequências e os problemas no tratamento da infecção serão os mesmos que aqueles enfrentados ao se tratarem infecções resultantes de fontes endógenas.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial de candidose envolve a busca do material clínico apropriado, seguido do exame microscópico direto da cultura (Cap. 69). Raspados de lesões cutâneas ou da mucosa podem ser examinadas diretamente após tratamento com hidróxido de potássio (KOH) a 10% ou 20%, com calcoflúor. As formas de leveduras em brotamento e as pseudo-hifas são facilmente detectadas no exame com microscópio de fluorescência (Fig. 69-1). A cultura em meio micológico padrão permitirá o isolamento do organismo para identificação subsequente quanto à espécie. Adicionalmente, esses espécimes são semeadas diretamente em meio cromogênico seletivo como CHROMagar que permite a detecção de espécies misturadas de *Candida* dentro do espécime e a identificação rápida de *C. albicans* (colônias verdes) e de *C. tropicalis* (colônias azuis) com base em sua aparência morfológica (Fig. 74-5).

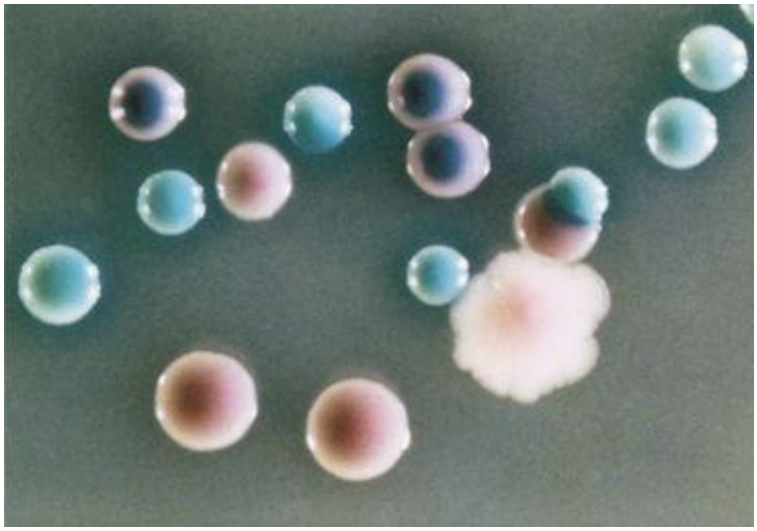


Figura 74-5 Diferenciação de espécies de *Candida* isoladas em CHROMagar *Candida*. As colônias verdes são de *C. albicans*; as cinza-azuladas são de *C. tropicalis*, e a colônia grande, rugosa e rosa pálido é de *C. krusei*. As colônias lisas, rosa ou malva são outras espécies de leveduras (somente *C. albicans, C. tropicalis* e *C. krusei* podem ser confiavelmente reconhecidas nesse meio, outras espécies apresentam colônias variando de branco a rosa, a malva).

(De Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds): Clinical Mycology, New York, Churchill Livingstone, 2003.)

Todos os outros tipos de infecção exigem cultura para diagnóstico, a menos que se possam obter amostras de tecido para exame histopatológico (Cap. 69). Sempre que possível, as lesões de pele deverão ser biopsiadas, e os cortes histológicos submetidos ao corante GMS ou a outro corante específico para fungo. A visualização das leveduras em brotamento e das pseudohifas é suficiente para o diagnóstico de candidose (Fig. 74-6). Culturas de sangue, tecidos e, normalmente, de fluídos corporais estéreis também deverão ser conduzidas. A identificação de isolados de *Candida* até o nível de espécie é importante, dadas as diferenças na resposta aos vários agentes antifúngicos (Cap. 70). Essa identificação pode ser obtida, como escrito no Cap. 69, por meio do teste de tubo germinativo (*C. albicans*), por vários meios e testes cromogênicos (Fig. 74-5) e pelos painéis de assimilação de açúcar disponíveis no comércio.

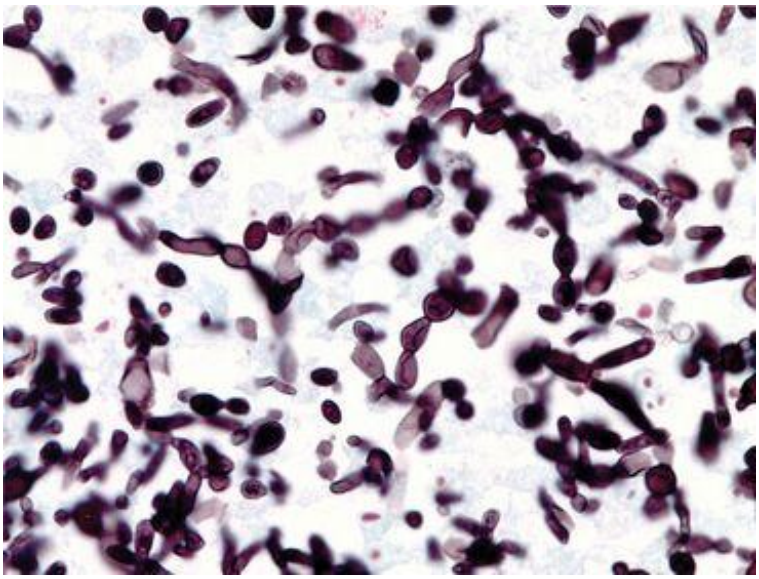


Figura 74-6 *Candida* corada com GMS demonstrando leveduras em brotamento e pseudo-hifas. ×1.000.

Os marcadores imunológicos, bioquímicos e moleculares para diagnóstico de candidose são descritos no Cap. 69, mas, infelizmente, esses métodos ainda não são adequados para uso no diagnóstico clínico de rotina.

Tratamento, Prevenção e Controle

Há várias opções de tratamento para candidose (Cap. 70). As infecções mucosas e cutâneas podem ser tratadas com vários cremes tópicos diferentes como loções, pomadas e supositórios contendo vários agentes antifúngicos à base de azólicos (Tab. 70-1). A terapia sistêmica oral dessas infecções também pode ser feita com fluconazol ou com itraconazol.

A colonização da bexiga ou a cistite podem ser tratadas com instilação direta de anfotericina B na bexiga (lavagem da bexiga) ou por administração oral de fluconazol. Entretanto, esses dois procedimentos podem não ter sucesso se o cateter não for removido da bexiga.

As infecções localizadas mais profundas exigem terapia sistêmica, cuja escolha vai depender do tipo de infecção, da espécie infectante e das condições gerais do hospedeiro. Em muitos casos, o fluconazol oral pode ser bem eficaz no tratamento da candidose. Pode ser usado no tratamento de peritonite e em terapias de manutenção mais prolongadas para doenças invasivas após um curso inicial intravenoso de tratamento. O fluconazol é eficiente quando administrado por via intravenosa para o tratamento de candidemia em pacientes não neutropênicos. Aqueles que contraírem candidemia durante a profilaxia com fluconazol ou os que já apresentam infecção documentada causada por *C. krusei* ou *C. glabrata* resistente ao fluconazol podem ser tratados com anfotericina B (convencional ou formulação lipídica) ou uma equinocandina (anidulafungina, caspofungina ou micafungina). Nos ambientes clínicos em que *C. glabrata* ou *C. krusei* possam estar envolvidos no processo infeccioso (como nos casos de terapia/profilaxia anterior com fluconazol ou de situações endêmicas), recomenda-se a terapia inicial com equinocandina ou uma formulação de anfotericina B, com troca para fluconazol (menos tóxico que a anfotericina B, mais barato e disponível para administração oral *versos* a equinocandina), sempre com base na identificação da espécie e nos resultados dos testes de suscetibilidade. Em todas as situações, é importante que o foco da infecção seja removido, se possível. Por isso, os cateteres vasculares deverão ser removidos ou trocados, os abscessos deverão ser drenados, e qualquer outro material implantado e potencialmente infectado deverá ser removido até a maior extensão possível. Desta forma, deve-se cuidar da reconstituição da sistema imune do hospedeiro.

Como ocorre na maioria das doenças infecciosas, a prevenção é a opção preferida ao tratamento de uma infecção estabelecida por *Candida*. Para isso, são obrigatórios: evitar o uso de agentes antimicrobianos de amplo espectro, cuidados meticulosos com os cateteres e obediência rigorosa às precauções de controle de infecções. A diminuição da colonização fornecida pela profilaxia com fluconazol tem demonstrado ser eficaz quando usada em grupos de alto risco **específicos** como os de pacientes receptores de transplantes de medula óssea e de fígado. Essa profilaxia carrega com ela o potencial de selecionar, ou criar, cepas ou espécies que se mostram resistentes ao agente administrado. Isso tem ocorrido com o aparecimento de *C. glabrata* e *C. krusei* resistentes ao fluconazol em algumas instituições, mas o benefício geral em grupos de pacientes de alto risco compensa esta prática. Entretanto, a transferência dessa abordagem para outros grupos de pacientes tem muitos problemas e não deverá ser feita sem um estudo cuidadoso e a estratificação do risco, para identificar pacientes com mais probabilidade de se beneficiarem da profilaxia antifúngica.

Micoses Oportunistas Causadas por *Cryptococcus* spp. e outras Leveduras

Da mesma maneira que a espécies de *Candida* se aproveitam das condições de imunossupressão, dos dispositivos de demora e do uso de antibióticos de amplo espectro, o mesmo acontece com vários fungos leveduriformes diferentes de *Candida* que também encontraram uma “oportunidade” para colonizar e infectar pacientes imunocomprometidos. Esses organismos podem ocupar nichos ambientais ou ser encontrado nos alimentos e na água, embora também possam fazer parte da microbiota humana normal. A lista dessas leveduras oportunistas é extensa, mas limitaremos esta discussão a um patógeno principal, *Cryptococcus* spp., e a quatro gêneros frequentes como patógenos oportunistas: *Malassezia* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp. e *Blastoschizomyces capitatus* (telemorfo, *Dipodascus capitatus*).

Criptococose (Caso Clínico 74-2)

A criptococose é uma micose sistêmica causada por *Cryptococcus* spp., um fungo leveduriforme, basidiomiceto encapsulado. Sua distribuição é mundial e é encontrado como saprófito ubiquitário no solo, especialmente aquele enriquecido com excretos de pombos. Existem quatro sorotipos (A, B, C e D) e três espécies patógenas: *C. neoformans* var *neoformans* (sorotipo D), *C. neoformans* var *grubii* (sorotipo A), e *Cryptococcus gattii* (sorotipos B e C).

Caso Clínico 74-2 Criptococose

Pappas e colegas (www.FrontlineFungus.org) descreveram um caso de criptococose em um paciente transplantado de coração. O paciente de 56 anos de idade, que sofreu uma cirurgia de transplante de coração 3 anos antes, apresentou novo quadro de celulite em sua perna esquerda e cefaleia leve durante 2 semanas. O paciente sob terapia imunossupressiva crônica com ciclosporina, azatioprina e prednisona foi internado para administração de antibióticos intravenosos (IV). Apesar de 5 dias de nafcilina IV, o paciente não melhorou e uma biópsia de pele da área da celulite foi enviada para estudo histopatológico e cultura. Os resultados laboratoriais revelaram a presença de leveduras compatíveis com *Cryptococcus* spp. Uma punção lombar também foi realizada, e o exame do fluido cerebroespinhal (CSF – *cerebrospinal fluid*) se apresentou turvo e com elevada pressão de abertura de 420mm H_2O. Um exame microscópico revelou leveduras encapsuladas com brotamentos. Títulos de antígeno criptocóccico de CSF e sangue foram marcadamente elevados. As culturas de sangue, CSF e biópsia de pele apresentaram crescimento de *C. neoformans*. Terapia sistêmica antifúngica com anfotericina B e flucitosina foi iniciada. Infelizmente, o paciente sofreu declínio mental, apesar da intervenção agressiva no controle da pressão intracraniana e maximização das doses de antifúngicos. Ele apresentou declínio lento e progressivo, levando à morte 13 dias após início da terapia antifúngica. A cultura de CSF obtida 2 dias antes da morte permaneceu positiva para *C. neoformans*.

O paciente neste caso tinha alto grau de imunossupressão e se apresentava com celulite e cefaleia. Com esta apresentação, deve-se despertar suspeita de um patógeno atípico como *C. neoformans*. Dado a alta mortalidade associada com a infecção criptocóccica, um diagnóstico rápido e preciso é importante. Infelizmente, apesar destes esforços e do uso de uma terapia agressiva, muitos destes pacientes irão evoluir para infecção.

Morfologia

Ao microscópio, *Cryptococcus* spp. é um organismo leveduriforme, esférico a oval, encapsulado, com 2 a 20µm de diâmetro. A replicação ocorre por brotamento a partir de uma base relativamente estreita. Normalmente se formam brotamentos únicos, embora às vezes se observem brotamentos múltiplos e cadeias de células em brotamento (Fig. 74-7). Em geral, tubos germinativos, hifas e pseudo-hifas estão ausentes no material clínico.

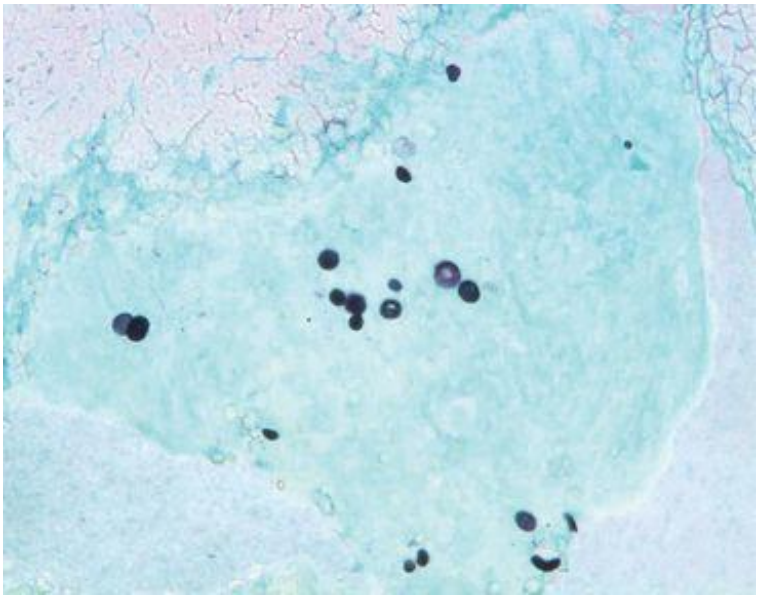


Figura 74-7 *Cryptococcus* spp., morfologia microscópica, coloração GMS.

Nos tecidos e nas colorações com tinta nanquim, as células se apresentam em tamanhos variados: esféricas, ovais ou elípticas; e cercadas por zonas esféricas ou "halos" visualmente transparentes, de contornos regulares e que representam a cápsula polissacarídica extracelular (Fig. 74-8). A cápsula é um marcador característico que pode ter um diâmetro de até cinco vezes aquele da célula fúngica e pode ser detectada rapidamente com corante à base de mucina como mucicarmim de Mayer (Fig. 74-9). A coloração desse organismo com H&E não é satisfatória, mas ele pode ser facilmente detectável com os corantes PAS e GMS. A parede celular do *Cryptococcus* spp. contém melanina, pode ser demonstrada por coloração com o corante de Fontana-Masson.

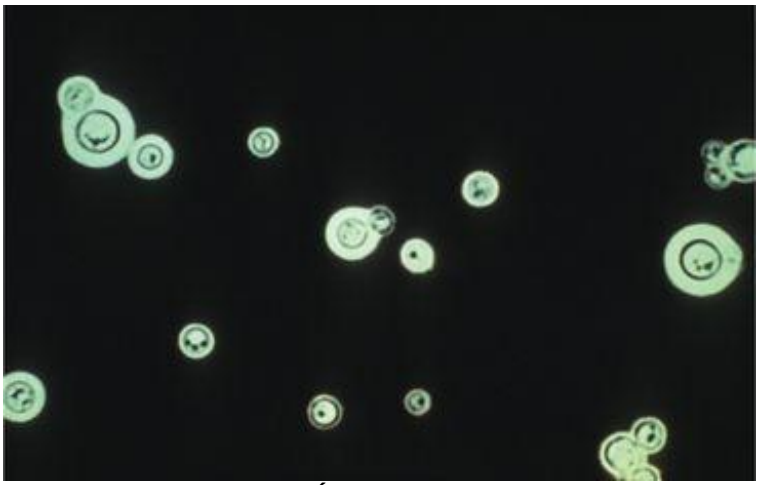


Figura 74-8 Preparação com tinta da Índia demonstrando *Cryptococcus* spp. com uma cápsula grande cercando leveduras em brotamento (×1.000).

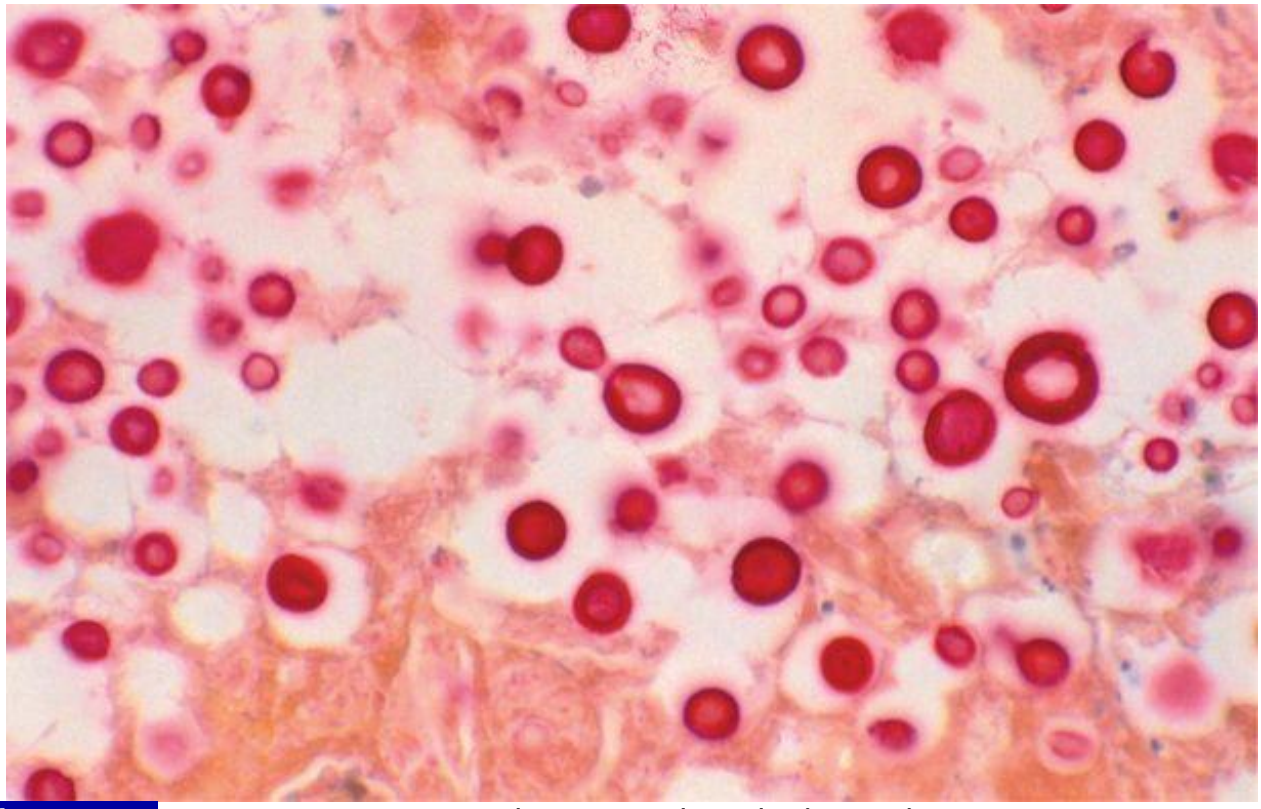


Figura 74-9 *Cryptococcus spp*. corado com mucicarmim (×1.000).

Epidemiologia

A criptococose é normalmente adquirida pela inalação de células de *Cryptococcus* spp. que se encontram em aerossóis no meio ambiente (Fig. 74-10). A disseminação subsequente a partir dos pulmões, geralmente para o sistema nervoso central (SNC), produz a doença clínica em indivíduos suscetíveis. A criptococose cutânea primária pode ocorrer também após inoculação transcutânea, mas é rara.

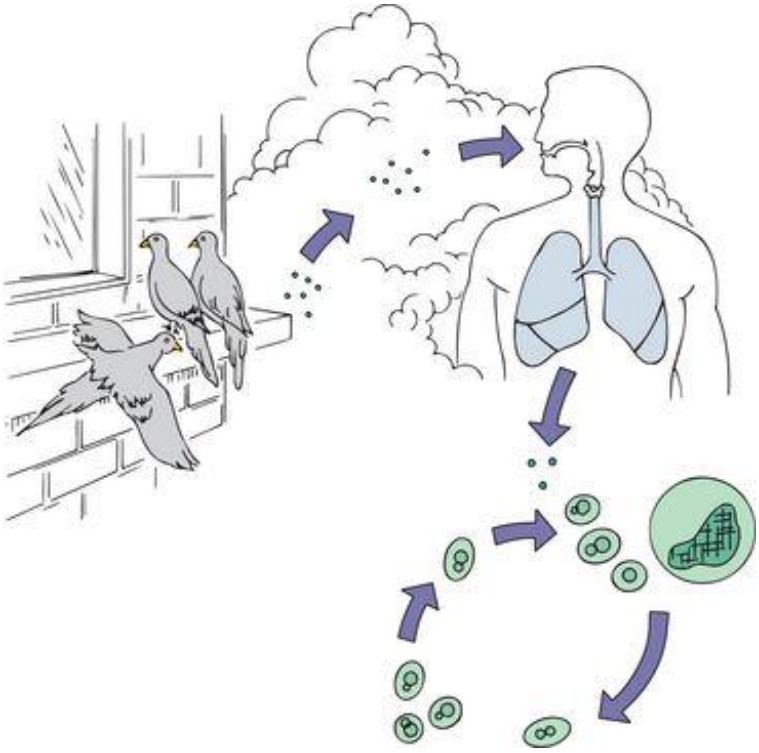


Figura 74-10 História natural do ciclo saprofita e parasitário de *Cryptococcus spp*.

Embora o *Cryptococcus* spp. seja patogênico para indivíduos imunocompetentes, ele é encontrado com mais frequência como um patógeno oportunista, sendo a causa mais comum de meningite fúngica e com tendência a afetar pacientes com baixa na imunidade celular.

Considerando que *C. neoformans* var *neoformans* e var *grubii* sejam encontrados em todo o mundo, em solos contaminados com excrementos das aves, *Cryptococcu gattii* é encontrado em climas tropicais e subtropicais em associação com *Eucalyptus*. Recentemente, entretanto, um foco endêmico de *C. gattii* foi identificado na ilha de Vancouver, Columbia Britânica e no estado de Washington. As três variedades provocam doença similar, embora as infecções por *C. gattii* tenham preferência por indivíduos imunocompetentes e apresentem taxas de mortalidade mais baixas, embora com sequelas neurológicas mais graves em razão da formação de granulomas no SNC.

C. neoformans var *neoformans* (e var *grubii*) é o principal patógeno oportunista de pacientes com AIDS. Os pacientes com contagens de linfócitos CD4+ inferiores a 100/mm (normalmente < 200/mm) estão com alto risco de contraírem criptococose do SNC disseminada. A incidência dessa doença parece ter atingido o pico nos Estados Unidos no início dos anos 1990 (65,5 infecções por milhão de pessoas por ano; Cap. 5, Tab. 5-2) e diminuiu progressivamente desde então por causa do uso disseminado de fluconazol e, o mais importante, do tratamento bem-sucedido das infecções por HIV com novas drogas antirretrovirais.

Síndromes Clínicas

A criptococose pode se apresentar como um processo pneumônico ou, mais frequentemente, como uma infecção do SNC secundária à disseminação hematogênica e linfática a partir de um foco pulmonar primário. Com menos frequência, pode surgir uma infecção com disseminação mais ampla e formas viscerais, cutâneas, mucocutâneas e ósseas da doença.

A criptococose pulmonar varia na apresentação a partir de um processo assintomático até um quadro de pneumonia bilateral mais fulminante. Infiltrados nodulares podem ser unilaterais ou bilaterais, se tornando mais difusos em infecções graves. A cavitação é rara.

C. neoformans é altamente neurotrópico e a forma mais comum da doença é a que atinge as meninges cerebrais. O curso da doença varia e pode se tornar crônico; entretanto ela será inevitavelmente fatal se não tratada. Ambas meninges e o tecido cerebral subjacente são envolvidos e a apresentação clínica inclui febre, cefaleia, meningismo, distúrbios visuais, estado mental anormal e convulsões. O quadro clínico depende significativamente do estado imune do paciente e tende a ser dramaticamente grave em pacientes aidéticos e em outros gravemente comprometidos e tratados com esteroides ou outros agentes imunossupressores.

As lesões parenquimatosas, ou criptococomas, são raras em infecções causadas por *C. neoformans* var. *neoformans* (e var. *grubii*), mas são a apresentação mais comum da criptococose do SNC em hospedeiros imunocompetentes infectados por *C.gattii*.

Outras manifestações de criptococose disseminada incluem lesões cutâneas, que ocorrem em 10% a 15% de pacientes e podem imitar aquelas de molusco contagioso, infecções oculares incluindo coriorretinite, vitrite e invasão do nervo ocular, lesões ósseas envolvendo vértebras e proeminências ósseas, e envolvimento da próstata, que pode ser um reservatório assintomático de infecção.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de infecção causada por *Cryptococus* spp. pode ser feito por cultura de sangue, de líquido cefalorraquidiano ou de outro material clínico (Cap. 71). O exame microscópico do líquido cefalorraquidiano (LCR) pode revelar as células leveduriformes encapsuladas e em brotamento. As células de *Cryptococcus* spp., quando presentes LCR ou em outro material clínico, podem ser visualizadas com corante de Gram (Cap. 69, Fig. 69-2) e tinta da Índia (tinta naquim) (Fig. 74-8) ou outros corantes (Fig. 74-7). A cultura do material clínico em meios micológicos de rotina produzirá, dentro de 3 a 5 dias, colônias mucoides formadas de células leveduriformes encapsuladas, redondas, com brotamento, urease positivas. A identificação da espécie pode ser feita por meio da verificação assimilação de carboidratos, pelo crescimento em *agar niger* (as colônias de *Cryptococcus* spp. assumem coloração de marrom a preto) ou por verificação direta quanto à atividade fenoloxidase (positiva).

Mais frequentemente, porém, o diagnóstico de meningite criptococócica é feito por detecção direta do antígeno polissacarídeo capsular no soro ou no LCR (Tab. 74-7). A detecção desse antígeno é acompanhada do uso de um dos vários kits de aglutinação de látex ou de ensaios imunoenzimáticos disponíveis no mercado. Esses ensaios demonstraram ser rápidos, sensíveis e específicos para o diagnóstico de doença criptococócica (Tab. 74-7).

Tabela 74-7 Sensibilidade de Detecção de Antígeno, Microscopia com Tinta da Índia e Cultura de Líquido Cefalorraquidiano no Diagnóstico de Meningite por *Cryptococcus*

Teste	% Sensibilidade	
	Pacientes com AIDS	***Pacientes sem AIDS***
Antígenos	100	86-95
Tinta nanquim	82	50
Cultura	100	90

Adaptado de Viviani MA, Tortorano AM, Ajello L: Cryptococcus. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (eds): Clinical mycology, New York, Churchill Livingstone, 2003.

Tratamento

A meningite criptococócica (e as outras formas disseminadas de criptococose) é universalmente fatal se não tratada. Adicionalmente, a rápida administração de uma terapia antifúngica apropriada e efetivo controle da pressão do sistema nervoso central (SNC) é a chave para o sucesso no tratamento da meningite criptococócica. Todos os pacientes deverão receber anfotericina B mais flucitosina ativamente, durante 2 semanas (terapia de indução), seguidas de consolidação durante 8 semanas com fluconazol oral (preferido) ou itraconazol. Os pacientes com AIDS geralmente exigem a terapia de manutenção por toda a vida com fluconazol ou itraconazol. Em pacientes não aidéticos, o tratamento pode ser suspenso após a terapia de consolidação; entretanto, a recidiva pode ser observada em até 26% desses pacientes dentro de 3 a 6 meses após a suspensão da terapia. Nestes casos, um tratamento de consolidação prolongado com um azólico por até 1 ano pode ser recomendável mesmo em pacientes não aidéticos.

O tratamento destes pacientes deverá ser acompanhado pela clínica e por exames micológicos. O acompanhamento micológico exige punção lombar repetitiva a ser executada (1) ao final da terapia de indução de 2 semanas, para assegurar a esterilização do LCR; (2) ao final da terapia de consolidação; e (3) sempre que indicado por uma alteração na situação clínica durante o acompanhamento. *As amostras de LCR colhidas durante o acompanhamento devem obrigatoriamente ser submetidas à cultura*. Os valores da determinação proteína, glicose, contagem celular e título de antígeno criptococócico no LCR são úteis para se avaliar a resposta à terapia, mas não são prognósticos de consequência. A falha na esterilização do LCR por volta do 14º dia de terapia é indicativa de probabilidade muito maior de falha da terapia de consolidação.

Outras Micoses Causadas por Fungos Leveduriformes

Entre os patógenos leveduriformes, excluindo *Candida* e *Cryptococcus*, as infecções nosocomiais causadas por *Malassezia* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp. e *Blastoschizomyces capitatus* são mais proeminentes, pois são difíceis de se detectar ou porque representam problemas especiais com relação à resistência antifúngica.

As infecções causadas por *Malassezia* spp. (*M. furfur* e *M. pachydermatis* entre outras) são geralmente aquelas associadas a cateteres e tendem a ocorrer em prematuros ou em outros pacientes que receberam infusões de lipídios. Os 2 organismos são leveduras com brotamentos (Fig. 74-11; também Cap. 71, Fig. 71-2). *Malassezia* spp. coloniza a pele e o agente etiológico da pitiriase versicolor (Cap. 71), enquanto *M. pachydermatis* é causa frequente de otite em cães e um comensal da pele humana.

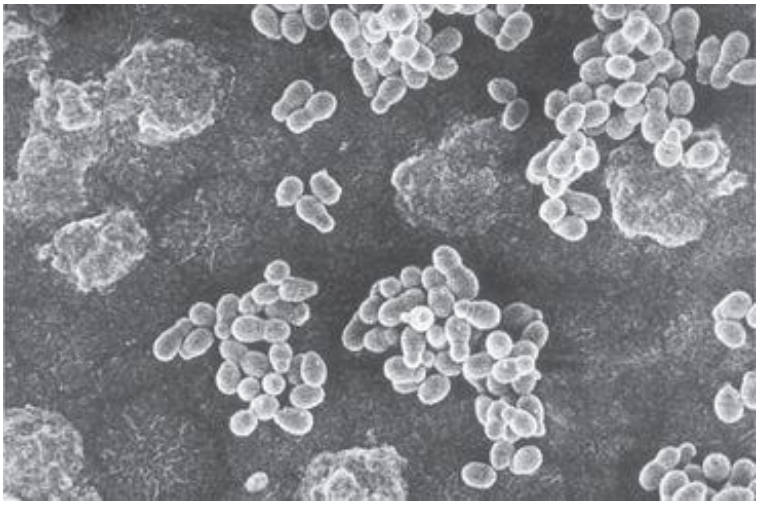


Figura 74-11 Micrografia eletrônica de varredura de *Malassezia furfur* aderindo ao lúmen de um cateter venoso central.

(Cortesia de S.A. Messer.)

Entre *Malassezia* spp., *M. furfur* e outras são conhecidas por sua exigência de lipídios exógenos para crescer. Essa necessidade associada a seu nicho ecológico na pele explica um pouco da epidemiologia de *Malassezia* spp., pois as infecções nosocomiais causadas por ele estão diretamente relacionadas à administração de suplementos lipídicos intravenosos por meio de um cateter venoso central. Embora *M. pachydermatis* não exija lipídios exógenos para crescer, os ácidos graxos estimulam esse crescimento, e as infecções devidas a esse organismo têm sido associadas à nutrição parenteral e à administração de lipídios por via intravenosa. Embora a maioria das infecções com *Malassezia* spp. seja esporádica, surtos de fungemia têm sido observados entre lactentes que recebem suplementação intravenosa de lipídios. O crescimento do organismo é favorecido pela infusão rica em lipídios e ele ganha acesso ao corpo através do cateter. Um surto notável de fungemia por *M. pachydermatis* foi associada a enfermarias que possuíam cães com otite causada por esse microrganismo. A cepa do surto foi encontrada nas mãos das enfermeiras e pelo menos em um dos cães infectados.

Malassezia spp. deverá ser considerado quando leveduras forem observadas ao microscópio em frascos de cultura de sangue ou em material clínico, sem recuperação desses organismos em meios de rotina. Para isolar *Malassezia* spp., em meio sólido, as placas devem ser inoculadas e então recobertas com óleo de oliva estéril. O óleo de oliva fornece o lipídio necessário e o crescimento deverá ser detectado dentro de 3 a 5 dias.

O tratamento da fungemia causada por *Malassezia* spp. normalmente não exige a administração de agentes antifúngicos. A infecção diminui assim que a infusão de lipídios é suspensa e as linhas intravasculares são retidas.

O gênero *Trichosporon* consiste atualmente de seis espécies: *T. asahii* e *T. mucoides* são conhecidas por causar infecções invasivas profundas; *T. asteroides* e *T. cutaneum* provocam infecções superficiais da pele; *T. ovoides* causa piedra branca no couro cabeludo e *T. inkin* causa a piedra branca dos pelos púbicos. A literatura é, no mínimo, confusa, pois a maioria das referências sobre tricosporonose profunda se refere à nomenclatura mais antiga de *T. beigeli*. Morfologicamente, esses organismos são similares e aparecem em material clínico como hifas, artroconídios e células leveduriformes em brotamento.

Trichosporon provoca fungemia associada a cateteres em pacientes neutropênicos, mas também pode ter acesso à corrente sanguínea via tratos respiratório ou gastrointestinal. A disseminação hematogênica extensa pode se manifestar como culturas de sangue positivas e lesões cutâneas múltiplas. A tricosporonose hepática crônica pode imitar a candidose hepática e é vista mediante a recuperação do quadro de neutropenia. *Trichosporon* é reconhecido como a causa mais comum de infecção por leveduras diferentes de *Candida* em pacientes portadores de tumores malignos hematológicos e provoca mortalidade superior a 80%. Sua suscetibilidade à anfotericina B varia, e essa droga não possui atividade fungicida contra *Trichosporon*. Foram informados casos de falha clínica das terapias com anfotericina B, com fluconazol e da terapia combinada dessas duas drogas e o resultado será geralmente desastroso se não houver recuperação dos níveis de neutrófilos. *Trichosporon* spp. são resistentes às equinocandinas mas parece responder clinicamente ao tratamento com voriconazol.

Rhodotorula spp. é uma levedura caracterizada por células em brotamento multilateral, produtoras de pigmentos carotenoides (colônias rosa a vermelhas) e encapsuladas de maneira variável. Espécies de *Rhodotorula* incluem *R. glutinis, R. mucilaginosa* (sinômino de *R. rubra*) e *R. minuta*, entre outras. Esses fungos leveduriformes são encontrados como comensais na pele, nas unhas e na mucosa, como em queijos e derivados do leite, em fontes ambientais como ar, solo, cortinas de chuveiro, sedimentos de banheiras e escovas de dente. *Rhodotorula* spp. estão emergindo como patógenos humanos importantes em pacientes imunocomprometidos e naqueles que usam cateteres de longa permanência. *Rhodotorula* já foi implicado como a causa de infecção e fungemia por cateteres venosos centrais, infecções oculares, peritonite e meningite. A anfotericina B tem efeito excelente contra *Rhodotorula* e, associada à remoção do cateter, representa uma abordagem excelente contra as infecções causadas por esses organismos. A flucitosina também demonstra excelente eficácia mas não deverá ser considerada para monoterapia. Fluconazol e equinocandinas não deverão ser usadas para tratar infecções por *Rhodotorula* spp. e o papel dos novos triazólicos de espectro expandido (como voriconazol e posaconazol) ainda é incerto e depende de dados clínicos.

Entre os patógenos emergentes oportunistas leveduriformes *Blastoschizomyces capitatus* (telemorfo *Dipodascus capitatus*) é um fungo raro que produz infecção sistêmica muito grave em pacientes imunocomprometidos, especialmente naqueles com tumores malignos e doenças hematológicos. Esse organismo produz hifas e artroconídios, está amplamente distribuído na natureza e pode ser encontrado como parte da microbiota normal da pele. A infecção com *B. capitatus* se apresenta de modo semelhante à daquela causada por *Trichosporon* em pacientes neutropênicos, com fungemia frequente e disseminação por vários órgãos (incluindo cérebro) e taxa de mortalidade de 60% a 80%. As hemoculturas geralmente levam a resultados positivos. Como ocorre com *Trichosporon*, pode-se observar uma forma crônica e disseminada, semelhante à candidose crônica disseminada, na resolução da neutropenia.

A melhor abordagem ao tratamento de infecções causadas por *B. capitatus* ainda não está definida. Alguns médicos acham que esse fungo tem suscetibilidade reduzida à anfotericina B. A excelente atividade *in vitro* do voriconazol sugere que esse agente possa ser útil para o tratamento de infecções causadas por esse organismo. A rápida remoção de cateteres venosos centrais, imunoterapia e novas terapias antifúngicas (p. ex., como voriconazol ou terapia combinada de altas doses de fluconazol e anfotericina B) são recomendados para o tratamento desta rara, mas devastadora infecção.

Aspergilose (Caso Clínico 74-3)

A aspergilose engloba um espectro amplo de doenças causadas por membros do gênero *Aspergillus* (Quatro 74-2). A exposição ao *Aspergillus* no meio ambiente pode provocar reações alérgicas em hospedeiros hipersensíveis ou então doença pulmonar invasiva, destrutiva e doença disseminada em pessoas com graves problemas de imunossupressão. Embora tenham sido documentadas cerca de 19 espécies de *Aspergillus* como agentes da doença no homem, a maioria das infecções é causada por *A. fumigatus, A. flavus, A. niger* e *A. terreus*.

Caso Clínico 74-3 Aspergilose Invasiva

Guha et al. (Infect Med 24(suppl 8):8-11, 2007) descreveram um caso de aspergilose invasiva em um paciente de transplante renal. A paciente, uma mulher de 34 anos que apresentava a 2 dias histórico de fraqueza, tonturas, dor na panturrilha esquerda e fezes pretas. Ela negou dor no tórax, tosse ou falta de ar. O histórico médico pregresso indicava diabetes que levou à insuficiência renal, para a qual ela recebeu transplante renal de cadáver em 2002. Três semanas antes do quadro, desenvolveu rejeição aguda do transplante. Foi colocada num regime de imunossupressão de alemtuzumab, tacrolimus, sirolimus e prednisona. Na internação ela se apresentava febril, taquicárdica e com hipotensão. O exame físico revelou cordão venoso palpável na fossa poplítea. O raios X inicial de tórax não mostrou anormalidades. Estudos laboratoriais indicaram anemia e azotemia. A contagem de células brancas era 4.800 por microlitro com 80% de neutrófilos. A paciente recebeu 4 unidades de eritrócitos e iniciou tratamento empírico com gatifloxacina. Hemocultura foi positiva para *Escherichia coli* suscetível à gatifloxacina. No 6° dia de internação, desenvolveu erupção vesicular na região glútea e na panturrilha esquerda, as culturas foram positivas para vírus herpes simples e ela recebeu aciclovir. As condições clínicas da paciente foram estabilizadas, exceto para a sua função renal e se iniciou hemodiálise intermitente no 8° dia de internação. No 12° dia de internação a paciente exibiu diminuição da responsividade, se tornando enfraquecida sendo entubada para angústia respiratória. O raio X de tórax mostrou nódulos bilaterais difusos. A cultura do lavado broncoalveolar (BAL – *bronchoalveolar lavage*) foi positiva para *Aspergillus* spp. e corpos de inclusão viral sugestivos de citomegalovírus (CMV) foram observados. A imunodepressão foi diminuída e iniciou tratamento com anfotericina B lipossomal. A paciente apresentou infarto agudo do miocardio e evolui ao coma. Múltipos infartos agudos no lobo frontal e cerebelo foram vistos na ressonância magnética do cérebro. As condições da paciente continuaram a se deteriorar, e múltiplos nódulos se desenvolveram na pele de seus braços e tronco. Na cultura de biópsias de amostras dos nódulos de pele, cresceu *Aspergillus flavus*. A paciente morreu no 23° dia de internação. Na autópsia, *A. flavus* foi detectado em múltiplos órgãos, incluindo coração, pulmão, glândula adrenal, tiroide, rim e fígado.

Este caso serve como exemplo extremo de aspergilose disseminada em hospedeiro imunossuprimido.

Quadro 74-2 Espectro de Doenças Causadas por *Aspergillus* spp.

Reações Alérgicas

Cavidade nasal

Seios paranasais

Trato respiratório inferior

Colonização

Seios paranasais obstruídos

Brônquios

Cavidades pulmonares pré-formadas

Infecções Cutâneas Superficiais

Feridas

Locais de cateteres

Infecções Invasivas Limitadas

Brônquios

Parênquima pulmonar

Pacientes moderadamente imunodeficientes

Morfologia

Aspergillus spp. cresce em cultura como um fungo filamentoso hialino. Grosseiramente, as colônias desses fungos podem ser negras, marrons, verdes, amarelas, brancas ou de outras cores, dependendo da espécie e das condições de crescimento. A aparência da colônia pode fornecer uma sugestão inicial quanto às espécies de *Aspergillus*, mas a identificação definitiva exige exame ao microscópio das estruturas de reprodução (conidióforo, vesícula, fiálides e conídios).

Aspergillus crescem como hifas ramificadas e septadas que produzem cabeças conidiais quando expostas ao ar em cultura e nos tecidos. Essas cabeças conidiais consistem em um conidióforo com uma vesícula terminal que nascem 1 ou 2 camadas de fiálides ou esterigmas (Cap. 5, Fig. 5-3B). As fiálides alongadas, por sua vez, produzem colunas de conídios esféricos que são os propágulos infecciosos que se desenvolvem na fase micelial do fungo. A identificação da espécie individual de *Aspergillus* depende, em parte, da diferença das cabeças conidiais, incluindo a disposição e a morfologia desses conídios (Figs. 74-12 e 74-13).

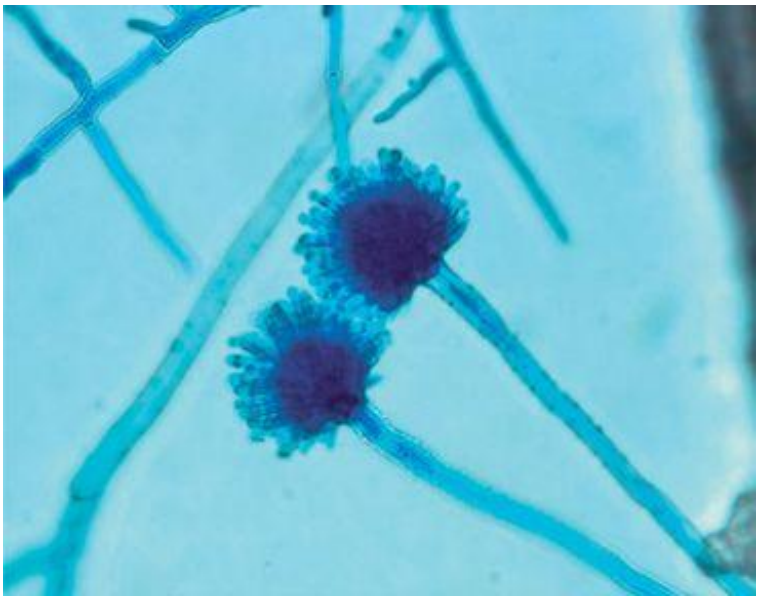


Figura 74-12 Preparação de *Aspergillus fumigatus* em lactofenol azul de algodão, mostrando cabeças conidiais.

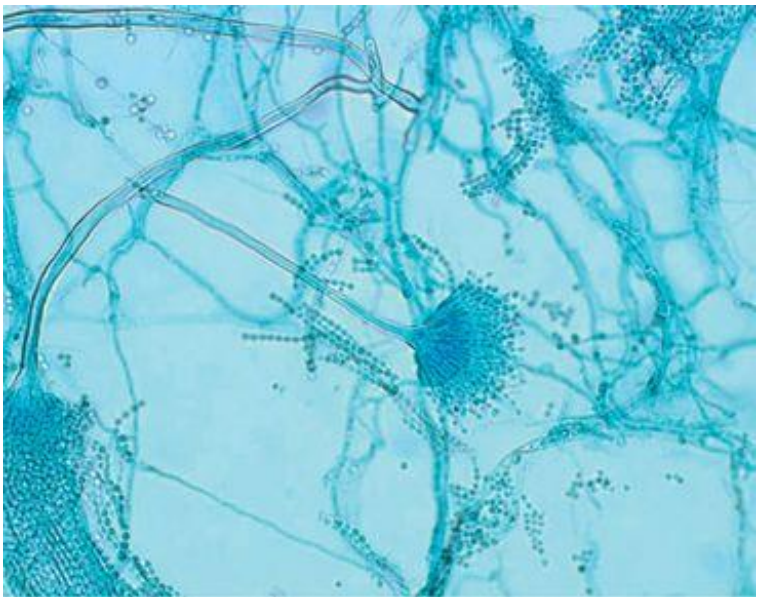


Figura 74-13 Preparação de *Aspergillus terreus* em lactofenol azul de algodão mostrando cabeças conidiais.

Nos tecidos, as hifas de *Aspergillus* spp. apresentam coloração insatisfatória com H&E, mas são bem visualizadas com os corantes PAS, GMS e de Gridley (Fig. 74-14). Essas hifas são homogêneas e com largura uniforme (3 a 6µm), com contornos paralelos, septações regulares e um padrão ramificado progressivo semelhante a uma árvore (Fig. 74-14). Os ramos são dicotômicos e surgem, geralmente, em ângulos agudos (~45°). As hifas podem ser vistas no interior dos vasos sanguineos (angioinvasão) causando trombose. As cabeças conidiais são raramente visualizadas em tecido, mas podem surgir no interior de uma cavidade (Fig. 74-15). Uma espécie importante, *A. terreus*, pode ser identificada em tecidos por seus aleurioconídios esféricos ou ovais, que se desenvolvem a partir das paredes laterais do micélio (Fig. 74-16). Por outro lado, as hifas de *Aspergillus* spp. patogênicas são morfologicamente indistinguíveis umas das outras.

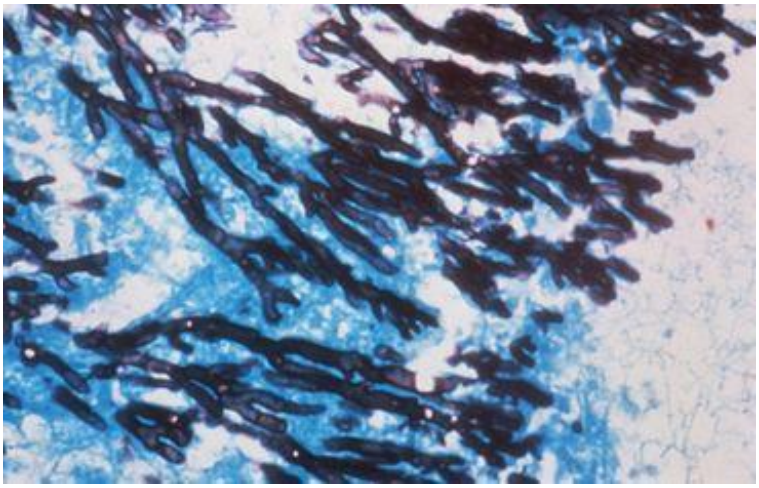


Figura 74-14 *Aspergillus* em tecido mostrando hifas septadas ramificadas em ângulo agudo (GMS, ×1.000).

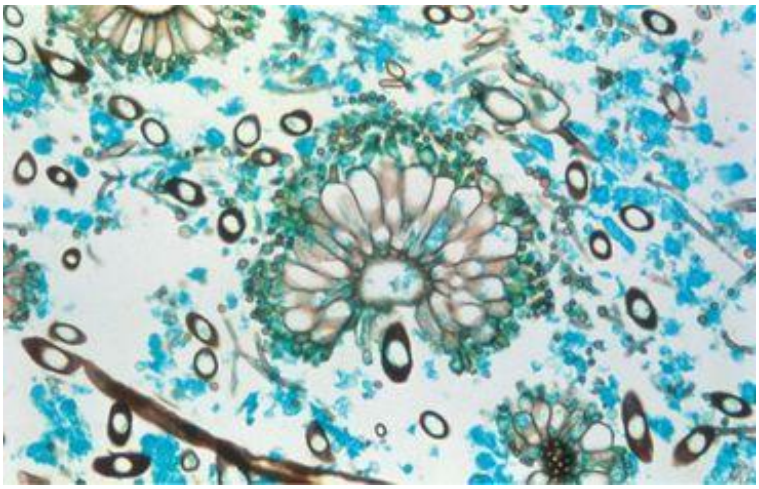


Figura 74-15 *Aspergillus niger* em lesão cavitária de pulmão mostrando tanto as hifas quanto as cabeças conidiais (GMS, ×1.000).

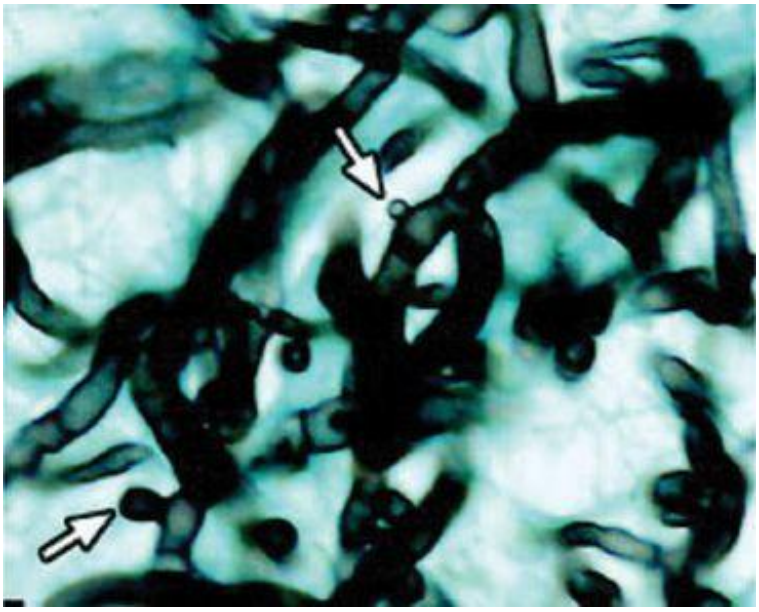


Figura 74-16 *Aspegillus terreus* em tecido. As setas apontam para os aleurioconídios (GMS, 1.000×).

(De Walsh et al: J Infect Dis 188: 305-310, 2003.)

Epidemiologia

Aspergillus spp. são comuns no mundo todo. Seus conídios são ubíquos no ar, no solo e em material em decomposição. No ambiente hospitalar, *Aspergillus* spp. podem ser encontrados no ar, nos chuveiros, tanques de armazenagem de água e em plantas de vaso. Como resultado, estão sendo constantemente inalados. O tipo de reação do hospedeiro, os achados patológicos e a consequência final de inalação dependem mais dos fatores do hospedeiro que da virulência ou patogênese do *Aspergillus* spp. O trato respiratório é o mais frequente e relevante portal de entrada.

Síndromes Clínicas

As manifestações alérgicas de aspergilose constituem um espectro de apresentações que se baseia no grau de hipersensibilidade aos antígenos de *Aspergillus*. Na forma broncopulmonar, podem-se observar: asma, infiltrados pulmonares, eosinofilia periférica, níveis elevados de imunoglubulina e evidência de hipersensibilidade aos antígenos de *Aspergillus* (teste cutâneo). Sinusite alérgica mostra evidência laboratorial de hipersensibilidade associada a sintomas do trato respiratório superior de obstrução e descarga nasal, cefaleia e dor facial.

Todos os seios paranasais como as vias aéreas inferiores podem ser colonizados com *Aspergillus* spp., resultando em aspergilose brônquica obstrutiva e aspergiloma verdadeiro ("bola fúngica"). Aspergilose brônquica obstrutiva geralmente ocorre no ambiente da doença pulmonar subjacente como: fibrose cística, bronquite crônica ou bronquiectasia. O quadro é marcado pela formação de moldes ou compostos de elementos de hifas e fibras de mucina. Os sintomas permanecem aqueles da doença subjacente, sem lesão aos tecidos e sem necessidade de tratamento. Um aspergiloma pode se formar nos seios paranasais ou em uma cavidade pré-formada secundária a uma tuberculose antiga ou a outra doença pulmonar cavitária crônica. Aspergilomas podem ser visualizados ao exame radiográfico, mas geralmente são assintomáticos. Em geral, não se justifica o tratamento, a menos que ocorra hemorragia pulmonar. Na eventualidade dessa hemorragia, que pode ser grave e potencialmente fatal, recomenda-se a excisão cirúrgica da cavidade e da bola fúngica. Desta forma, o debridamento radial dos seios paranasais pode ser necessário para aliviar qualquer sintomatologia ou hemorragia causada pela bola fúngica desses seios.

As formas de aspergilose invasiva variam desde a doença superficial, que pode ocorrer em casos de imunossupressão baixa (p. ex., terapia com doses baixas de esteroides, doença vascular do colágeno ou diabetes), até a aspergilose disseminada ou pulmonar invasiva e localmente destrutiva. As formas mais limitadas de invasão incluem, em geral, a aspergilose brônquica pseudomembranosa necrosante e a pulmonar crônica necrosante. A aspergilose brônquica pode causar sibilos, dispneia e hemoptise. A maioria dos pacientes com aspergilose pulmonar necrosante crônica possui doença pulmonar estrutural subjacente, que pode ser tratada com doses baixas de corticosteroides. Essa é uma infecção crônica que pode ser localmente destrutiva, com o desenvolvimento de infiltrados e bolas fúngicas observados ao exame radiográfico, mas que não está associada à disseminação ou invasão vascular. A ressecção cirúrgica das áreas afetadas e a administração de terapia antifúngica são eficazes no tratamento desse quadro.

A aspergilose pulmonar invasiva e a aspergilose disseminada representam infecções devastadoras, observadas em pacientes gravemente neutropênicos e imunossuprimidos. Os principais fatores predisponentes para essa complicação infecciosa incluem contagem de neutrófilos inferir a 500/mm^3, quimioterapia citotóxica e terapia com corticosteroides. Os pacientes apresentam febre e infiltrados pulmonares frequentemente acompanhados de dor torácica pleurítica e hemoptise. O diagnóstico definitivo em geral é retardado, pois normalmente as culturas de sangue e escarro resultam negativas. A mortalidade associada a essa infecção, apesar de terapia antifúngica específica, é significativamente alta, normalmente superando os 70% (Tab. 74-5). A disseminação hematogênica da infecção para sítios extrapulmonares é comum por causa da natureza angioinvasiva do fungo, e os sítios mais frequentes envolvidos são o cérebro, coração, rins, trato gastrointestinal, fígado e baço.

Diagnóstico Laboratorial

Como acontece com outros fungos ubíquos, o diagnóstico de aspergilose exige cautela ao se avaliar o isolamento de uma espécie de *Aspergillus* das amostras clínicas. A recuperação de tecidos cirurgicamente removidos ou de sítios estéreis, acompanhada por histopatogia positiva (hifas hialinas septadas em ramificação dicotômica) sempre dedevá ser considerada significativa; o isolamento de sítios normalmente contaminados (p. ex., trato respiratório) exige investigação mais minuciosa.

A maioria dos agentes etiológicos da aspergilose cresce prontamente em meios micológicos de rotina sem cicloeximida. A identificação em nível de espécie dos principais patógenos humanos pode ser feita se observando as características do crescimento em agar dextrose batata. A morfologia microscópica (conidióforos, vesículas, métulas, fiálides, conídios) é mais bem observada com cultivo em lâmina e é necessária para a identificação da espécie.

A aspergilose invasiva causada por *A. fumigatus* e pela maioria das outras espécies é raramente documentada por culturas de sangue positiva. De fato, a maioria dos isolados de *Aspergillus* spp. da corrente sanguínea demonstrou representar pseudofungemia ou eventos terminais na autópsia. Notadamente *A. terreus*, entre todas as espécies de *Aspergillus*, demonstrou causar fungemia verdadeira. De modo similar a outros fungos filamentosos angioinvasivos (como *Fusarium, Scedosporium* spp.), *A. terreus* é capaz de esporulação adventícia nas quais esporos leveduriformes, ou aleuriconídios, são formados nos tecidos e no sangue e oferecem mais probabilidade de detecção no sangue obtido para a cultura (Fig. 74-16). O reconhecimento desses aleurioconídios no exame ao microscópio de amostras de tecidos, de aspirados com agulha fina ou de broncoscopia pode permitir uma identificação rápida e presumível de *A. terreus*.

O diagnóstico rápido da aspergilose invasiva tem progredido com o desenvolvimento dos imunoensaios para a detecção de antígeno galactomanana de *Aspergillus* no soro. Esse teste usa um formato de ensaio imunoenzimático e está disponível como um *kit* comercial ou então em laboratório de referência. O teste parece ser razoavelmente específico, mas exibe sensibilidade variável. Ele é mais usado em amostras seriadas de pacientes com alto risco (principalmente os neutropênicos e os submetidos ao procedimento de BMT) como indicação precoce para se iniciar a terapia empírica ou opcional antifúngica e perseguir de modo mais agressivo um diagnóstico definitivo.

Tratamento e Prevenção

A prevenção da aspergilose em pacientes de alto risco é fundamental. Os pacientes neutropênicos e outros de alto risco são, em geral, instalados em locais com ar filtrado, de modo a minimizar a exposição aos conídios de *Aspergillus*.

A terapia antifúngica específica de aspergilose normalmente envolve a administração de anfotericina B ou de uma de suas formulações lipídicas. É importante ter em mente que *A. terreus* é considerado resistente à anfotericina B e deverá ser tratado com um agente alternativo como o voriconazol, de introdução recente e que fornece uma opção de tratamento mais eficaz e menos tóxica que a anfotericina B (Cap. 70). Esforços concomitantes para diminuir a imunossupressão e/ou reconstituir as defesas imunes do hospedeiro são componentes importantes do tratamento da aspergilose. Da mesma forma, recomenda-se a ressecção cirúrgica das áreas envolvidas, se possível.

Zigomicose

A zigomicose diz respeito às doenças causadas por fungos da classe Zigomicetos. Nesta classe, os principais patógenos humanos compreendem duas ordens: *Mucorales* e *Entomophthorales*. A ordem *Entomophthorales* contém dois gêneros patogênicos: *Conidiobolus* e *Basidiobolus*. Esses agentes geralmente incitam o desenvolvimento de uma infecção granulomatosa crônica de tecidos subcutâneos e são discutidos no Capítulo 72.

Na ordem Mucorales, os gêneros patogênicos incluem: *Rhizopus, Mucor, Absidia, Rhizomucor, Saksenaea, Cunninghamella, Syncephalastrum* e *Apophysomyces*. As infecções causadas por zigomicetos são raras e ocorrem a uma taxa anual de 1,7 caso por milhão da população nos Estados Unidos. Infelizmente, quando ocorrem, essas infecções são, em geral, agudas e de progressão rápida, com taxas de mortalidade de 70% a 100%.

Morfologia

Em termos macroscópicos, os *Mucorales* patogênicos crescem rapidamente, produzindo colônias lanosas, de coloração cinza a marrom, dentro de 12 a 18 horas. A identificação complementar em gênero e espécie se baseia em morfologia microscópica. Ao microscópio, os zigomicetos são fungos filamentosos com hifas cenocíticas largas, hialinas e esparsamente septadas. Os esporos assexuais da ordem *Mucorales* ficam dentro de um esporângio e são conhecidos como **esporangiosporos**. Os esporângios nascem nas pontas dos esporangióforos semelhantes a pedúnculos que terminam em um inchaço bolhoso chamado **columela** (Fig. 74-17; Cap. 5, Fig. 5-3A). A presença de estruturas semelhantes a raízes, chamadas **rizoides**, ajuda na identificação dos gêneros específicos dentro da ordem *Mucorales*.

Figura 74-17 *Rhizopus* sp. mostrando esporângio e rizoides.

Nos tecidos, os zigomicetos (ordem *Mucorales*) são vistos como hifas hialinas irregulares (não pigmentadas) semelhantes a faixas, asseptadas ou esparsamente septadas (Fig. 74-18). Em contraste com *Aspergillus* spp. e outros fungos filamentosos hialinos, o diâmetro das hifas frequentemente se mostra acima de 10µm e essas estruturas são pleomórficas apresentando contornos irregulares, se dobrando e se torcendo sobre si mesmas com frequência. Essas hifas se ramificam em padrão casual e não progressivo, e os ramos surgem tipicamente das hifas genitoras, em ângulos retos. As paredes das hifas são finas e se coram fracamente com GMS e outros corantes fúngicos, sendo detectados mais facilmente com corantes H&E (Fig. 74-18). Os zigomicetos são tipicamente angioinvasivas.

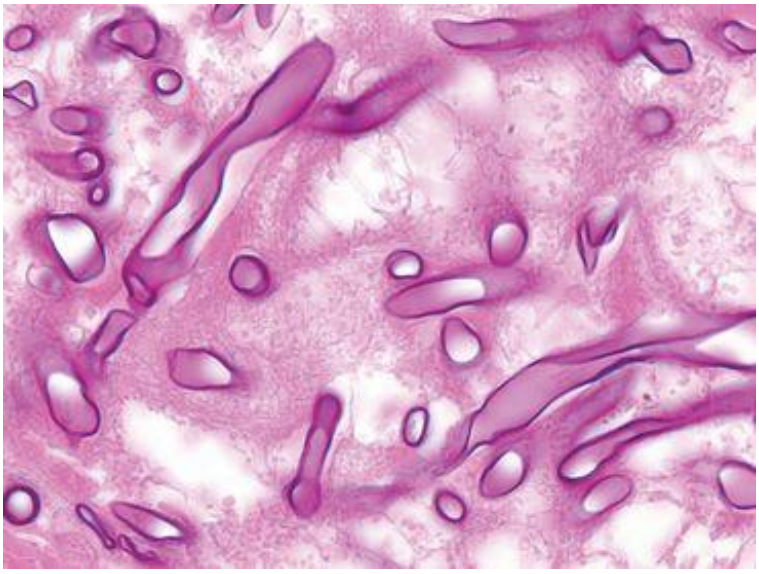


Figura 74-18 *Rhizopus* sp. em tecido mostrando hifas largas, em forma de faixas e não septadas (H&E, ×1.000).

Epidemiologia

A zigomicose é uma doença esporádica que ocorre no mundo todo e *Rhizopus arrhizus* é a causa mais comum da doença no homem. Entretanto, outras espécies de *Rhizopus, Rhizomucor, Absidia* e *Cunninghamella* são conhecidas como causas da doença invasiva em indivíduos hospitalizados. Os organismos são ubíquos no solo e na vegetação em decomposição, e a infecção pode ser adquirida por inalação, ingestão ou contaminação de ferimentos com esporangiosporos do meio ambiente. Como ocorre com *Aspergillus* spp., a disseminação nosocomial de zigomicetos pode ocorrer por meio dos sistemas de ar condicionado, especialmente durante a construção. Os surtos focalizados de zigomicose também têm sido associados ao uso de bandagens adesivas ou esparadrapos contaminados em curativos cirúrgicos, resultando em zigomicose cutânea primária.

A zigomicose invasiva ocorre em pacientes imunocomprometidos e é semelhante clinicamente à aspergilose. Estima-se que os zigomicetos possam causar infecção em 1% a 9% dos transplantes de órgãos sólidos, especialmente aqueles com diabetes melito subjacentes. Os fatores de risco incluem terapia corticosteroide e com deferoxamina, cetoacidose diabética, insuficiência renal, tumor maligno hematológico, mielossupressão e exposição a atividades de construção hospitalar. Recentemente, os zigomicetos foram detectados após procedimento de BMT em pacientes tratados com profilaxia antifúngica com voriconazol, um agente inativo contra esses fungos.

Síndromes Clínicas

Há várias formas clínicas de zigomicose causada por membros da ordem *Mucorales*. A zigomicose rinocerebral é uma infecção invasiva aguda da cavidade nasal, dos seios paranasais e da órbita que envolve as estruturas faciais e se estende para os SNC, envolvendo as meninges e o cérebro. A maioria dessas infecções ocorre em pacientes com acidose metabólica, particularmente a cetoacidose diabética, e aqueles portadores de tumores malignos hematológicos.

A zigomicose pulmonar ocorre como infecção primária em pacientes neutropênicos e pode ser diagnosticada erroneamente como aspergilose invasiva. As lesões pulmonares provocam infartos como resultado da invasão das hifas e subsequente trombose de grandes vasos pulmonares. As radiografias do tórax mostram um quadro de broncopneumonia de progressão rápida, consolidação segmentar ou lobar e sinais de cavitação. Pode-se observar a formação de bola fúngica imitando aspergiloma. Observa-se também a ocorrência de hemorragia pulmonar com hemoptise fatal como resultado da invasão vascular pelo fungo.

A natureza angioinvasiva dos zigomicetos mucorales produz, com frequência, infecção disseminada com infarto de tecidos de vários órgãos. Os sintomas que se manifestam indicam envolvimento neurológico, pulmonar ou do trato gastrointestinal. O envolvimento do trato GI resulta sempre em hemorragia significativa ou perfuração.

A zigomicose cutânea pode ser sinal de disseminação hematogênica. As lesões tendem a se mostrar nodulares com centro equimótico. A zigomicose cutânea primária pode ocorrer após lesão traumática, em curativos cirúrgicos ou na colonização de ferimentos por queimadura. A infecção pode ser superficial ou se estender rapidamente para o interior dos tecidos subcutâneos.

Diagnóstico Laboratorial

Em virtude do prognóstico extremamente insatisfatório da zigomicose, todos os esforços deverão ser feitos para se obter tecido para exame direto ao microscópio, para estudo histológico e cultura. Uma vez que os zigomicetos constituem um grupo extremamente onipresente de fungos, a demonstração dos elementos característicos do fungo presente no tecido merece importância considerável do que um simples isolamento em cultura.

As amostras apropriadas incluem raspados da mucosa nasal, aspirados do conteúdo dos seios nasais, líquido da lavagem dos alvéolos brônquicos e biópsia de todo e qualquer tecido necrótico infectado. O exame direto de material montado com KOH com calcoflúor branco pode revelar as hifas largas pouco septadas e irregulares. Cortes histopatológicos corados com H&E ou PAS são os mais úteis (Fig. 74-18), pois permitem observar hifas largas, torcidas, com septação interrompida e de ramificação irregular.

O tecido para cultura deverá ser fragmentado, não homogeneizado e colocado em meio micológico padronizado sem cicloeximida. Os resultados negativos da cultura são comuns, ocorrendo em cerca de 40% das vezes, apesar da demonstração de hifas no tecido, via microscópio. O diagnóstico de zigomicose não pode ser estabelecido ou rejeitado com base somente na cultura. Ele depende de um painel de evidências reunidas pelo clínico e pelo microbiologista em conjunto. Infelizmente, ainda não há testes sorológicos ou moleculares amplamente disponíveis e específicos para os zigomicetos (Cap. 69).

Tratamento

A anfotericina B continua como terapia de primeira linha para o tratamento da zigomicose, sendo frequentemente complementada por debridamento cirúrgico e reconstituição do sistema imune do hospedeiro. A maioria dos zigomicetos se mostra satisfatoriamente suscetível a anfotericina B e não é suscetível aos azólicos ou às equinocandinas (Cap. 70). Entre os triazólicos de amplo espectro, entretanto, o posaconazol se destaca, pois parece ser ativo contra a maioria dos zigomicetos. Essa substância apresenta eficácia comprovada em modelos murinos de zigomicose e na experiência limitada do tratamento de infecções em seres humanos. Ao contrário, o voriconazol é inativo contra esses fungos, e casos de zigomicose bem-sucedida já foram reportados em pacientes submetidos a BMT tratados com profilaxia usando esse medicamento.

Micoses Causadas por outros Fungos Filamentosos Hialinos

A lista de fungos filamentosos hialinos, também conhecidos como **hialohifomicetos**, é bem extensa e está muito além do escopo deste capítulo. para a discussão de todos eles (Quadro 74-1). Os agentes taxonomicamente disos da hialohifomicose (infecção causada por fungos filamentosos despigmentados) compartilham realmente várias características quanto a exibirem suscetibilidade reduzida a disos agentes antifúngicos e, quando presentes em tecidos, mostram-se como fungos filamentosos em ramificação, septados e hialinos (não pigmentados) e indistinguíveis do *Aspergillus*. A identificação desses fungos exige cultura e pode ser crítica na determinação da terapia mais apropriada.

Embora as infecções causadas pela maioria desses fungos sejam relativamente incomuns, sua incidência parece estar aumentando. A maioria das infecções disseminadas é considerada como adquirida pela inalação de esporos ou pela piora de lesões cutâneas localizadas anteriormente. Neste capítulo, a discussão sobre gêneros específicos é limitada a fungos filamentosos hialinos selecionados e clinicamente importantes: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp., *Acremonium* spp., *Paecilomyces* spp., *Trichoderma* spp. e *Scopulariopsis* spp. Esses organismos tendem a causar infecções em pacientes neutropênicos, estão frequentemente disseminados na natureza e são quase sempre fatais se a reconstituição imune não for bem-sucedida. Vários são capazes de conidiação adventícia (p. ex., geração de esporos em tecidos) com disseminação hematogênica concomitante, culturas de sangue positivas e lesões cutâneas múltiplas.

Fusarium spp. tem sido reconhecido cada vez mais como causa de infecção disseminada em pacientes imunocomprometidos. *Fusarium* também é uma importante causa de ceratite fúngica, especialmente entre usuários de lentes de contato. As espécies mais frequentemente isoladas de amostras clínicas são: *Fusarium moniliforme, F. solani* e *F. oxysporum*. A marca registrada da fusariose disseminada é o aparecimento de nódulos cutâneos purpúreos múltiplos com necrose central (Caso Clínico 74-4). A biópsia desses nódulos geralmente revela hifas septadas, hialinas e em ramificação invadindo os vasos sanguíneos da derme (Fig. 74-19). As culturas do sangue e do material para biópsia são úteis para estabelecer o diagnóstico de infecção por *Fusarium*. Embora as culturas de sangue virtualmente sempre resultem negativas em infecções invasivas causadas por *Aspergillus* spp. cerca de 75% dos pacientes com fusariose apresentarão culturas de sangue positivas. Na cultura, as colônias de *Fusarium* spp. crescem rapidamente, de algodonosas a lanosas, niveladas e em disseminação apresentando colorações variadas incluindo: azulada, bege, salmão, lavanda, vermelha, violeta e púrpura. Ao microscópio, o *Fusarium* spp. se caracteriza pela produção tanto de macro como de microconídios. Os microconídios são formados de 1 ou 2 células, ovoides a cilíndricas, e são geralmente suportados como bolas mucosas ou cadeias curtas. Os macroconídios são fusiformes ou falciformes e compreendem muitas células (Fig. 74-20). *Fusarium* spp. mostra, com frequência, resistência à anfotericina B *in vitro* e são comuns as infecções bem-sucedidas em pacientes tratadas com esse agente. O voriconazol tem sido usado com sucesso em alguns portadores de fusariose refratária à anfotericina B. Para o tratamento da fusariose, recomenda-se a terapia primária ou com uma formulação lipídica de anfotericina B ou voriconazol mais esforços vigorosos com vistas à reconstituição imune.

Caso Clínico 74-4 Fusariose

Badley et al. (www.FrontlineFungus.org) descreveram um caso de homem com 38 anos de idade que foi submetido à quimioterapia por recente diagnóstico de leucemia mieloide aguda, que desenvolveu neutropenia e febre. Ele foi tratado com agentes antibacterianos de largo espectro, porém, permaneceu febril, após 96 horas. Um cateter jugular interno esquerdo foi colocado. Hemocultura e urocultura não indicaram crescimento. Para prevenir uma potencial infecção fúngica, voriconazol foi adicionado ao regime terapêutico. Após 1 semana de

tratamento, o paciente continuava febril e neutropênico e sua terapia antifúngica foi trocada para caspofungina. Quatro dias depois, o paciente desenvolveu ligeira erupção dolorosa. Inicialmente a erupção se desenvolveu nas extremidades superiores e consistia de lesões em forma de placa, papular e eritematosa com centro se tornando necrótico. Hemocultura e biópsia de amostras de pele foram enviadas para análise laboratorial. O laudo do laboratório indicou que a hemocultura era positiva para "levedura", baseado na presença de células com brotamento e pseudo-hifas. A biópsia de pele apresentou "fungo filamentoso" consistente com *Aspergillus*. Entretanto, o teste para galactomanana no soro era negativo. Em todas as culturas cresceram *Fusarium solani*. O tratamento do paciente com caspofungina foi descontinuado e trocado por uma preparação lipídica de anfotericina B e voriconazol. Apesar da terapia antifúngica, as lesões aumentaram 2 semanas seguinte em número e se espalhando por todas as extremidades, tronco e face. A neutropenia e febre persistiram e ele morreu aproximadamente 3 semanas após o diagnóstico inicial.

A combinação de lesões na pele e hemocultura positiva são típicos achados na fusariose. Apesar de "leveduras" terem sido reportadas na hemocultura, uma análise cuidadosa revelou microconídios e hifas de *Fusarium*. Também, a aparência da hifa septada, na biópsia de pele, poderia representar um número de diferentes fungos filamentosos hialinos, incluindo *Fusarium*.

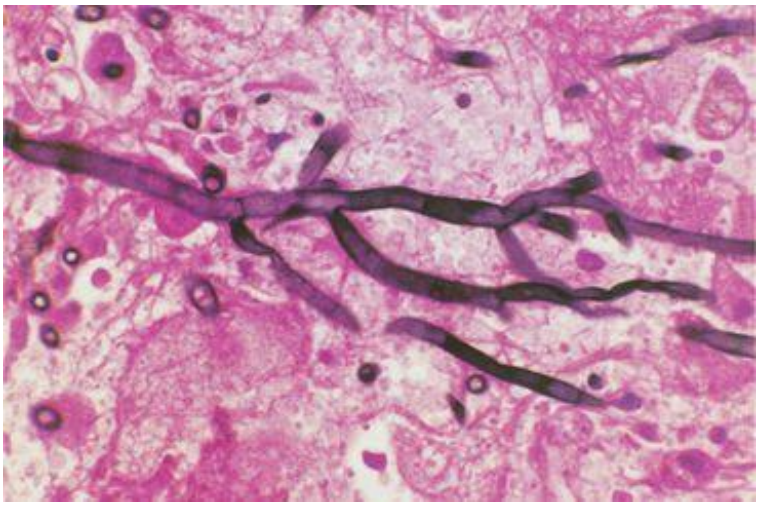


Figura 74-19 *Fusarium* sp. em tecido mostrando hifas septadas se ramificando em ângulo agudo e que são indistinguíveis daquelas de *Aspergillus* spp.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic diagnosis of fungal infections, Chicago, 1987.)

Figura 74-20 Preparação de *Fusarium oxysporum* em lactofenol azul de algodão.

No gênero *Scedosporium, S. apiospermum* (telemorfo *Pseudallescheria boydii*) e *S. prolificans* representam dois importantes patógenos oportunistas resistentes aos antifúngicos. *S. apiospermum* pode ser prontamente isolado do solo e representa causa ocasional de micetoma no mundo todo; entretanto, esse organismo também causa infecção grave localizada e disseminada em pacientes imunocomprometidos. Além da doença de disseminação ampla, ele tem sido relatado como causa de úlceras de córnea, endoftalmite, sinusite, pneumonia, endocardite, meningite, artrite e osteomielite. Ao exame histopatológico, *S. apiospermum* é indistinguível de *Aspergillus* spp. e de outros agentes de hialo-hifomicose. Essa distinção é importante clinicamente, pois *S. apiospermum* é resistente à anfotericina B e suscetível ao voriconazol e ao posaconazol. Em cultura, as colônias são de lanosas a algodonosas e de início brancas, se tornando marrom-esfumaçadas a verdes mais tarde. Ao microscópio, os conídios unicelulares são alongados e castanhos, nascidos isoladamente ou em bolas em conidióforos de cadeia longa ou curta (Fig. 74-21).

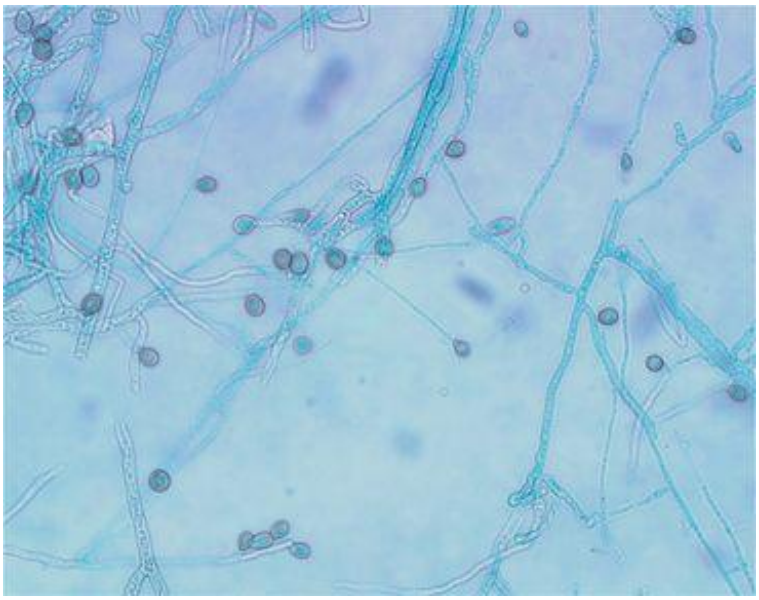


Figura 74-21 Preparação de *Scedosporium apiospermum* (*Pseudallescheria boydii*) em lactofenol azul de algodão mostrando conídios e hifas septadas.

S. prolificans (anteriormente *S. inflatum*) é um agente emergente potencialmente virulento e altamente agressivo de hialo-hifomicose. Embora bem menos importante que *Fusarium* spp. ou *S. apiospermum*, as infecções causadas por *S. prolificans* estão associadas a traumas em tecidos moles e se caracterizam por invasão local extensa, necrose de tecido e osteomielite. *S. prolificans* lembra *S. apiospermum* em morfologia macro e microscópica. A formação de aneloconídios por *S. prolificans* em agregados úmidos nos ápices de anelídios com bases inchadas é a característica mais útil na diferenciação desse organismo de *S. apiospermum*. *S. prolificans* é considerado resistente a virtualmente todos os agentes antifúngicos de ação sistêmica, incluindo os triazóis de amplo espectro e as equinocandinas. A ressecção cirúrgica permanece como a única terapia definitiva para a infecção por *S. prolificans*.

As infecções invasivas causadas por *Acremonium* spp. são vistas quase exclusivamente em pacientes com neutropenia, transplantes ou outras imunodeficiências e se apresentam de maneira semelhante àquelas causadas por *Fusarium*, com lesões cutâneas disseminadas pelo sangue e culturas sanguíneas positivas. Espécies de *Acremonium* são encontradas com frequência no solo, na vegetação em decomposição e em alimentos em decomposição. As colônias de *Acremonium* spp. são de coloração cinza esbranquiçada ou rosa, com superfície aveludada a algodonosa. Os conídios podem ser de uma só célula, em cadeias ou na forma de massa de conídios surgindo de fiálides afuniladas, curtas e não ramificadas. O melhor

tratamento para infecções causadas por *Acremonium* spp. ainda não foi estabelecido, pois esse fungo se mostra resitente à anfotericina B, ao itraconazol e às equinocandinas. Um relato recente de tratamento bem-sucedido de uma infecção pulmonar causada por *Acremonium strictum* com posaconazol sugere que os novos triazóis podem ser úteis no tratamento de infecções causadas por *Acremonium*.

Embora incomum, *Paecilomyces* spp. podem causar doença invasiva em receptores de célula-tronco orgânicas ou hematopoéticas, em pacientes com AIDS e em outros pacientes imunocomprometidos. Com frequência, o portal de entrada são as fissuras cutâneas ou os cateteres intravasculares, e a disseminação, possivelmente ajudada por conidiação adventícia em tecidos, é comum. As duas espécies mais comuns são *P. lilacinus* e *P. variotti*. Ao microscópio, os conídios de *Paecilomyces* spp. formam cadeias e são unicelulares, com formato ovoide a fusiforme. As fiálides possuem base inchada e colo longo e afunilado. A sucetibilidade à anfotericina B varia, tendo sido observados casos de resistência com *P. lilacinus*. O voriconazol tem sido usado com sucesso para tratar tanto a infecção cutânea grave como a doença disseminada.

Trichoderma spp. são um exemplo excelente de fungos anteriormente rotulados como não patogênicos e que emergiram como patógenos em pacientes imunocomprometidos e em pacientes submetidos à diálise peritoneal. A doença disseminada fatal causada por *Trichoderma longibrachiatum* atinge pacientes com tumores malignos hematológicos, após BMT ou transplante de órgão sólido. A maior parte das espécies de *Trichoderma* mostra suscetibilidade reduzida à anfotericina B, ao itraconazol, ao fluconazol e à flucitosina. O voriconazol demonstra atividade contra os poucos isolados testados.

Scopulariopsis spp. são saprótitas ubíquos no solo e têm sido raramente implicados com doença invasiva no homem. *Scopulariopsis brevicaulis* é a espécie mais frequentemente isolada. A infecção normalmente é confinada às unhas; entretanto, já foram observadas infecções profundas e graves em pacientes portadores de leucemia neutropênica e após BMT. Têm sido descritas infecções, tanto locais como disseminadas, com envolvimento do septo nasal, da pele e de tecidos moles, sangue, pulmões e cérebro. O diagnóstico é feito por cultura e histopatologia. *Scopulariopsis* spp. cresce moderada a rapidamente em meios micológicos padronizadas. As colônias são inicialmente lisas, tornando-se de granulares a puverlulentas com a idade. Os conidióforos são anelídios que se formam isoladamente ou em cachos ou podem constituir uma estrutura semelhante a uma vassoura, ou escópula, parecida àquela visualizada com *Penicilliuim* spp. Os aneloconídios são de início lisos, tornando-se rugosos à medida que amadurecem, têm a forma de lâmpadas e formam cadeias basípetas. O *Scopulariopsis* spp. é geralmente resistente ao itraconazol e moderadamente suscetível à anfotericina B. As infecções invasivas podem exigir tratamento clínico e cirúrgico e são frequentemente fatais.

Feo-hifomicose

Feo-hifomicose é uma infecção de tecidos causadas por hifas demáceas (pigmentadas) e/ou leveduras. As infecções por fungos demáceos constituem um grupo significativo e cada vez mais prevalente de doenças fúngicas oportunistas e podem assumir a forma de doença disseminada ou se tornarem localizadas nos pulmões, seios paranasais ou no sistema nervoso central. A inoculação primária resultando em infecção subcutânea localizada ocorre comumente em países emergentes e foi discutida no Capítulo 72.

Os fungos demáceos documentados como causadores de infecções no homem englobam um grande número de gêneros diferentes; entretanto, as causas mais comuns de infecção humana incluem espécies de *Alternaria, Bipolaris, Cladosporium, Curvularia e Exserohilum*. Além disso, vários fungos demáceos parecem ser neurotrópicos: *Cladophialophora bantiana, Bipolaris spicifera, Exophiala* spp., *Wangiella dermatitidis, Ramichloridium obovoideum* e *Chaetomium atrobrunneum*. A apresentação mais comum no SNC é o abscesso cerebral. As informações por *Bipolaris* spp. e *Exserohilum* spp. podem se apresentar inicialmente como sinusite que se estende para o SNC.

Nos tecidos se observa a presença de hifas com ou sem formas de levedura. Mais frequentemente, o pigmento semelhante à melanina marrom pálido a escuro no interior da parede celular aparece no tecido corado com H&E ou corante de Papanicolau (Fig 74-22). A coloração com a técnica de Fontana-Masson (corante específico de melanina) pode ajudar a visualizar os elementos demáceos.

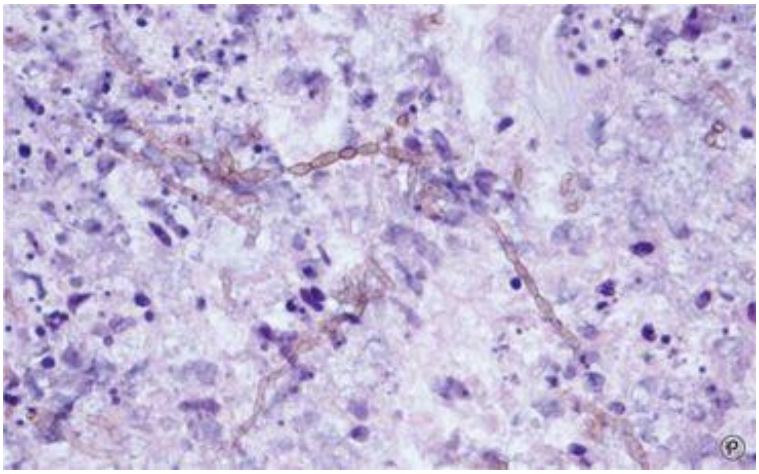


Figura 74-22 *Cladophialophora bantiana* em tecido mostrando hifas pigmentadas (H&E, ×400).

(De Marler LM et al: Mycology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2004.)

Os fungos demáceos são consideravelmente diferentes no espectro clínico de infecção e resposta à terapia. Além disso, os diferentes gêneros não são rapidamente diferenciados no exame histopatológico. Por isso, é importante que se faça um diagnóstico microbiológico preciso com base em cultura do tecido infectado, para o melhor tratamento clínico das infecções causadas por esse fungo.

Alternaria spp. são a causa importante de sinusite paranasal em indivíduos tanto sadios como imunocomprometidos. Entre os outros sítios de infecção, temos a pele e os tecidos moles, a córnea, o trato respiratório inferior e o peritônio. *Alternaria alternata* é o mais bem documentado patógeno humano nesse gênero. Em cultura, as colônias de *Alternaria* crescem rapidamente, com superfície algodonosa e de coloração cinza a negra. Os conidióforos são geralmente isolados e simples ou ramificados. Os conídios se desenvolvem em cadeias ramificadas e se mostram demáceos, muriformes, com superfície lisa ou rugosa, se afunilando em direção à extremidade distal com um pequeno bico no ápice (Fig. 74-23).

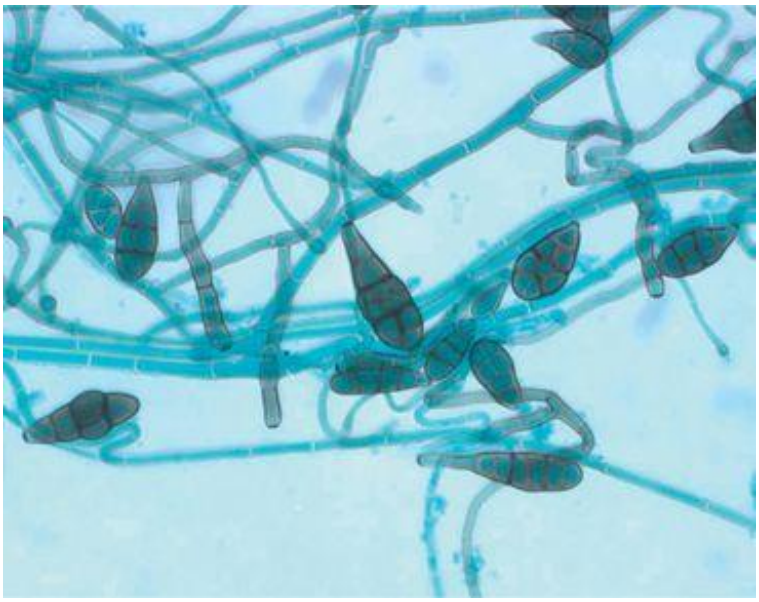


Figura 74-23 Preparação de *Alternaria* sp. em lactofenol azul de algodão mostrando cadeias escuras e pigmentadas de conídios muriformes.

Cladosporium spp. são, em geral, causadores de infecções cutâneas superficiais, mas também podem provocar infecções profundas. Esses fungos têm crescimento rápido, com colônias aveludadas cinza-esverdeadas a negras. Os conidióforos surgem das hifas e são demáceos, grandes e ramificados. Os conídios podem ser lisos ou rugosos e de várias células, formando cadeias ramificadas no ápice do conidióforo.

Curvularia spp. são habitantes ubíquos do solo e têm sido implicados com infecções tanto locais como disseminadas. Os sítios de infecção incluem o endocárdio (endocardite) sítios de inserção de cateter, septo nasal e seios paranasais, trato respiratório inferior, pele e tecidos subcutâneos, ossos e córnea. Nos tecidos e as hifas podem se mostrarem sem pigmentação. As espécies comuns consideradas como agente etiológico da infecção no homem são: *C. geniculata, C. lunata, C. pallescens* e *C. senegalensis*. Em cultura, as colônias mostram crescimento rápido, são algodonosas e de coloração cinza a cinza-escuro. Ao microscópio, os conídios os demáceos, isolados ou em grupos, septados, simples ou ramificados, simpodiais e geniculados.

As infecções causadas pelos gêneros *Bipolaria* e *Exserohilum* são similares àquelas causadas por *Aspergillus* spp., exceto pelo fato de a doença progredir mais lentamente. As apresentações clínicas incluem a disseminação com invasão vascular e necrose dos tecidos, envolvimento do SNC e seios paranasais e a associação à doença alérgica broncopulmonar. Esses organismos causam sinusite em hospedeiros “normais” (atópicos ou asmáticos) e doença mais invasiva em hospedeiro imunocomprometido. Em cultura, tanto *Bipolaria* como *Exserohilum* formam colônias de crescimento rápido, algodonosas de coloração acinzentada a escura. Ao microscópio, os conidióforos são simpodiais e geniculados. Os conídios são demáceos, com formato oblongo a cilíndrico e multicelulares (Fig. 74-24).

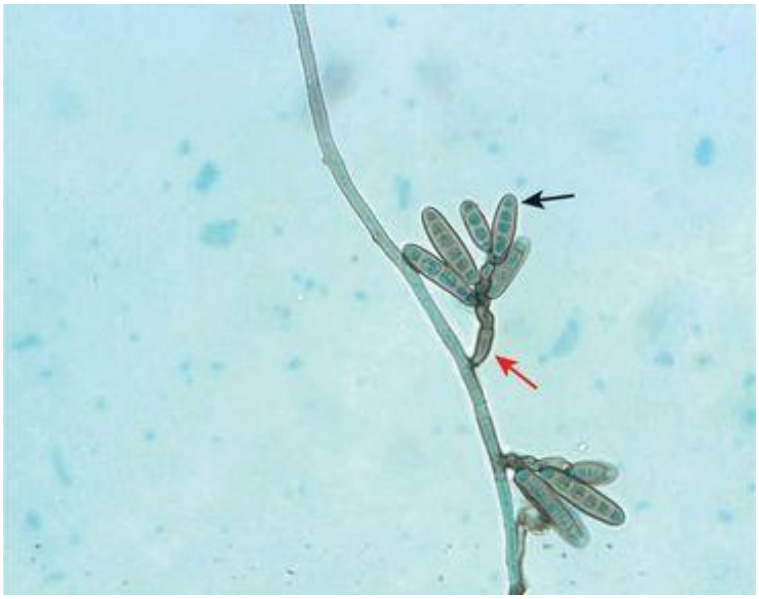


Figura 74-24 Preparação de *Bipolaris* sp. em lactofenol azul de algodão mostrando conídios pigmentados (*seta preta*) nascidos em conidióforos geniculados (*seta vermelha*).

O melhor tratamento para a feo-hifomicose ainda não foi estabelecido, embora inclua, com frequência, a administração precoce de anfotericina B e a excisão cirúrgica agressiva. Apesar desses esforços, a feo-hifomicose não responde satisfatoriamente ao tratamento, e as recidivas são comuns. O posaconazol tem sido usado com sucesso para tratar a infecção causada por *Exophiala spinifera*. Nos pacientes portadores de abscessos cerebrais, a excisão completa da lesão tem sido associada à melhoria do índice de sobrevida. Os triazóis a longo prazo (posaconazol ou voriconazol) associados à excisão cirúrgica repetida podem prevenir recorrência.

Pneumocistose

Pneumocystis jirovecii (antigo *P. carinii*) é um organismo que provoca infecção quase exclusivamente em pacientes debilitados e imunocomprometidos, especialmente aqueles com infecção por HIV. Essa é a infecção oportunista mais comum em pacientes com AIDS. Entretanto, sua incidência tem diminuído consideravelmente nos últimos anos como uso da terapia antirretroviral altamente ativa (HAAT, do inglês, *highly active antiretroviral therapy*). Embora anteriormente considerado como um parasita protozoário, evidências moleculares e genéticas recentes o classificam entre os fungos (Cap. 5).

O ciclo de vida de *P. jirovecii* inclui componentes sexuais e assexuais. No homem, durante o curso da infecção por *P. jirovecii*, o organismo pode existir como formas tróficas livres (1,5 a 5µm de diâmetro), como um esporocisto uninucleado (4 a 5µm) ou como um cisto (5µm) contendo até oito corpos intracísticos ovoides a fusiformes (Fig. 74-25). Após a ruptura do cisto, a parede cística pode ser vista como uma estrutura vazia colapsada (Fig. 74-26).

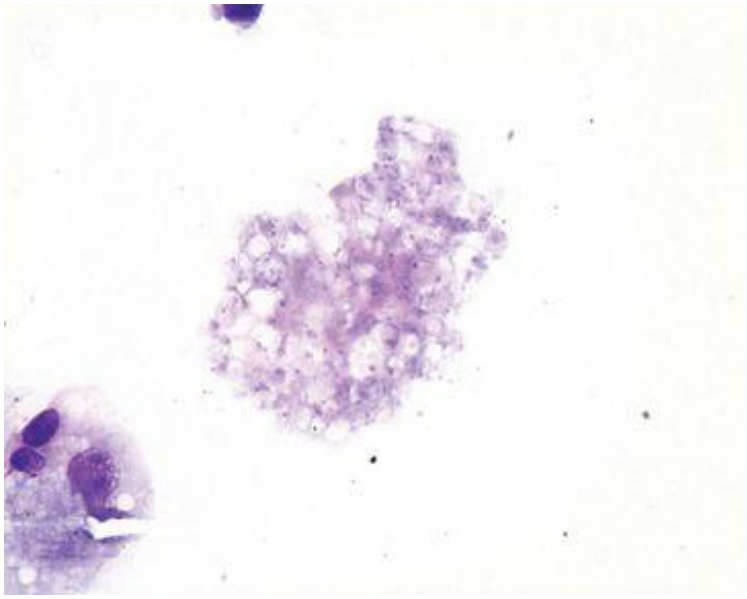


Figura 74-25 *Pneumocystis jirovecii* em fluido de lavagem broncoalveolar. O corante de Giemsa mostra formas intracísticas (×1.000).

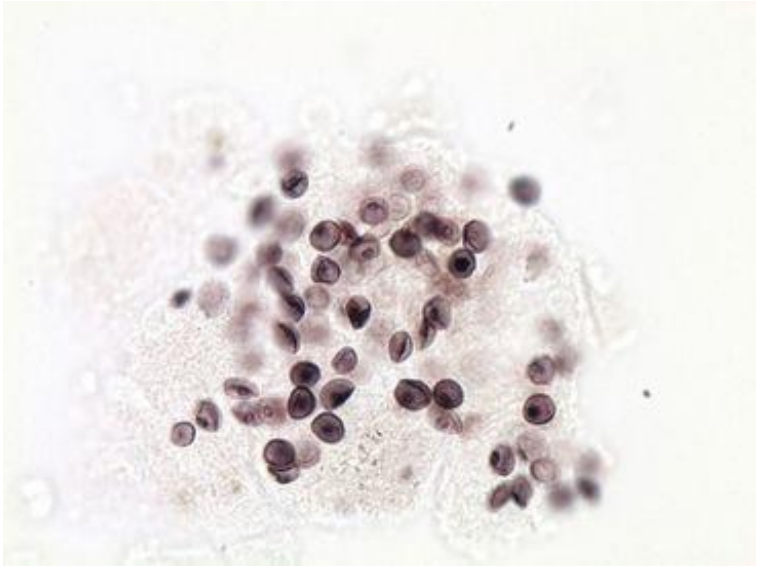


Figura 74-26 *Pneumocystis jirovecii* em fluido de lavagem broncoalveolar. O corante GMS

mostra cistos típicos intactos e em colapso (×1.000).

O reservatório para *P. jirovecii* na natureza é desconhecido. Embora a transmissão pelo ar já tenha sido documentada experimentalmente entre roedores, as cepas isoladas de roedores são geneticamente distintas das cepas isoladas dos seres humanos, tornando pouco provável que os roedores sirvam como reservatório zoonótico para doença humana.

O trato respiratório é o principal portal de entrada para *P. jirovecii* no homem, e a pneumonia é nitidamente a apresentação mais comum da pneumocistose, embora manifestações extrapulmonares possam ser vistas entre pacientes com AIDS. O envolvimento dos linfonodos, baço, medula óssea, fígado, intestino delgado, trato genitourinário, olhos, orelhas, pele, ossos e tireoide já foi relatado. Evidências recentes sugerem que tanto a reativação da infecção antiga quiescente como a da infecção primária podem ocorrer. Pacientes desnutridos debilitados e imunocomprometidos, especialmente os com AIDS com contagem baixa de CD4 (< 200/μl) estão com alto risco para esta infecção.

A marca registrada da infecção por *P. jirovecii* é o quadro de pneumonite intersticial com infiltrado mononuclear composto predominantemente de células plasmáticas. O início da doença é insidioso, com sinais e sintomas que incluem dispneia, cianose, taquipneia, tosse não produtiva e febre. A radiografia mostra tipicamente infiltrados intersticiais difusos com aparência de vidro moído se estendendo desde a região hilar, mas o raio X pode também se apresentar dentro da normalidade ou mostrar nódulos ou cavitação. A taxa de mortalidade é alta entre pacientes não tratados e a morte é causada por insuficiência respiratória.

Histologicamente se observa um exudato espumoso no interior dos espaços alveolares, com um infiltrado intersticial intenso composto predominantemente de células plasmáticas. Outros padrões possíveis são o dano alveolar difuso, a inflamação granulomatosa não caseosa e a necrose coagulante semelhante a infarto.

O diagnóstico de infecção por *P. jirovecii* se baseia quase inteiramente no exame microscópico de material clínico, incluindo o fluido de lavagem brônquica dos alvéolos, a escovação brônquica, o escarro induzido e as amostras de biópsia de pulmão transbrônquica ou aberta. O exame de fluido de lavagem brônquica dos alvéolos já demonstrou sensibilidade de 90% a 100% e geralmente evita a necessidade de biópsia. O exame ao microscópio do escarro induzido pode ser útil em pacientes com AIDS portadores de uma carga muito alta desse organismo; entretanto, esse exame apresenta um índice falso-negativo de 20% a 25%. Uma variedade de corantes histológicos e citológicos tem sido usada para detectar *P. jirovecii* incluindo GMS, Giemsa, PAS, azul de toluidina, calcoflúor e imunofluorescência. O corante Giemsa demonstra as formas tróficas, mas não cora a parede do cisto (Fig. 74-25), enquanto o corante GMS é específico para esta parede (Fig. 74-26). As técnicas de imunofluorescência coram tanto as formas tróficas como a parede cística.

O fundamento tanto para a profilaxia como para o tratamento é um medicamento trimetoprima + sulfametoxazol. As terapias alternativas incluindo pentamidina, trimetoprima-dapsona, clindamicina-primaquina, atovaquona e trimetrexato têm sido aplicadas a pacientes com AIDS.

Estudo de Caso e Questões

George é um homem de 45 anos que se submeteu a um transplante halogênico de células-tronco como parte de seu tratamento para leucemia aguda. O transplante se desenvolveu satisfatoriamente e, após o enxerto, George recebeu alta do hospital. Durante o curso do transplante, os médicos administraram profilaxia antifúngica com voriconazol, por causa das preocupações envolvendo aspergilose, que foi um problema no hospital nos últimos anos. Após a alta, George reagiu bem e a profilaxia antifúngica continuou; entretanto, em uma consulta clínica, 140 dias após o tratamento, se observou que ele apresentava exantema e resultados elevados de função hepática. Uma semana mais tarde, apresentou diarreia sanguinolenta e seu médico ficou preocupado quanto à doença do enxerto-*versus*-hospedeiro (GVHD, *graft versus host disease*). Foi executada uma biópsia retal, que confirmou a doença e o regime de imunossupressão de George foi intensificado, como sua dose diária de

voriconazol. Os sinais e sintomas da GVDH continuaram e George foi hospitalizado com confusão, febre e falta de ar. A radiografia do tórax mostrou um infiltrado cuneiforme no campo pulmonar direito inferior e as investigações por imagens dos seios mostraram opacificação bilateral.

1. Qual o diagnóstico diferencial desse processo?

1. O diagnóstico diferencial de febre, pneumonia e sinusite em um paciente transplantado com medula com GVHD é muito amplo e inclui infecção bacteriana, infecção viral (especialmente CMV), infecção fúngica. A combinação de sinusite e infiltrado em um paciente recebendo profilaxia com voriconazol é fortemente sugestiva de infecção devido a um fungo filamentoso diferente de *Aspergillus* spp. As possibilidades incluem infecção devido à zigomicetos ou outro fungo hialino com suscetibilidade diminuída ao voriconazol como *Fusarium* sp. A forma localizada mais sinusite faz com que infecção por *Pneumocystis jirovecii* seja improvável.

2. Quais patógenos fúngicos você considera em um indivíduo imunocomprometido sob profilaxia com voriconazol?

2. Fungos com diminuída suscetibilidade ao voriconazol incluem *Candida glabrata*, zigomicetos, *Scedosporium prolificans, Scedosporium apiospermum*, e algumas cepas de *Fusarium* sp.

3. Como você agiria para fazer o diagnóstico?

3. Sempre que possível, uma biópsia do tecido deve ser realizada para o diagnóstico. Material do seio e pulmão devem ser obtidos e analisados microscopicamente. Cultura para fungos também devem ser realizadas, embora seja muitas vezes negativa neste cenário, especialmente se a infecção causada por zigomicetos.

4. Qual o curso de terapia você assumirá?

4. A terapêutica deve incluir redução da imunossupressão, se possível, juntamente com a excisão cirúrgica de material infectado e terapia sistêmica com anfotericina B. Se a infecção é devida a zigomicetos, a terapia com posaconazol pode ser considerada.

Bibliografia

Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Chandler FW, Watts JC. Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago: ASCP, 1987.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases. Stamford: Conn, Appleton & Lange, 1997.

Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. Candida. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Gudlagson O, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis*. 2003;37:1172-1177.

Pannuti CS, et al. Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation: A 9-year study. *J Clin Oncol*. 1991;9:1.
Pfaller MA, Wenzel RP. The epidemiology of fungal infections. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.
Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in clinical practice: Global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of Candida. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(Suppl 1):11-23.
Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: Concern for resistance beyond Candida albicans and Aspergillus fumigatus. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4419.
Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:133.
Pfaller MA, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997–2005: An 8.5 year analysis of susceptibilities of Candida and other yeast species to fluconazole and voriconazole by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol*. 2007;45:1735.
Pfaller MA, et al. Infections due to emerging non-Candida, non-Cryptococcus opportunistic yeast pathogens. *Curr Fungal Infect Rep*. 2007;1:53.
Viviani MA, Tortorano AM, Ajello L. Cryptococcus. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.
Wey SB, et al. Hospital-acquired candidemia: Attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med*. 1988;148:2642-2645.
Wisplinghoff H, et al. Nosocomial bloodstream infections in U.S. hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004;39:309.

75 Infecções Fúngicas ou Similares de Etiologia Incomum ou Incerta

Até aqui discutimos os processos micóticos causados por fungos razoavelmente bem caracterizados que podem servir como colonizadores, patógenos oportunistas ou patógenos verdadeiros. Ainda que muitos destes organismos tenham sido, de tempos em tempos, submetidos a uma reclassificação taxonômica, todos eles partilham as características do reino Fungi (Cap. 5). Uma notável exceção é *Pneumocystis jirovecii* (*carinii*), um organismo previamente considerado como protozoário e classificado atualmente como fungo da classe Arquiascomicetos, baseado em evidências moleculares (Caps. 5 e 74). O fato de *P. jirovecii* não crescer em meio artificial complicou sua caracterização e transferência à categoria taxonômica própria. Neste capítulo, discutiremos várias infecções que historicamente são consideradas representantes de processos fúngicos ou similares baseados na apresentação clínica e histopatológica; semelhante ao *P. jirovecii*, são difíceis de classificar, pois não crescem em meio artificial. Em um exemplo, a evidência molecular atual sugeriu que um organismo que se pensava ser, previamente, um fungo (*Rhinosporidium seeberi*) é, de fato, um parasita protista. Também discutiremos duas infecções por algas e um incomum devida ao oomiceto, *Pythium insidiosum*. Além de serem incomuns, estas infecções são todas diagnosticadas com base na detecção de estruturas características no exame histopatológico de tecido. Uma lista de infecções, com os agentes etiológicos e a morfologia típica no tecido, é fornecida na Tabela 75-1.

Tabela 75-1 Aspectos Morfológicos das Infecções Fúngicas e Fungiformes de Etiologia Incomum e Incerta

Tabela 75-1. Aspectos Morfológicos das Infecções Fúngicas e Fungiformes de Etiologia Incomum e Incerta

Doença	Agente(s) Etiológico(s)	Morfologia Típica no Tecido	Reação Comum no Hospedeiro
Adiaspiromicose	*Emmonsia* spp.	Adiaconídios grandes, de 200 a 400µm de diâmetro com paredes espessas (20-70µm). (Fig. 75-1)	Granulomatosa fibrótica e não caseosa
Clorelose	*Chlorella* sp. (algas clorófilas verdes)	Organismos unicelulares endosporulados e arredondados, de 4-15µm de diâmetro, contendo múltiplos grânulos citoplasmáticos (Cloroplastos). As lesões são pigmentadas de verde (Fig. 75-2).	Piogranulomatosa
Lacaziose (Lobomicose)	*Lacazia loboi* (*Loboa loboi*)	Leveduras esféricas com brotamento, 5-12µm de diâmetro, que formam cadeias de células conectadas por estruturas tubulares; brotamento secundário pode estar presente (Fig. 75-3).	Granulomatoso
Prototecose	*Prototheca wickerhamii*, *P. zopfii* (algas aclorófilas verdes)	Esférulas esféricas, ovais ou poliédricas de 2-25µm de diâmetro, contendo de 2-20 endósporos quando maduras (Fig. 75-5).	Variável; sem reação à granulomatosa
Pitiose insidiosa	*Pythium insidiosum* (Não é fungo verdadeiro; pertence à classe Oomycetes)	Hifas e fragmentos hifais curtos que são hialinos, de paredes finas, pausisseptadas, de ramificação irregular, de 5-7µm de largura, contornos não paralelos; angioinvasivas. (Fig. 75-6).	Artrite granulomatosa, necrotizante e supurativa
Rinosporidiose	*Rhinosporidium seeberi* (parasita protista aquático do clado Mesomycetozoa)	Esporângios grandes (100-350µm de diâmetro) com paredes finas (3-5µm) que encerram numerosos endósporos, 6-8µm de diâmetro, com uma distribuição regional (Fig. 75-7 e 75-8).	Inflamatória ou granulomatosa inespecíficas crônicas

Dados de Chandler FW, Watts JC: Pathologic diagnosis of fungal infections, Chicago, ASCP, 1987; Connor DH, et al: Pathology of Infectious Disease, vol 2. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.

Adiaspiromicose

No homem, a adiaspiromicose é uma infecção rara, pulmonar autolimitada, causada pela inalação de conídio assexual do saprófita do solo *Emmonsia crescens* e *E. parva*. Os sinônimos incluem **haplomicose** ou **adiaspirose**.

Morfologia

Os fungos *E. crescens* e *E. parva* crescem como fungos filamentosos em cultura à temperatura ambiente e na natureza. As hifas são septadas e ramificadas. Os pequenos (2 a 4µm) aleurioconídios nascem nos conidióforos em ângulos retos à hifa vegetativa. Em incubação a 40°C *in vitro*, ou quando introduzidos nos pulmões, os conídios se transformam em adiaconídios esféricos, que aumentam seu tamanho, porém não mostram nenhuma evidência de replicação (p. ex., brotamento, formação de endósporo).

Quando maduros, os adiaconídios são esférulas de parede espessa medindo de 200 a 400µm ou mais de diâmetro (Fig. 75-1; Tab. 75-1). As paredes da esférula são refratárias, de 20 a 70 µm de espessura, e quando coradas pela hematoxilina e eosina (H&E), são compostas de duas camadas: uma eosinofílica estreita e externa, contendo aberturas periódicas, e outra hialina ampla e interna, composta predominantemente de quitina (Fig. 75-1). As paredes dos conídios coram-se pela prata metenamina de Gomori (GMS), ácido periódico de Schiff (PAS) e coloração de Gridley para fungos, mas não com mucicarmin (Tab. 75-2). No tecido pulmonar humano, os adiaconídios são, em geral, vazios, mas podem conter glóbulos eosinofílicos pequenos junto à superfície interna das paredes (Fig. 75-1).

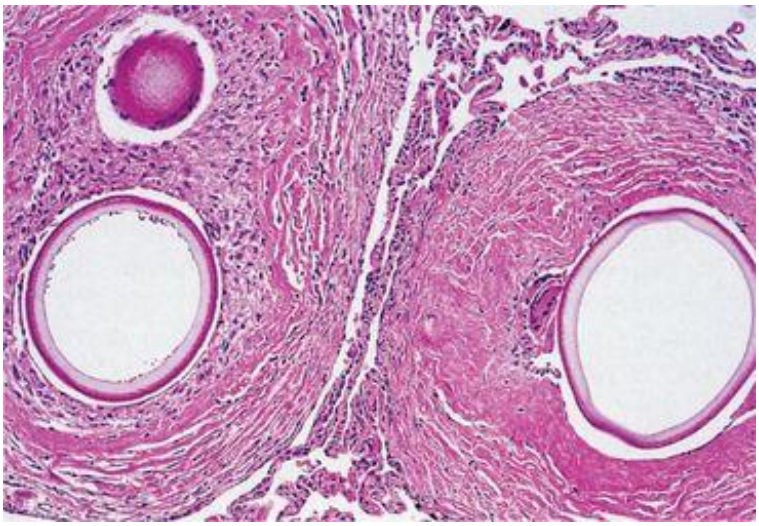


Figura 75-1 Adiaspiromicose pulmonar. A coloração pela hematoxilina e eosina (H&E) define três camadas na parede do adiaconídio. Cada adiaconídio incitou uma resposta fibrogranulomatosa. (H&E, 40×).

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Disease, vol. 2 Stamford, Conn., Appleton & Lange, 1997.)

Tabela 75-2 Aspectos Morfológicos dos Fungos e Organismos Fungiformes que Parecem como Esférulas Grandes no Tecido

Tabela 75-2. Aspectos Morfológicos dos Fungos e Organismos Fungiformes que Parecem como Esférulas Grandes no Tecido

Aspecto	Organismos		
	Coccidioides immitis	***Rhinosporidium seeberi*** [a]	***Emmonsia* spp.** [b]
Diâmetro externo da esférula (μm)	20-200	10-350	200-400
Espessura da parede da esférula (μm)	1-2	3-5	20-70
Diâmetro dos endósporos (μm)	2-5	6-10[c]	nenhum
Pigmentação	nenhum	nenhum	nenhum
Hifas ou artroconídios	raro	nenhum	nenhum
Reação do hospedeiro	**Granulomas necróticos**	**Pólipos mucosos com inflamação aguda e crônica**	**Granulomas fribróticos**
Crescimento em cultura	+	−	±[d]
Reações especiais aos corantes			
GMS	+	+	+
PAS	+	+	+
Mucicarmin	−	+	−

Adaptado de Chandler FW, Watts JC: Pathogenic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.
[a] *Não é um fungo. Recém-classificado como um parasita protista aquático da chave Mesomycetozoa.*
[b] *Adiaconídios.*
[c] *Endósporos organizados em distribuição regional característica. Endósporos maduros contêm glóbulos eosinofílicos distintos.*
[d] *Cresce como um fungo filamentoso em meio ágar. Organismo irrecuperável de tecido.*

Epidemiologia

Ainda que a adiaspiromicose humana seja incomum, a infecção é prevalente mundialmente em roedores. Da mesma forma, o fungo pode ser encontrado na natureza predominantemente em zonas temperadas. A doença humana tem sido reportada da França, República Tcheca, Rússia, Honduras, Guatemala, Venezuela e Brasil. Os roedores podem servir como reservatório zoonótico da doença. O modo provável de infecção é por inalação dos conídios fúngicos aerossolizados pelo solo contaminado.

Síndromes Clínicas

Como muitas infecções fúngicas, a maioria dos casos de adiaspiromicose documentados tem sido assintomática. Os nódulos pulmonares podem ser detectados por exames de imagem ou incidentalmente em autópsia ou amostras cirúrgicas de pulmão removido por outras razões.

Três formas de adiaspiromicose humana foram reconhecidas: granuloma solitário, doença granulomatosa localizada e doença granulomatosa disseminada difusa. Os pacientes com a forma granulomatosa disseminada da adiaspiromicose pulmonar podem apresentar febre, tosse e dispneia progressiva devido à compressão e ao deslocamento das vias aéreas distais e do parênquima alveolar pela expansão dos granulomas. A replicação fúngica nos pulmões não ocorre, e a disseminação extrapulmonar não tem sido reportada. A severidade da doença parece estar relacionada com o número de conídios inalados.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da adiaspiromicose é estabelecido pelo exame histopatológico do pulmão afetado e pela identificação dos adiaconídios característicos. Cada adiaconídio é circundado por uma resposta granulomatosa de células gigantes e epitelioides, que é cercada adicionalmente por uma cápsula densa de tecido fibroso (Fig. 75-1). Todos os granulomas estão num estágio similar de desenvolvimento, refletindo uma exposição em tempo único sem replicação subsequente dentro do pulmão.

As esférulas representadas pelos adiaconídios não devem ser confundidas com aquelas de *Coccidioides immitis* ou *Rhinosporidium seeberi*, dois outros organismos que produzem grandes esférulas no tecido (Tab. 75-2). Ao contrário de *C. immitis*, os adiaconídios de *Emmonsia* spp. são muito maiores, têm uma parede mais espessa e não contêm endósporos. Os esporângios de *R. seeberi* são distinguidos pela divisão em zonas dos esporangiósporos e os característicos glóbulos eosinofílicos vistos dentro dos esporangiósporos maduros (Tab. 75-2). Nenhum outro fungo de importância clínica tem paredes tão espessas quanto aqueles dos adiaconídios de *Emmonsia* spp. A cultura do tecido infectado não é útil, pois os adiaconídios não representam uma forma replicativa do fungo.

Tratamento

A adiaspiromicose pulmonar humana é uma infecção autolimitada. A terapia antifúngica específica não é necessária.

Clorelose

A clorelose é uma infecção do homem e de animais causada por uma alga verde unicelular do gênero *Chlorella*. Ao contrário de *Prototheca*, outra alga que causa infecção humana, *Chlorella* contém cloroplastos que dão às lesões da clorelose uma cor verde distinta. A maioria das infecções com este organismo ocorre em ovelhas e ruminantes. Até aqui uma única infecção humana foi reportada.

Morfologia

Chlorella spp. são unicelulares, ovoides, esféricas ou poligonais, têm de 4 a 5µm de diâmetro e se reproduzem por endosporulação. Os organismos contêm numerosos cloroplastos verdes que parecem grânulos citoplasmáticos. Os cloroplastos contêm grânulos de amido que se coram intensamente com GMS, PAS e coloração de Gridley para fungos. As paredes celulares podem apresentar duplo contorno (Fig. 75-2; Tab. 75-1). *Chlorella* spp. se reproduz assexuadamente por septação interna e clivagem citoplasmática, produzindo mais de 20 células-filhas (esporangiósporos) dentro do esporângio (célula-mãe). Na maturação, a parede externa do esporângio se rompe e libera os esporangiósporos que irão gerar novas células.

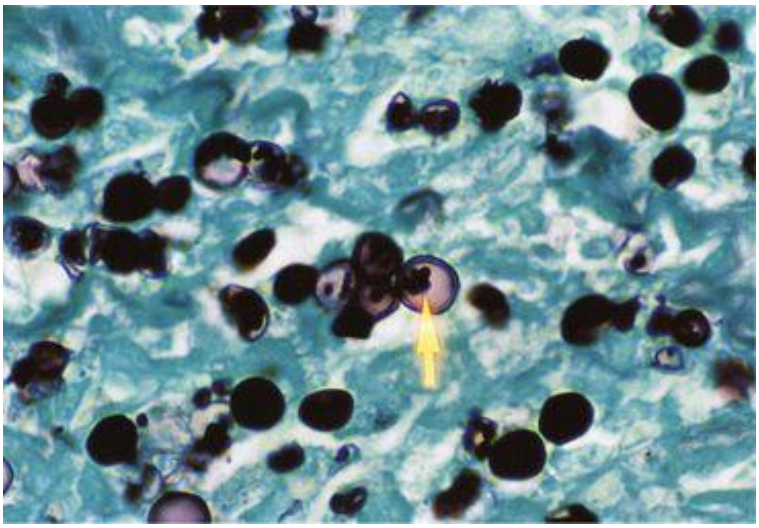


Figura 75-2 *Chlorella* sp. mostrando cloroplastos intracelulares e parede celular de contorno duplo (GMS, ×400).

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Disease, vol. 2 Stamford, Conn., Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

O único caso humano de clorelose ocorreu em Nebrasca e resultou da exposição de uma ferida cirúrgica à água de rio. As infecções em animais domésticos (ovelha e gado) e selvagens (castor) variam desde o envolvimento de linfonodos e órgãos profundos a lesões cutâneas e subcutâneas relacionadas, presumivelmente, à exposição à água contendo o organismo.

Síndromes Clínicas

Como observado, o caso humano de clorelose envolveu uma ferida cirúrgica com cicatrização contaminada com água de rio. A ferida subsequentemente drenou um exsudato amarelo-esverdeado. A infecção foi curada por debridamento cirúrgico repetido num período de 10 meses. Nos animais, lesões recentes no fígado, linfonodo e tecido subcutâneo são de cor verde no exame geral, e os esfregaços revelam organismos que contêm grânulos refráteis verdes (cloroplastos).

Diagnóstico Laboratorial

As infecções causadas por *Chlorella* spp. podem ser diagnosticadas por cultura e exame histopatológico de tecido infectado. O organismo cresce bem na maioria dos meios sólidos, produzindo colônias verde-claras. Montagens úmidas do exsudato da ferida ou 'imprint' de tecido infectado revelam células ovoides endosporuladas com grânulos citoplasmáticos verdes característicos representando os cloroplastos. Nos tecidos, as células se coram bem com os corantes de GMS e PAS, mas não com coloração por H&E. Elas podem ser distinguidas histologicamente de *Prototheca* pelos cloroplastos intracelulares.

Tratamento

O tratamento no único caso humano de clorelose consistiu em debridamento repetido, irrigação com solução de Dakin e enchimento com gaze e remoção pela drenagem e granulação. Alternativamente, a terapia com anfotericina B combinada com administração de tetraciclina provou eficácia no tratamento da prototecose e pode ser útil também na clorelose.

Lacaziose (Lobomicose) (Caso Clínico 75-1)

A lacaziose é uma infecção fúngica crônica da pele causada por *Lacazia loboi* (ex-*Loboa loboi*). *L. loboi* é atualmente classificado como um fungo ascomiceto da ordem *Onygenales* e da família *Ajellomycetaceae*. A doença é vista, primeiramente nos trópicos da América do Sul e Central. A infecção natural ocorre somente no homem e em golfinhos, embora tenha sido reproduzida, experimentalmente, por tecido infectado injetado em hamsters e tatus. O organismo nunca foi cultivado *in vitro*.

Caso Clínico 75-1 Lacaziose

Elsayed et al. (Emerg Infect Dis 10:715–718, 2004) descreveram um caso de lacaziose (Lobomicose) em um geólogo canadense. O paciente foi apresentado à sua dermatologista com lesão semelhante a placas de crescimento lento, 1,5cm de diâmetro, vermelho-escuro, não mole rodeado por cicatrizes queloidais localizadas na parte posterior e superior do braço direito. Estava localizado no local de uma cicatriz onde ocorreu uma tentativa de excisão de uma lesão similar 2 anos antes. A lesão original foi primeiro reparada enquanto o paciente estava visitando o sudeste asiático em 1996. Apesar de ele não ter procurado atendimento médico até o retorno ao Canadá 1 ano após. No momento, coccidioidomicose foi diagnosticado, baseado em um histórico de viagem a uma região endêmica e na presença de organismos ovais, leveduriformes nas secções histológicas. Entretanto, *Coccidioides immitis* nunca foi cultivado das lesões e estudo sorológico para esta infecção permaneceu negativo. Ela permaneceu bem até a nova lesão reaparecer, no local da cicatriz e gradualmente aumentar de tamanho. A paciente tinha um extenso histórico de viagem, incluindo paradas prolongadas no México, Costa Rica, América do Sul, Indonésia e Filipinas. Durante suas viagens, ela geralmente viveu em área de acampamento rural e teve extensa exposição à água doce, solo e cavernas subterrâneas. O histórico médico dela incluiu episódios de disenteria, dengue e helmintíase intestinal não relevante. Espécimes biopsiadas de nova lesão foram obtidos e submetidos ao exame microscópico e patológico. A coloração das secções por hematoxila eosina mostrou dermatite granulomatosa difusa, superficial e profunda com células gigantes multinucleadas. São vistas células fúngicas intracelulares e extracelulares não coradas de parade espessa refrátil. As células fúngicas se coram intensamente com os corantes ácido periódico de Schiff e GMS; as células são esféricas em formato de limão, aproximadamente 10 microns de diâmetro, e tamanho uniforme. Estão dispostas como uma única célula ou em cadeias de brotamentos curtos conectadas por pontes tubulares estreitas. Os organismos eram não cultiváveis. Morfologia fúngica era consistente com *Lacazia* (Loboa) *loboi*. A lesão foi completamente excisada, sem subsequente reativação. Essa doença deveria ser suspeita em pacientes com lesões queloidal única ou múltipa de pele, particularmente se eles estiveram viajado a áreas remotas da América Latina.

Morfologia

L. loboi apresenta uma morfologia leveduriforme, esférica e ovalada. Os fungos têm de 6 a 12µm de diâmetro e uma parede celular refrátil dupla e espessa. Ele se reproduz por brotamento sequencial e forma, geralmente, cadeias de células conectadas por pontes tubulares estreitas (Fig. 75-3). Algumas destas células podem ter um ou dois brotos secundários e ser confundidos pela forma de "roda de leme" de *Paracoccidioides brasiliensis*. *L. loboi* é, em geral, intracelular, embora formas extracelulares possam ser vistas.

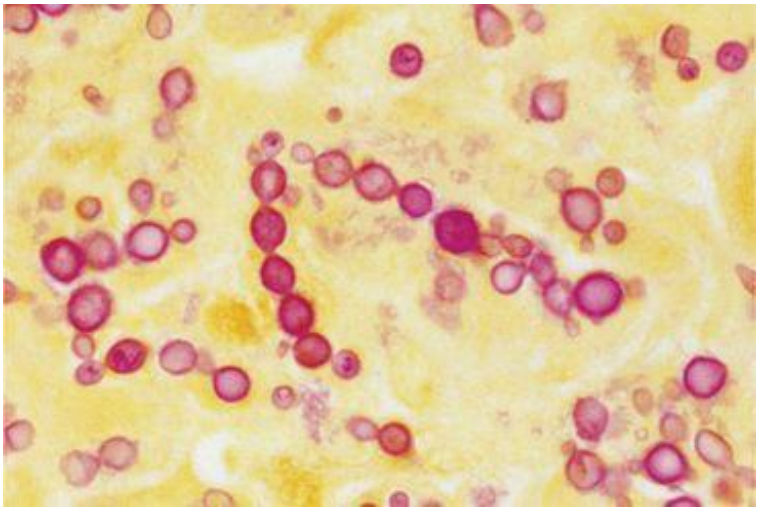


Figura 75-3 *Lacazia loboi*. Os fungos formam uma cadeia única com células individuais ligadas por pontes tubulares (Gridley, ×400).

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Epidemiologia

A doença humana é endêmica nas regiões tropicais da América do Sul e Central e tem sido reportada no centro e oeste do Brasil, Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Equador, México, Panamá, Peru, Surimane e Venezuela. Casos isolados foram reportados na Holanda, e um único caso foi reportado recentemente nos Estados Unidos num paciente com histórico de viagem à Venezuela.

Acredita-se que *L. loboi* seja uma saprófita do solo ou de vegetação, e a lacaziose predomina nas regiões tropicais com vegetação espessa, como as florestas tropicais da Amazônia. Acredita-se que o trauma cutâneo seja o modo de infecção. Um reservatório vegetal não foi identificado.

É fato que a lacaziose ocorre em golfinhos marinhos e de água doce, um hábitat aquático também é provável. A infecção entre os golfinhos tem sido reportada na Flórida, na costa do Texas, na costa espanhola-francesa, na costa sul brasileira, e no estuário do rio Suriname. Um exemplo da transmissão do golfinho para o homem foi reportado; entretanto, não há evidência de transmissão do homem para o homem.

A lacaziose ocorre primariamente nos homens ou nas mulheres que estão envolvidos em atividades agrícolas ou desmatamento. Lavradores, mineradores, caçadores e seringueiros têm maior incidência da doença. Não existe predileção racial e a lacaziose afeta todas as faixas etárias, com início da fase de pico dos 20 aos 40 anos.

A lacaziose é caracterizada pelo desenvolvimento lento de nódulos cutâneos de tamanho e forma variáveis (Fig. 75-4). As lesões cutâneas são polimórficas, variando de máculas, pápulas, nódulos queloides e placas a lesões ulceradas e verrugas, podendo todos estar presentes num único paciente (Fig. 75-4). A lesão nodular semelhante a queloides é mais comum. A doença é caracterizada por um período longo de dormência de meses a anos. O aumento no número e tamanho das lesões também é um processo lento, progredindo por um período de 40 a 50 anos. As lesões tendem a surgir em áreas traumatizadas da pele, como face, orelhas, braços, pernas e pés. A doença não envolve membranas mucosas ou órgãos internos. A disseminação cutânea local pode ocorrer através da autoinoculação. A parte o prurido ocasional e a hipestesia ou anestesia da área afetada, os pacientes são assintomáticos. Não existe manifestação sistêmica da doença.

Figura 75-4 Lesões múltiplas semelhantes à queloide da Lacaziose.

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico se baseia na presença das células leveduriformes características no exsudato da lesão ou em secções teciduais. A biópsia revela um infiltrado granulomatoso disperso junto com numerosas formas fúngicas na derme e no tecido subcutâneo. O granuloma consiste principalmente em células gigantes, macrófagos e células epitelioides. Tanto as células gigantes quanto os macrófagos contêm fungos que foram fagocitados.

L. loboi se cora intensamente com corantes de GMS e pelo método PAS. A coloração por H&E revela a parede celular espessa, com duplo contorno, de célula hialina e um ou mais núcleos hematoxilinofílicos.

Ainda que as lesões da lacaziose lembrem grosseiramente queloides, microscopicamente, eles têm uma marcada fibrose que não é o caso com lacaziose. Similarmente, os queloides são desprovidos de granulomas e elementos fúngicos. A morfologia e o padrão do brotamento de *L. loboi* são característicos e não devem ser confundidos com aqueles de *P. brasiliensis* (brotamentos múltiplos, tamanho variável), *Blastomyces dermatitidis* e *Histoplasma capsulatum* var *duboisii* (sem cadeias de células), ou *Sporothrix schenckii* e *H. capsulatum* var *capsulatum* (ambos menores, de 2 a 8µm *versus* 5 a 12µm). Os últimos fungos também crescem em cultura, enquanto *o L. loboi* nunca foi cultivado *in vitro*.

Tratamento

A excisão cirúrgica de lesões localizadas é a melhor terapia. A doença mais disseminada, em geral, recorre quando tratada cirurgicamente e não responde à terapia antifúngica. A clofazimina tem sido utilizada nestas situações, porém até o momento o tratamento médico da lacaziose não é satisfatório.

Prototecose

A prototecose é uma infecção que afeta homens e animais causada pela alga aclorófila do gênero *Prototheca*. Estes organismos pertencem à mesma família da alga verde do gênero *Chlorella*. Duas espécies, *P. wickerhamii* e *P. zopfii*, são conhecidas por causar infecção. Três formas de prototecose humana têm sido descritas: (1) cutânea, (2) bursite do olécrano e (3) disseminada.

Morfologia

As espécies do gênero *Prototheca* são organismos unicelulares, ovais ou esféricos que se reproduzem assexuadamente por septação interna e clivagem irregular dentro dos esporângios hialinos. Cada esporângio contém entre 2 e 20 esporangiósporos organizados numa configuração em "mórula" (Fig. 75-5). Os esporangiósporos são liberados após a ruptura do esporângio e desenvolvem-se em formas endosporuladas maduras. As células medem de 3 a 30µm de diâmetro e diferem daquelas de *Chlorella* pela falta de cloroplastos. As espécies do gênero *Prototheca* diferem dos fungos pela ausência de glicosamina na parede celular. As duas espécies de *Prototheca* que causam doenças humanas diferem uma da outra em tamanho: *P. wickerhamii* mede de 3 a 15µm de diâmetro enquanto o diâmetro de *P. zopfii* mede de 7 a 30µm. Ambas as espécies são coradas prontamente pelos métodos PAS, GMS, a de Gridley para fungos (Fig. 75-5) e se coram como Gram positivas.

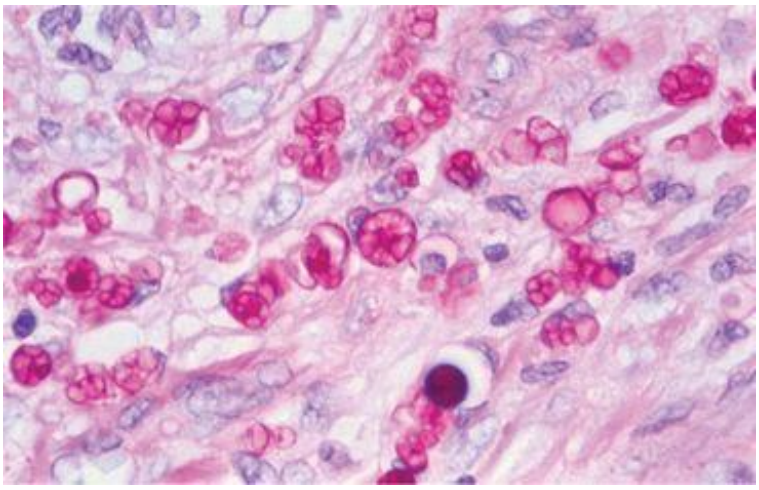


Figura 75-5 *Prototheca wickerhamii*. Algas únicas e endosporuladas que foram prontamente demonstradas com a coloração pelo método do PAS. Uma forma clássica em "morula" está presente (×1.000).

Epidemiologia

Prototheca spp. são saprofitas ambientais ubíquos que têm sido isolados da grama, do solo, da água e de animais selvagens e domésticos. A prototecose humana já foi reportada em todos os continentes, com exceção da Antártica.

Síndromes Clínicas

Pelo menos metade dos casos de prototecose é infecção cutânea simples. Na maior parte, estas infecções ocorrem em pacientes imunossuprimidos devido à terapia imunossupressora, AIDS, má nutrição, doença renal ou hepática, câncer ou distúrbios autoimunes. As lesões, em geral, surgem em áreas expostas à implantação traumática e se apresentam de modo indolor com nódulos, pápulas ou erupção eczematoide.

Aqueles indivíduos que se apresentam com bursite do olécrano não são, em geral, imunossuprimidos, porém relatam alguma forma de trauma penetrante ou não no cotovelo afetado. Os sinais e sintomas da bursite do olécrano ocorrem, geralmente, várias semanas após o trauma e incluem endurecimento brando da bursa, acompanhado por aumento da sensibilidade, eritema e produção de uma quantidade variável de líquido serossanguinolento.

A prototecose disseminada é rara, porém tem sido reportada em pessoas sem nenhuma deficiência imunológica conhecida. Um paciente com prototecose visceral apresentou dor abdominal, e os exames da função hepática anormal foram considerados, inicialmente, ser devidos à colangite. O paciente teve nódulos peritoneais múltiplos semelhantes a câncer metastático, mas foram, de fato, manifestações da prototecose. Outro paciente se apresentou com lesões prototecias na testa e no nariz.

Diagnóstico Laboratorial

Prototheca spp. crescem facilmente numa ampla variedade de meios sólidos em 30°C a 37°C. As colônias são leveduriformes, brancas e cremosas na aparência e consistência. Uma montagem úmida do material de cultura pode ser corada com lactofenol azul algodão para revelar esporângios e esporangiósporos característicos. Os organismos são bastantes ativos metabolicamente e podem ser identificados em espécies utilizando painéis de identificação de leveduras comercialmente disponíveis para determinar o perfil de assimilação de carboidratos.

No exame histopatológico do tecido infectado, *Prototheca* spp. parece como esporangiósporos em forma de cunha e organizados num padrão radial ou em "mórula" dentro do esporângio (Fig. 75-5). Os organismos são mais bem visualizados por corantes utilizados para demonstrar fungos no tecido: os corantes GMS e PAS e os procedimentos Gridley para fungo. Além das diferenças de tamanho observadas anteriormente, as duas espécies de *Prototheca* diferem por *P. wickerhamii* e tendem a formar mórulas muito simétricas que são raras em *P. zopfii*, esta última exibindo divisões internas mais aleatórias. A resposta inflamatória na prototecose é predominantemente granulomatosa.

Tratamento

O tratamento da bursite do olécrano envolve, geralmente, a bursectomia. A drenagem repetida não tem sucesso; entretanto, a drenagem associada à instilação local de anfotericina B foi curativa em um paciente. O tratamento da prototecose cutânea com uma variedade de agentes antibacterianos, antifúngicos e antiprotozoários tópicos e sistêmicos não tem alcançado sucesso. A excisão local associada à anfotericina B tópica, tetraciclina sistêmica e cetoconazol sistêmico provaram sua utilidade, apesar da hepatotoxicidade relacionada ao cetoconazol. A prototecose disseminada tem sido tratada com agentes antifúngicos sistêmicos; tanto a anfotericina B quanto o cetoconazol têm sido utilizados.

Pitiose Insidiosa (Caso Clínico 75-2)

A pitiose insidiosa é uma infecção fungiforme do homem e dos animais causada pelo Oomiceto *Pythium insidiosum*. Apesar de ter sido descrito como fungo aquático, este organismo não é um fungo verdadeiro. Pertence ao reino *Stramenopila*, filo *Oomycota*, classe *Oomycetes* e família *Pythiaceae*. No homem, a pitiose é um processo vascular cutâneo e subcutâneo marcado por lesões granulomatosas de desenvolvimento rápido, levando à insuficiência arterial progressiva, infarto tecidual, aneurismas e, ocasionalmente, óbito. Nos animais (gatos, cães, cavalos, gado), é uma infecção óssea, subcutânea ou pulmonar. Os cães e cavalos também podem se apresentar com infecção intestinal.

Caso Clínico 75-2 Pitiose

Bosco et al. (Emerg Infect Dis 11:715–718, 2005) descreveram um caso de pitiose em um homem brasileiro de 49 anos. O paciente foi admitido no hospital para tratamento de uma lesão na pele de sua perna, inicialmente diagnosticada como zigomicose cutânea. O paciente informou o desenvolvimento de uma pequena pústula na sua perna esquerda 3 meses antes; 1 semana após ele pescar em um lago com água parada. A pústula foi inicialmente diagnosticada como celulite bacteriana; foi tratada com antibióticos intravenosos, sem melhora. A biópsia da lesão mostrou uma inflamação granulomatosa supurativa com várias hifas não septadas (mostrado pela coloração GMS), um achado que levou ao diagnóstico de zigomicose. O tratamento foi modificado para anfotericina B. Após receber 575mg (dosagem acumulativa) de anfotericina B mais dois debridamentos cirúrgicos, o paciente mostrou somente uma pequena melhora; ele então foi transferido para outro hospital. Na admissão, o exame físico mostrou uma úlcera pré-tibial de 15cm de diâmetro com as bordas proximais infiltradas e nodular. Química do soro mostrou azotemia, hipocalemia e anemia como efeitos colaterais ao tratamento com anfotericina B. A contagem de células brancas era de 4.200/mm cúbico com 9% de eosinofilos. A glicose no sangue era normal e sorologia negativa para HIV. O resultado da segunda biópsia novamente sugeriu zigomicose. O paciente recebeu itraconazol e iodeto de potássio sem melhora clínica significativa. As tentativas de isolar os organismos em laboratório falharam. Com o progresso da doença, um debridamento cirúrgico extenso foi considerado. O curso da anfotericina B começou, a lesão foi debridada em sua fascia lata em profundidade. Um enxerto de pele foi colocado e produziu uma melhora aceitável. O tecido foi submetido a cultura e testes moleculares, utilizando um iniciador genérico para regiões ITS (*internal transcribed spacer*) do rDNA fúngico. As culturas cresceram sem cor com aspecto microscópico mostrando amplas ramificações, com escassas hifas septadas sem corpos de frutificação, que posteriormente foi identificado como *Pythium insidiosum*. A PCR seguido pelo sequencimento dos *amplicons* de ITS deram resultados indicando 100% de identidade com *Pythium insidiosum*. Esse caso ilustra problemas clínicos e diagnósticos que rodeiam a pitiose humana.

Morfologia

P. insidiosum cresce como colônias brancas com hifas vegetativas submersas e aéreas curtas em meio de cultura sólido. Como este organismo é um patógeno vegetal, requer culturas aquáticas contendo folhas apropriadas para produzir zoosporângios e zoósporos *in vitro*. Na natureza, ele produz zoósporos biflagelados que se unem e penetram nas folhas de várias gramas e de lírios aquáticos. Os zoósporos têm um forte tropismo à pele e ao pelo, como ao lírio aquático e às folhas de gramas. Se o contato com os zoósporos lesionar o tecido, eles encistam, formam tubos germinativos que produzem as hifas e causam doença invasiva.

No tecido, *P. insidiosum* existe como hifas hialinas, fragmentadas, de paredes finas que se ramificam esporadicamente. As hifas são de 5 a 7µm de largura com contornos não paralelos que se assemelham superficialmente àqueles dos zigomicetos (Fig. 75-6). Como os zigomicetos, *P. insidiosum* é angioinvasivo e se cora fracamente com corantes de GMS e outros corantes especiais para fungos.

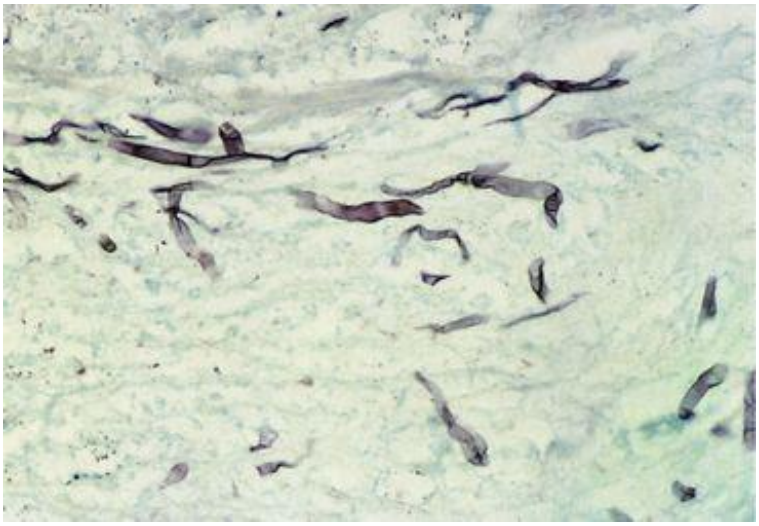


Figura 75-6 *Pythium insidiosum* invadindo uma parede arterial. Hifas esporadicamente septadas e coradas fracamente e hifas fragmentadas lembrando aqueles dos zigomicetos (GMS, ×160).

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Disease, vol.2 Stamford, Conn., Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

P. insidiosum cresce em ambientes aquáticos e úmidos nas regiões tropicais e subtropicais. Os relatos de pitiose vêm da Austrália, Costa Rica, Índia, Nova Guiné, Tailândia, Japão e Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A doença humana causada por *P. insidiosum* ocorreu em pacientes com talassemia que desenvolveram pitiose insidiosa nos membros inferiores. A doença foi marcada por isquemia progressiva dos membros inferiores, necrose, trombose das principais artérias devido à invasão fúngica, gangrena, formação de aneurisma e, eventualmente, hemorragia fatal. A pitiose orbital tem sido diagnosticada erroneamente como uma infecção fúngica zigomicótica. As formas menos sérias da infecção incluem ceratite e infecções cutâneas generalizadas acompanhando a lesão.

Nos cavalos, a pitiose se apresenta como inflamação localizada e úlceras necróticas das pernas e da parte inferior do abdome com centros necróticos. A artrite séptica, osteíte e tenossinovite também são comuns.

Diagnóstico Laboratorial

O organismo pode ser isolado de material clínico recente semeado em meio micológico como agar Sabouraud glicose. A demonstração dos zoósporos biflagelados pode ser realizada utilizando culturas aquáticas com isca de grama ou lírios incubados em 37°C por 1 hora.

O exame histopatológico do tecido infectado mostra uma artrite necrotizante e trombose. A invasão vascular é vista por hifas septadas com pouca quantidade e ramificadas irregularmente (Fig. 75-6). A reação inflamatória perivascular aguda é eventualmente substituída por granulomas que contêm hifas com pouca quantidade e hifas fragmentadas. As hifas de *P. insidiosum* podem se apresentar rodeadas por material eosinofílico associado ao fenômeno de Splendore-Hoeppli. A pitiose insidiosa em humanos deve ser diferenciada da zigomicose cutânea e subcutânea, esporotricose, micetoma e neoplasias.

Tratamento

Embora o iodeto de potássio tenha sido utilizado para tratar as infecções cutâneas, o tratamento clínico da pitiose insidiosa não é, geralmente, efetivo. O debridamento e a excisão cirúrgica do tecido infectado têm sido utilizados com algum êxito. Existe alguma evidência de que os agentes antifúngicos azólicos, como o fluconazol, o cetoconazol e o miconazol exibem atividade *in vitro* contra este organismo. O caso de pitiose orbital respondeu bem à combinação de itraconazol e terbinafina, apesar desta combinação não ter sucesso em outros casos de pitiose. Imunoterapia tem sido utilizada no tratamento da pitiose equina e tem 55% de taxa de cura na doença humana.

Rinosporidiose (Caso Clínico 75-3)

A rinosporidiose é uma doença granulomatosa de homens e animais caracterizada pelo desenvolvimento de pólipos que afetam principalmente a nasofaringe e as conjuntivas oculares das pessoas infectadas. A doença é causada por *Rhinosporidium seeberi*, um organimo com um histórico taxonômico confuso. Este organismo foi considerado um protozoário, um fungo e mais recentemente, foi classificado como parasita protista aquático, o Mesomycetozoa. Visto que *R. seeberi* não cresce em meio sintético, esta reclassificação se baseou na análise sequencial do DNA ribossômico (rDNA) da pequena subunidade 18S deste organismo. Esta análise colocou *R. seeberi* entre os Mesomycetozoa (ex-DRIP: *Dermocystidium*, agente roseta, *Ichthyophonus* e *Psorospermium*), uma chave de parasitas dos peixes que formam uma ramificação da árvore evolutiva próxima da divergência fúngica e animal.

Caso Clínico 75-3 Rinosporidiose

Gaines e Clay (South Med J 89: 65-67, 1996) descreveram três casos de rinosporidiose em jovens que não tinham viajado para fora dos Estados Unidos. De fato, não havia relato deles terem viajado para fora do Estado da Georgia. Todos os pacientes viveram em área rural na parte nordeste do país. Um tinha uma lesão polipoide conjuntival, e os outros dois pólipos nasais. Em cada caso, as lesões foram excisadas e o exame histopatológico revelou estruturas morfologicamente típicas de *Rhinosporidium seeberi.* Nenhum outro tratamento foi dado, e o seguimento não mostrou evidência de reativação. Além da natureza muito rara destes casos, a aparência distinta das formas desenvolvidas de *R. seeberi* nas seções histológica é diagnóstica

Morfologia

Dado o fato de *R. seeberi* não cresce em meio artificial, as descrições morfológicas são totalmente baseadas no organismo, conforme aparece no tecido infectado. Duas formas evolutivas de *R. seeberi* são vistas no tecido: a forma esférica grande, ou esporângios, e o trofócito menor. O esporângio é considerado a forma madura do organismo e mede de 100 a 350µm de diâmetro. A parede esporangial é de 3 a 5µm de espessura e é composta de uma camada hialina interna e uma camada eosinofílica externa fina. O esporângio contém numerosos esporangiósporos (endósporos) que são organizados numa formação regional característica, segundo a qual os esporangiósporos imaturos pequenos, planos e uninucleados (1 a 2µm) formam uma massa crescente na periferia de uma parede do esporangiósporo com a maior maturação e esporangiósporos maduros organizados sequencialmente em direção ao centro (Fig. 75-7). Os esporangiósporos maduros variam em tamanho de 5 a 10µm de diâmetro e contêm múltiplos glóbulos citoplasmáticos refratários. Esta organização regional dos esporangiósporos imaturos, maduros e completamente maduros é o diagnóstico deste patógeno e o distingue de outros organismos endosporulados esféricos no tecido (Tab. 75-2).

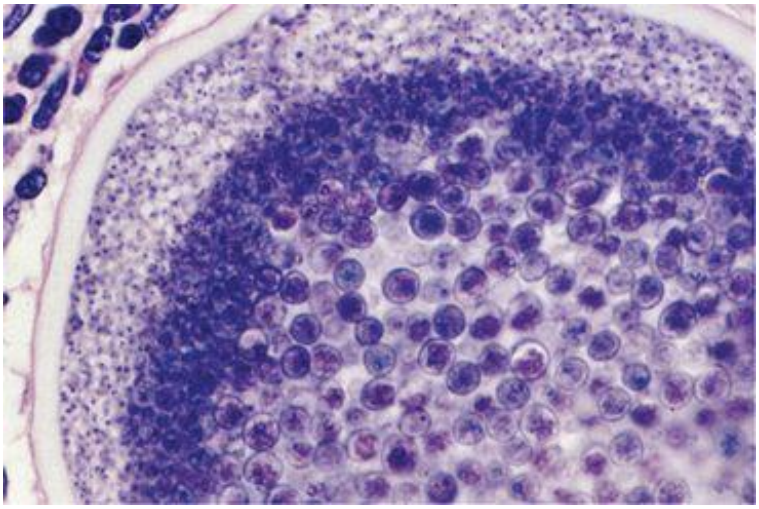


Figura 75-7 Esporângio maduro de *Rhinosporidium seeberi* mostrando a organização regional dos esporangiósporos imaturos, maduros e totalmente maduros (H&E, ×480).

(De Chandler FW, Watts JC: Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago, ASCP, 1987.)

Considera-se que os trofócitos evoluam diretamente dos esporangiósporos que foram liberados do esporângio. Os trofócitos variam em tamanho de 10 a 100µm de diâmetro e têm paredes eosinofílicas refratárias (2 a 3µm de espessura), citoplasma granular e um núcleo arredondado claro com um nucléolo proeminente. No final, os trofócitos aumentam e se transformam em esporângios maduros através de um processo de endosporulação.

As paredes dos esporângios e esporangiósporos se coram com corantes fúngicos de GMS e pelo método de PAS. Além disso, as paredes dos esporangiósporos e a parede interna do esporângio se coram positivamente com o corante mucina, mucicarmim (Fig. 75-8 e Tab. 75-2).

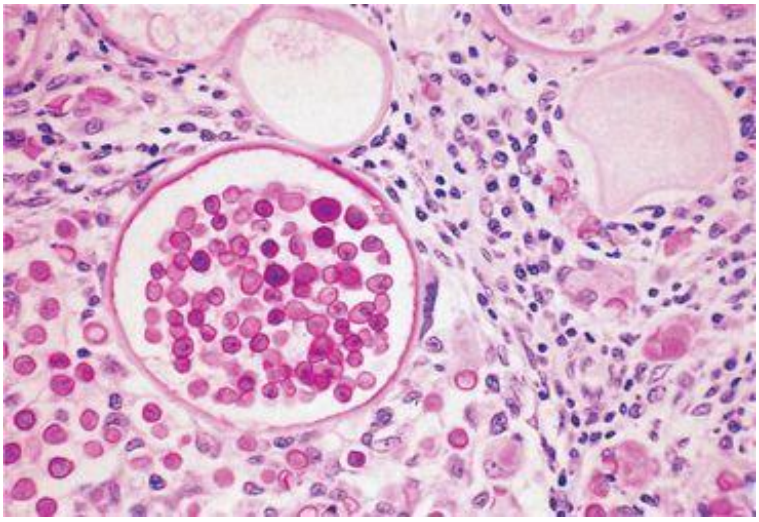


Figura 75-8 Esporangio maduro de *R. seeberi*. As paredes dos esporangiósporos maduros são carminofílicas. (Mucicarmim de Mayer, 100×).

(De Connor DH et al: Pathology of Infectious Disease, vol.2 Stamford, Conn., Appleton & Lange, 1997)

Epidemiologia

Aproximadamente 90% de todos os casos conhecidos de rinosporidiose ocorrem na Índia e no Sri Lanka. A doença ocorre também nas Américas, Europa e na África. O hábitat e a extensão da distribuição de *R. seeberi* na natureza são desconhecidos. A doença ocorre principalmente em homens jovens entre 20 a 40 anos de idade e parece estar associada a ambientes rurais e aquáticos. Não há evidência de que a rinosporidiose seja contagiosa.

Síndromes Clínicas

A rinosporidiose se manifesta como massas polipooides ou semelhantes a tumores de crescimento lento, geralmente da mucosa nasal ou das conjuntivas. As lesões também podem ser vistas nos seios paranasais, na laringe e nos genitais externos. Parece que a disseminação secundária à pele circunjacente resulta da autoinoculação pelo prurido. Na maioria dos pacientes, a doença permanece localizada e os sintomas são, principalmente, obstrução e sangramento nasal como resultado da formação do pólipo. A disseminação sistêmica limitada já foi reportada, porém é rara.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da rinosporidiose é feito pelo exame histopatológico do tecido afetado. A aparência característica dos trofócitos e esporângios nas secções coradas por H&E de rotina é diagnóstica (Fig. 75-7). Ainda que outros organismos que ocorrem no tecido na forma de esférulas grandes possam ser confundidos com *R. seeberi*, eles são, em geral, facilmente diferenciados deste organismo pela consideração do tecido envolvido e as características morfológicas e de coloração da esférula e dos endósporos (Tab. 75-2).

Tratamento

A única forma efetiva de tratamento é a excisão cirúrgica das lesões. As recorrências são comuns, especialmente nos locais de mucosas, como a orofaringe e os seios paranasais, onde a excisão completa é, muitas vezes, difícil de se conseguir.

Estudo de Caso e Questões

Jim é um ex-fumante de 50 anos de idade que foi ao médico de família para um exame físico anual. No processo, foi realizada uma radiografia de tórax, revelando um nódulo no lobo superior esquerdo do pulmão. Devido a sua idade e história prévia de tabagismo, Jim foi submetido a uma toracotomia e o nódulo foi excisado. O exame patológico revelou fibrose e várias estruturas esféricas grandes, porém nenhuma evidência de câncer.

1. Qual é o diagnóstico diferencial de um nódulo pulmonar isolado?

1. O diagnóstico diferencial de nódulo pulmonar solitário inclui câncer, infecções por micobactérias, dirofilariose (verme do coração do cão) e fungos (aspergilose, coccidioidomicose, histoplasmose, adiaspiromicose).

2. Descreva como podem ser diferenciadas as esférulas de *Rhinosporidium seeberi* daquelas de *Coccidioides immitis* e *Emmonsia* spp.

2. Estes três agentes podem ser diferenciados pelo diâmetro da esférula, espessura das paredes, presença e tamanho de endósporos, a reação do hospedeiro e coloração com mucicarmim (Tabela 76.2).

3. Descreva o processo patológico da adiaspiromicose.

3. Os conídios de *Emmonsia crescens* são inalados para os pulmões, onde se transformam em estruturas esféricas. A célula sofre ampliação maciça, mas não mostra evidência de replicação. A resposta do hospedeiro ao agente é fibrogranaluomatosa na natureza e no granuloma a expansão pode causar sintomas devido à compressão e deslocamento distal das vias aéreas e parênquima alveolar. A severidade da doença parece ser inteiramente um resultado do número de conídios inalados.

4. Quais dos seguintes agentes podem ser identificados utilizando sistemas de identificação de leveduras comercialmente disponíveis?

a. *Lacazia loboi*

b. *Pythium insidiosum*

c. *Rhinosporidium seeberi*

d. *Prototheca wickerhamii*

4. Apenas *Prototheca wickerhamii* podem ser identificados por sistemas de identificação de

leveduras disponíveis comercialmente. Nem *L. loboi* nem *R. seeberi* podem ser cultivados em cultura e *P. insidiosum* devem ser identificados pela demonstração de zoosporos biflagelados.

5. Como são diferentes um do outro os agentes da clorelose e da prototecose? Eles são similares?

5. Ambos os agentes da chlorellosis e prototecose são algas. A principal diferença é que a *Chlorella* contém cloroplastos, que são verdes e pigmentados, considerando *Prototheca*, que não contêm cloroplastos e são incolores.

Bibliografia

Burns RA, et al. Report of the first human case of lobomycosis in the United States. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1283-1285.

Chandler FW, Watts JC. Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago: ASCP, 1987.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases, vol 2. Stamford: Conn, Appleton & Lange, 1997.

Fredericks DN, et al. Rhinosporidium seeberi: A human pathogen from a novel group of aquatic protistan parasites. *Emerg Infect Dis*. 2000;6:273-282.

Herr RA, et al. Phylogenetic analysis of Rhinosporidium seeberi's 18S small-subunit ribosomal DNA groups this pathogen among members of the protoctistan Mesomycetozoa clade. *J Clin Microbiol*. 1999;37:2750-2754.

Krajaejun T, et al. Clinical and epidemiological analysis of human pythiosis in Thailand. *Clin Infect Dis*. 2006;43:569.

Mendoza L, et al. Orbital pythiosis: A nonfungal disease mimicking orbital mycotic infections, with a retrospective review of the literature. *Mycoses*. 2004;47:14.

Mendoza L, et al. Lacazia, Pythium, and Rhinosporidium. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Taborda PR, et al. Lacazia loboi gen. nov., comb. nov., the etiologic agent of lobomycosis. *J Clin Microbiol*. 1999;37:2031-2033.

76 Micotoxinas e Micotoxicoses

Além de seu papel como patógenos oportunistas, os fungos filamentosos podem produzir toxinas que têm sido implicadas numa variedade de doenças e síndromes clínicas em humanos e em animais. Estas micotoxinas são metabólitos fúngicos secundários que causam doenças coletivamente conhecidas como *micotoxicoses*, após ingestão, inalação ou contato direto com a toxina (Fig. 76-1). As micotoxicoses podem se manifestar como doença aguda ou crônica variando desde desenvolvimento de tumor ou evoluindo rapidamente ao óbito. A esse respeito, as micotoxicoses são análogas às patologias causadas por outros "venenos" como os pesticidas ou resíduos de metais pesados. Os sintomas apresentados e a gravidade de uma micotoxicose dependem do tipo da micotoxina; da quantidade e duração da exposição; da via de exposição; da idade, sexo e saúde do indivíduo exposto. Além disso, uma variedade de outras circunstâncias, como má nutrição, abuso de álcool, condição de doença infecciosa, e outras exposições a toxinas, podendo haver sinergismo para exacerbar o efeito e a gravidade do envenenamento pela micotoxina.

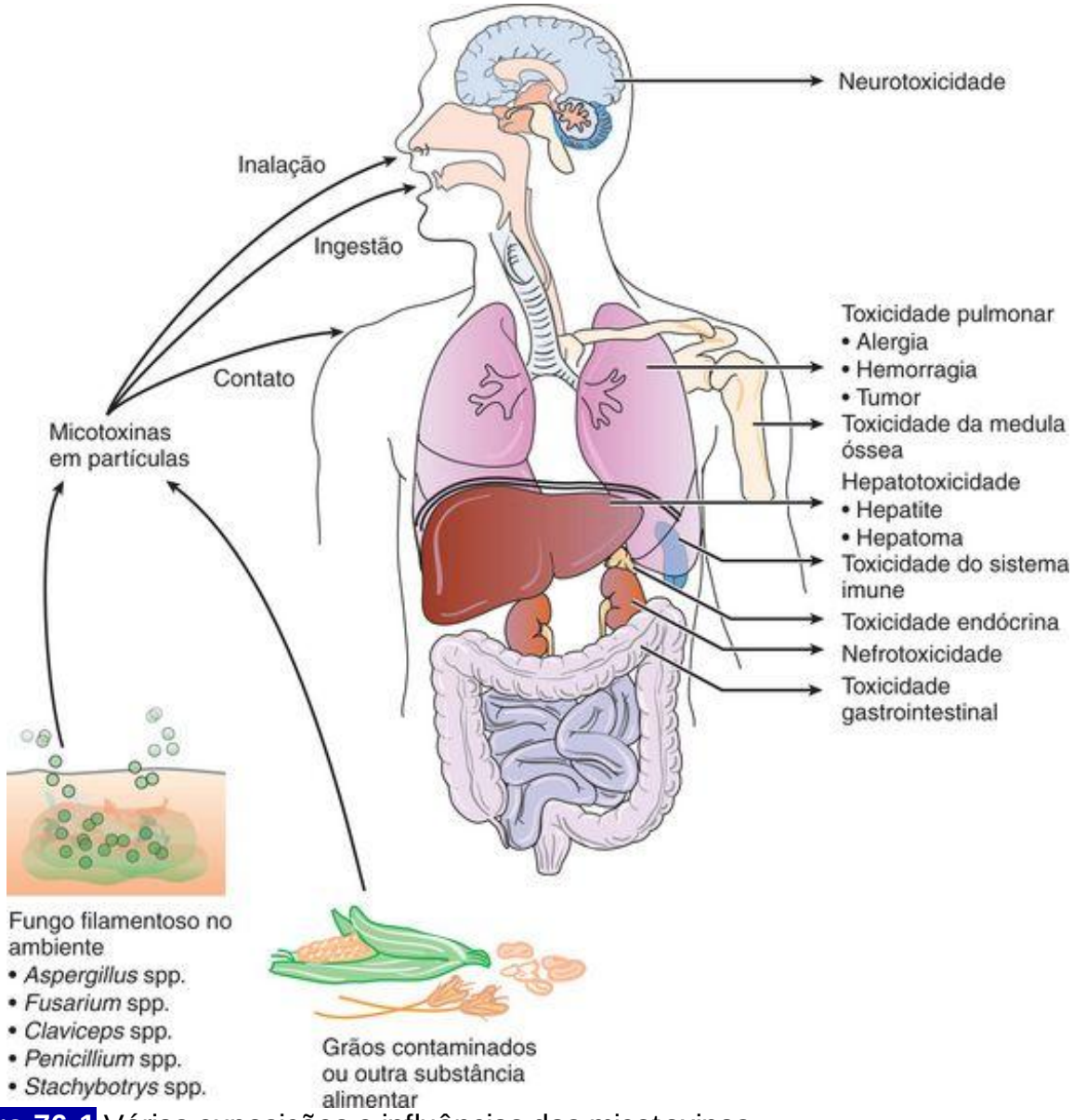


Figura 76-1 Várias exposições e influências das micotoxinas.

(Adaptado de Richard JL: Mycotoxins and human disease. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA [eds]: Clinical Mycology. New York, Churchill Livingstone, 2003.)

Há mais de 100 fungos toxigênicos e mais de 300 compostos atualmente reconhecidos como micotoxinas. O número de pessoas afetadas por micotoxicoses, contudo, é desconhecido. A maioria das micotoxicoses resulta da ingestão de alimentos contaminados. A ocorrência de micotoxinas em alimentos é mais comumente devido à contaminação do material, na pré-colheita, por fungos toxigênicos que são patógenos de plantas. Além disso, os grãos armazenados podem ser danificados por insetos ou umidade, proporcionando uma porta de entrada aos fungos toxigênicos presentes no ambiente de armazenamento. As micotoxicoses são mais comuns em países subdesenvolvidos, em que os métodos de manuseio e estocagem dos alimentos são inadequados, a má nutrição é prevalente onde existem poucos regulamentos para proteger as populações expostas.

Algumas micotoxinas são dermonecróticas, e o contato cutâneo ou de mucosa com os substratos infectados por fungos filamentosos podem resultar em doença. Desta maneira, a inalação de toxinas transportadas por esporos também constitui uma forma importante de exposição. Além da terapia de suporte, não há quase nenhum tratamento para a exposição à micotoxina. Felizmente, as micotoxicoses não são transmissíveis de pessoa a pessoa.

Entre os patógenos fúngicos de plantas, a elaboração de micotoxinas desempenha um papel na causa ou na exacerbação da doença na planta. Apesar do fato de as micotoxinas poderem ser venenosas aos humanos e de algumas terem propriedades imunossupressoras potentes, há pouca evidência de que as micotoxinas aumentem a habilidade dos fungos em crescer e causar doença em hospedeiros vertebrados. Esses fungos, como *Aspergillus fumigatus*, que são patógenos oportunistas importantes e capazes de produzir gliotoxinas (inibidoras da ativação e proliferação das células T), geralmente não produzem a toxina em quantidades significativas durante o curso da doença humana, para ter um efeito no processo patológico. Enquanto um fungo oportunista pode ser capaz de crescer na temperatura corpórea humana (37°C) para causar doença, a temperatura ótima para a biossíntese da maioria das micotoxinas é bastante inferior (20°C a 30°C). Acontece que a importância da exposição à micotoxina, no decurso de uma infecção micótica com um fungo toxigênico, é totalmente desconhecida.

No restante deste capítulo, discutiremos aquelas micotoxinas que têm sido implicadas com doenças humana, como os metabólitos que são produzidos por fungos filamentosos, podendo estar associados a alimentos humanos ou a ambientes do cotidiano/trabalho. Embora o envenenamento por cogumelo seja uma forma de micotoxicose, não será discutido neste capítulo. Uma lista de micotoxicoses, em que há evidência considerável de envolvimento de uma micotoxina específica, é fornecida na Tabela 76-1.

Tabela 76-1 Doenças Relacionadas às Micotoxinas que Supostamente Afetam os Humanos, Baseadas em Dados Analíticos e Epidemiológicos

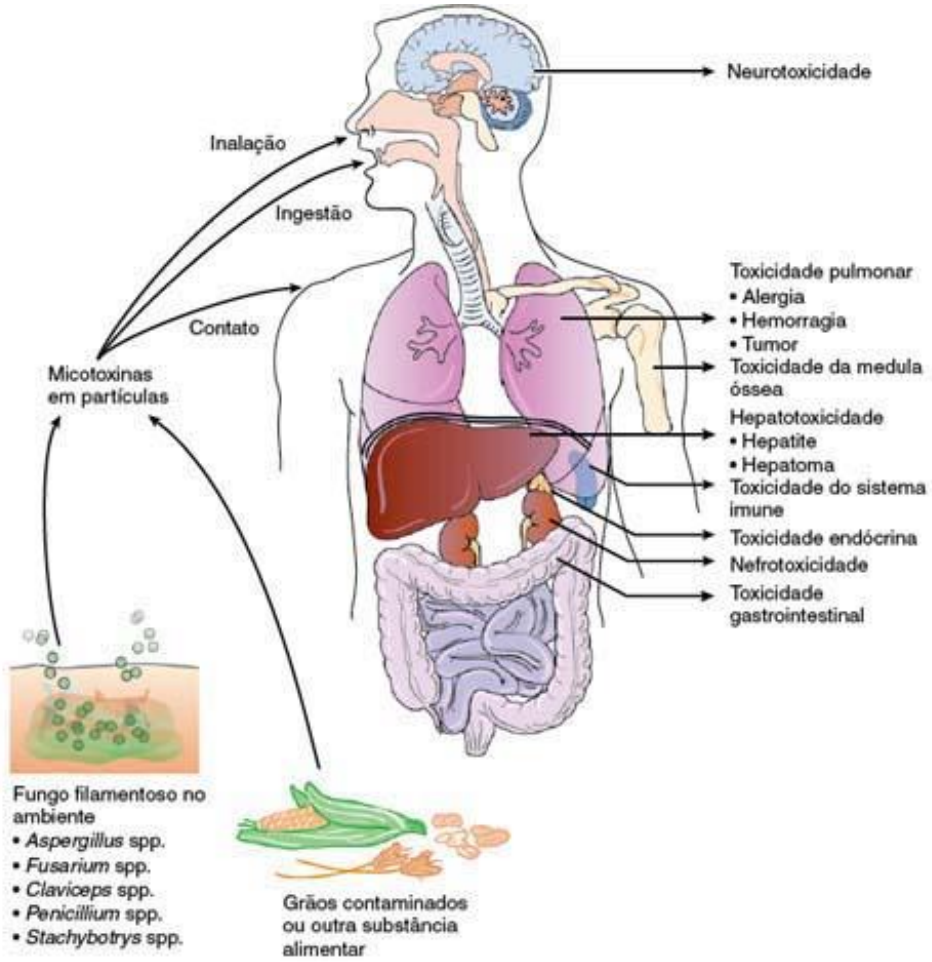


Figura 76-1. Várias exposições e influências das micotoxinas. *(Adaptado de Richard JL: Mycotoxins and human disease. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA [eds]: Clinical Mycology. New York, Churchill Livingstone, 2003.)*

Aflatoxinas (Caso Clínico 76-1)

As aflatoxinas são produzidas principalmente por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, mas muitas outras espécies de *Aspergillus* também produzem aflatoxinas. *A. flavus* é a espécie produtora de aflatoxina mais comum encontrada na agricultura e pode produzir até 10^6mg/kg. Os produtos mais frequentemente afetados nos Estados Unidos são milho, semente de algodão, amendoim e certas nozes. A aflatoxina B_1 é o mais potente carcinógeno natural conhecido e é a principal aflatoxina produzida por cepas toxigênicas; contudo, existe mais de uma dúzia de outras aflatoxinas que têm sido descritas.

Caso Clínico 76-1 Aflatoxicose Aguda

Nyikal e colaboradores (Morb Mortal Wkly Rep 53:790-793, 2004) descreveram um surto de envenenamento por aflatoxina no Quênia. Nos meses de janeiro a junho de 2004, o Ministério da Saúde do Quênia (MOH) e colaboradores identificaram 317 casos de insuficiência hepática aguda, na região oriental do Quênia; 125 casos eram de pessoas que morreram durante a doença. Sete pacientes tiveram amostras de soro analisadas pelo Instituto de Pesquisas Médicas do Quênia, e todas foram negativas para os vírus conhecidos mais comuns como causas de doenças hepáticas no Quênia. Em função de surtos de aflatoxicose que ocorreram previamente naquela região geográfica, o MOH suspeitou que o elevado número, incomum, de pacientes com insuficiência hepática aguda pudesse ter adquirido aflatoxicose por se alimentar com milho contaminado. Funcionários de Saúde Pública coletaram amostras de milho da área afetada e detectaram concentrações de aflatoxina B_1 tão elevadas quanto 4.400 ppb (partes por bilhão), que é 220 vezes maior que o limite de 20 ppb, sugerido pelas autoridades do Quênia, para alimentos. Um estudo de caso-controle verificou que as sementes de milho cultivado nas casas (insuficiência hepática aguda) tiveram concentrações mais elevadas de aflatoxinas do que as sementes das casas do controle. As concentrações de aflatoxina no milho, soro e os títulos positivos de antígeno de superfície de Hepatite B foram todos associados independentemente do caso. Embora surtos de aflatoxicose tenham ocorrido periodicamente na África e Ásia, este surto resultou em um grande número de fatalidades documentadas. Para prevenir surtos de aflatoxina futuros, é necessário explorar intervenções da saúde pública que promovam efetivo controle de produção, estocagem, e processamento de cultivos familiares e comerciais do milho.

A aflatoxina está associada à toxidade e à carcinogenicidade em populações humanas e animais. A aflatoxicose aguda resulta em morte, enquanto que a aflatoxicose crônica resulta em alterações patológicas mais prolongadas, incluindo câncer e imunossupressão. O fígado é o principal órgão-alvo, e o dano hepático tem sido documentado em roedores, aves domésticas, e primatas, após ingestão da aflatoxina B_1. A aflatoxicose aguda tem-se manifestado em humanos, como uma hepatite aguda. Na Índia em 1974, ocorreu um surto de hepatite no qual 100 pessoas morreram após o consumo de milho altamente contaminado com aflatoxina. A aflatoxina B_1 foi detectada em alta concentração nos fígados das pessoas que morreram.

Há hipóteses de que a kwashiorkor (pelagra infantil), uma doença grave da má nutrição e a síndrome de Reye, marcada por encefalopatia e degeneração gordurosa de víscera, representa formas de aflatoxicose pediátrica. Embora as aflatoxinas sejam encontradas nos fígados de crianças com kwashiorkor e de pacientes com síndrome de Reye, uma forte relação de causa e efeito entre a exposição à aflatoxina e estes estados patológicos não foi estabelecida.

A exposição crônica de baixo nível às aflatoxinas na dieta é considerada um fator de risco ao desenvolvimento de carcinoma hepatocelular. Tal exposição mostrou produzir, experimentalmente, câncer em muitas espécies animais. O carcinoma hepatocelular é uma das principais causas de mortalidade por câncer na Ásia e África, e várias investigações epidemiológicas têm mostrado que a ingestão aumentada de aflatoxina se correlaciona com

risco aumentado.

O modo principal de exposição humana às aflatoxinas é o consumo de alimentos contaminados, como amendoins e grãos de cereais. As aflatoxinas podem ser aerossolizadas e têm sido detectadas no ar próximo a fontes agrícolas, como em poeira. A aflatoxina é um carcinógeno em animais de experimentação; contudo, a evidência de que a exposição à aflatoxina pelo ar conduz ao câncer em humanos é geralmente fraca.

O mecanismo da carcinogênese induzida pela aflatoxina parece envolver a promoção ou progressão do tumor. Há evidências de que a aflatoxina está envolvida na ativação da proto-oncogênese (C-*myc*, C-Ha-*ras*, Ki-*ras* e N-*ras*) e também pode causar mutações no gene supressor do tumor *p53*. A exposição à aflatoxina e as mutações do *p53* têm sido firmemente ligadas há estudos epidemiológicos na África e na China. Especificamente, a aflatoxina tem sido ligada à mutação do *p53*, segundo a qual ocorre uma transversão G para T no códon 249. Esta mutação é tida como o primeiro exemplo de um biomarcador carcinógeno-específico que permanece fixado no tecido humano. Este biomarcador é utilizado em estudos epidemiológicos para estabelecer a ligação entre as aflatoxinas e o câncer hepático e também para mostrar que cofatores, como infecção com o vírus da hepatite B aumentam substancialmente o risco de câncer hepatocelular.

A exposição significativa à aflatoxina é incomum entre aqueles que vivem em países desenvolvidos, onde quantidades suficientes de alimentos estão disponíveis e existe regulamentação para monitorar o nível de aflatoxina nos mesmos. Notavelmente, os índices de câncer hepático são 2 a 10 vezes maiores nos países em desenvolvimento do que nos países desenvolvidos. Nos países onde as ofertas de alimentos são limitadas e as pessoas estão passando fome, ou onde os regulamentos são inexistentes ou não impostos, pode ocorrer ingestão rotineira de aflatoxina.

Citrinina

A citrinina é produzida por várias espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* incluindo cepas utilizadas para produzir queijos (*Penicillium camemberti*) e saquês (*Aspergillus oryzae*). A citrinina atua como uma nefrotoxina potente em todas as espécies animais testadas associada à doença do arroz amarelo no Japão (Tab. 76-1). A citrinina pode atuar sinergisticamente com outra nefrotoxina, a ocratoxina A. A citrinina está associada regularmente com alimentos humanos, como trigo, aveia, centeio, milho, cevada e arroz; contudo, sua significância como causa de doença humana é desconhecida.

Alcaloide do Esporão do Centeio

Os alcaloides do esporão do centeio constituem uma família de compostos derivados de um sistema de anéis de ergolina tetracíclico. O ácido lisérgico é uma estrutura comum a todos os alcaloides do esporão do centeio, e o alucinógeno dietilamina do ácido lisérgico (LSD) foi descoberto como resultado de pesquisa com estes compostos.

As misturas destes alcaloides são produzidas dentro dos esclerócios, ou “esporões do centeio”, de um patógeno comum de gramas, do gênero *Claviceps*. Os esporões do centeio são massas endurecidas de hifas fúngicas (esclerócio) formadas quando o fungo invade as pequenas flores e substitui o grão do trigo, cevada ou centeio. Os esporões do centeio são ingeridos quando o grão contaminado é utilizado para fazer pães ou em cereais. As duas formas de ergotismo, convulsiva e gangrenosa, parecem ser devidas a diferentes modos de ação dos vários alcaloides produzidos pelas diferentes espécies de *Claviceps*. A forma gangrenosa, marcada pela vasoconstrição periférica e necrose das extremidades distais, é associada principalmente com a ingestão de trigo e centeio contaminados com *Claviceps purpurea* contendo alcaloides do grupo das ergotaminas. Além do infarto e necrose tecidual, a forma gangrenosa do ergotismo está associada com edema, prurido, e sensibilidade variando desde formigamento até dor muscular grave.

O ergostismo convulsivo tem sido associado com a ingestão de painço contaminado por *C. fusiformis*. O ergotismo neurológico ou convulsivo é marcado por espasmos musculares, convulsões e alucinações. O esporão do centeio do painço implicado no surto do ergotismo convulsivo na Índia em 1974 continha alcaloides do grupo clavine.

Aparentemente, as diferentes espécies de *Claviceps* produzem alcaloides diferentes, embora seja provável que o substrato também desempenhe um papel na composição dos metabólitos secundários. Ainda que os métodos modernos de limpeza dos grãos tenham eliminado o ergotismo como uma doença humana, ele ainda é um problema veterinário importante. Ruminantes, suínos, ovinos e aves são os animais com alto risco. Os sintomas clínicos do ergotismo entre estes animais incluem gangrena, aborto, convulsões e ataxia.

Fumonisinas

As fumonisinas são produzidas por um número de espécies de *Fusarium*. A principal espécie de importância econômica é *Fusarium moniliforme* (*F. verticilloides)*, um patógeno do milho. As fumonisinas, especialmente a fumonisina B_1, interferem no metabolismo esfingolipídio causando leucoencefalomalacia (doença cerebral necrotizante grave) em equinos, edema pulmonar e hidrotórax em suínos; e efeitos hepatotóxicos e carcinogênicos no fígado de ratos. A fumonisina B_1 tem sido associada a uma incidência maior de câncer esofágico em pessoas que vivem na África do Sul, China e Itália. Ela pode ser isolada em altas concentrações no fubá e em grãos de milho. Embora esta evidência seja intrigante, múltiplos fatores, incluindo outras micotoxinas, fumonisina B_1 têm sido implicados na etiologia do câncer esofágico humano.

A intoxicação aguda com fumonisina B_1 tem sido observada na Índia, onde o consumo de pão sem fermento feito de milho mofado causou dor abdominal transitória e diarreia. A fumonisina mostrou causar também defeitos no tubo neural em animais de experimentação e pode ter um papel nos casos humanos. As fumonisinas têm sido classificadas como carcinógenos do grupo 2B (provavelmente carcinogênico) pela Agência Internacional para Pesquisa em Câncer.

Ocratoxina

A ocratoxina pertence ao grupo de metabólitos secundários produzidos por espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, encontrados em cereais, café, pão e alimentos de origem animal (p. ex., porco). A ocratoxina A (OA) é a substância química mais comum e mais tóxica em sua classe. A OA é nefrotóxica, teratogênica e carcinogênica em todos os animais testados. Tem sido a causa da nefropatia de porcos, bem como em tumores do trato urinário, e pode causar respostas colinérgicas como broncoespasmo, vasodilatação e contração da musculatura lisa.

A ocratoxina tem sido ligada a uma doença conhecida como **Nefropatia Endêmica dos Bálcãs (NEB)**, que é uma nefrite progressiva crônica observada em populações de áreas à margem do rio Danúbio em partes da Romênia, Bulgária e antiga Iugoslávia. Indivíduos com NEB também sofrem alta frequência de tumores renais. A contaminação de alimentos pela ocratoxina e a sua presença no soro de humanos se mostraram mais comuns em famílias com NEB e naquelas com tumores do trato urinário do que em famílias não infectadas. Apesar desta evidência, outros fatores, como genéticos, metais pesados e possíveis agentes infecciosos ocultos, podem também contribuir para esta doença. É muito evidente que a causa da NEB leve em direção à ocratoxina, não é conclusiva. Independentemente, sua nefrotoxicidade aguda, sua ação imunossupressora e seus efeitos teratogênicos em animais, juntamente com sua propensão de ser transmitida através da cadeia alimentar merecem interesse em uma investigação adicional.

Tricotecenos (Caso Clínico 76-2)

Os tricotecenos são todos metabólitos tricíclicos sequiterpinoides produzidos por um número de fungos, incluindo *Fusarium, Myrothecium, Stachybotrys, Trichoderma* e *Cephalosporium* spp. (Tab. 76-1). Há mais de 148 tricotecenos naturais, e pelo menos 40 são micotoxinas. Os tricotecenos atuam por inibição de vários aspectos da síntese proteica nas células eucarióticas. As mais potentes destas micotoxinas são a toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), desoxinivalenol (vomitoxina) e fusarenona-X. Estas micotoxinas são comumente encontradas como contaminantes de alimentos e rações, e seu consumo pode resultar em hemorragia gastrointestinal e vômitos; o contato direto causa dermatite.

Caso Clínico 76-2 *Stachybotrys* e Hemorragia Pulmonar Idiopática Aguda

Colin e colaboradores (Morb Mortal Wkly Rep 53:817-820, 2004) descreveram um estudo da hemorragia pulmonar idiopática aguda (HPIA) em lactentes em Massachusetts. Entre 1993 e 1996, uma pesquisa de casos de HPIA entre lactentes em Cleveland, Ohio, sugeriu uma associação entre HPIA e sexo masculino, exposição a fungos filamentosos (notadamente *Stachybotrys chartarum*), exposição à fumaça de tabaco, e falta de aleitamento materno. Entretanto, as revisões dessa pesquisa pelo CDC identificaram falhas na metodologia e determinaram que nenhuma associação entre HPIA e exposição aos fungos filamentosos tinha sido estabelecida. Recomendou-se que o CDC colaborasse com o estado e os oficiais locais de saúde pública para investigar os casos futuros de HPIA, particularmente quando os grupos são identificados. Entre dezembro de 2002 e junho de 2003, quatro casos de HPIA entre lactentes foram relatados em Boston, Massachusetts. Em um período de 4 meses, três desses lactentes eram pacientes no mesmo hospital que tipicamente tem um caso de HPIA entre lactentes por ano. O CDC, em colaboração com o Departamento de Saúde Pública de Massachusetts, investigou este grupo e determinou que dois dos lactentes tiveram a doença de Von Willebrand (vWD), uma doença hemorrágica herdada, e um teve resultados limítrofes no teste para vWD. Os achados sugerem que os lactentes com HPIA tinham uma base adquirida ou suscetibilidade genética que os predispuseram à hemorragia pulmonar.

Todos os lactentes neste grupo também foram expostos a certos fatores ambientais que podem ter afetado seus pulmões, incluindo fumaça de tabaco, material particulado (p. ex., poeira de construção), e fungos filamentosos. *Cladosporium* e *Penicillium*. Os fungos filamentosos mais comumente identificados em suas casas tipicamente são os gêneros mais abundantes no ar interior. O total de esporos fúngicos, contados em duas das residências, estava em concentrações que têm sido associadas com risco aumentado para doenças do trato respiratório inferior, e todos os lactentes foram tratados presuntivamente para infecções respiratórias antes dos episódios hemorrágicos. Somente sete esporos de *S.chartarum* foram detectados em uma das residências e um único esporo foi achado em outra. Embora significativo o total de esporos contados não seja conhecido, os efeitos tóxicos e outras doenças não mediadas por IgE que têm sido hipotetizadas ocorrerem com a exposição a *S.chartarum*, parece improvável terem contribuído a estes casos de HPIA.

A chamada **intoxicação por grãos mofados**, de humanos e animais é bem documentada no Japão. Tais intoxicações têm sido atribuídas a micotoxinas de *Fusarium*. Acredita-se que a toxicose *Akakabi-byo*, ou doença do fungo filamentoso vermelho, seja causada pela ingestão de grãos contaminados com *Fusarium graminearum* (Tab. 76-1).

A toxina T-2, DAS e o desoxinivalenol são os tricotecenos de *Fusarium* mais amplamente estudados. Os sintomas produzidos por estes agentes incluem efeitos em quase todo o sistema dos organismos vertebrados. A toxina T-2 e a DAS parecem as mais potentes e ambas exibem atividade citotóxica e imunossupressora. Elas causam uma ampla variedade de sintomas gastrointestinais, dermatológicos e neurológicos e também diminuem a resistência do hospedeiro à infecção por vários microrganismos. O desoxinivalenol é um contaminante comum de grãos utilizados em rações animais. Quando ingerido em doses altas, causa vômitos e diarreia; em doses baixas, os animais de fazendas exibem perda de peso e recusam

alimento.

Tanto a toxina T-2 como a DAS têm sido implicadas em uma doença humana conhecida como **aleucia tóxica alimentar (ATA)**. O surto mais importante de ATA ocorreu na Rússia durante a Segunda Guerra Mundial. Milhares de pessoas adoeceram após comerem grãos armazenados durante o inverno, contaminados com *Fusarium sporotrichioides* e *F. poae*. A doença foi caracterizada inicialmente por vários estágios, com ulceração inicial da mucosa oral e gastroenterite seguida por pancitopenia, sangramento do nariz, boca e vagina, hipotensão e vertigem. O alto índice de mortalidade aguda foi aumentado pelas infecções bacterianas oportunistas durante os estágios neutropênicos finais da doença. Apesar das duas espécies d e *Fusarium* que foram isoladas dos grãos mofados mostrarem subsequentemente a capacidade de produzir a toxina T-2 e outros tricotecenos, nenhuma tentativa foi feita para documentar a presença destas micotoxinas no grão ou na população afetada. Quase todos os sinais da ATA têm sido documentados em animais que tomaram a toxina T-2; contudo, a associação entre a toxina e a doença humana permanece meramente especulativa.

A estachibotriotoxicose é uma doença bem descrita entre cavalos e gado que consomem palha e feno embolorados contaminados com *Stachybotrys*. A estachibotriotoxicose equina é caracterizada por sinais neurológicos agudos como tremores, falta de coordenação e perda da visão, além de manifestações crônicas, como dermatonecrose, leucopenia e sangramento gastrointestinal. Humanos manuseando feno com crescimento de fungos exibiram dermatite de contato, como inflamação da mucosa, febre, dor torácica e leucopenia secundária à inalação da poeira do feno. Tricotecenos macrocíclicos foram isolados do feno contaminado.

Dados estes achados, e como *Stachybotrys* cresce bem em materiais de construção úmidos como telhas, placas de fibra de madeira, e poeira de dutos de ar condicionado, as toxinas deste fungo se tornaram suspeitas de doenças em humanos que vivem ou trabalham em edifícios contaminados com *Stachybotrys*. As queixas de irritação pulmonar, dores de cabeça, fadiga, mal-estar e diarreia têm sido registradas por residentes e trabalhadores em edifícios contaminados com *S. chartarum. Stachybotrys* também tem sido associado com a hemorragia pulmonar idiopática dos lactentes; contudo, uma relação de causa e efeito não foi provada. A avaliação crítica da literatura disponível não encontrou evidência sustentável às sérias doenças humanas causadas pela exposição de *Stachybotrys* no ambiente humano contemporâneo.

Outras Micotoxinas e Micotoxicoses Supostas

Devido à ampla variedade de fungos filamentosos ambientais que se mostraram capazes de produzir micotoxinas, não é de se surpreender que exista uma vasta literatura que descreva o potencial papel destes agentes em doenças humanas e animais. Infelizmente, muito desta literatura é bastante falha, e a revisão crítica quase sempre encontra falta de evidência rigorosa de relação de causa e efeito entre as micotoxinas e doença humana.

O ácido ciclopiazônico é um ácido indol tetrâmico que é um inibidor específico da ATPase dependente do cálcio e induz a alterações no transporte de íons através das membranas celulares. É produzido por muitas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*, inclusive *A. flavus*. O consumo de painço altamente contaminado com fungos filamentosos e contendo altos níveis de ácido ciclopiazônico produziu uma condição conhecida como **envenenamento Kodua**, caracterizado por vertigem e náusea. (Tab. 76-1).

O beribéri cardíaco, uma condição descoberta no Japão e em outros países asiáticos no início do século XX tem sido associado a toxinas do arroz amarelo, citreoviridina, citrinina e compostos relacionados. Esta doença é caracterizada por palpitações, náusea, vômitos, desconforto respiratório, hipotensão e alterações de comportamento, levando à insuficiência respiratória e morte. Os sintomas neurológicos e a insuficiência respiratória têm sido reproduzidos em animais que tomaram citroviridina.

Supõe-se que várias doenças raras e obscuras sejam micotoxicoses, muitas vezes, com evidência objetiva mínima. Estas incluem a doença de Kashin-Beck na Rússia, a doença de Onyalai na África, e a doença da cana de açúcar embolorada na China (Tab. 76-1).

É difícil provar que uma doença seja uma micotoxicose. Mesmo fungos filamentosos toxigênicos conhecidos podem estar presentes no alimento ou no ambiente e não produzirem toxinas. O simples isolamento do fungo filamentoso de culturas de um determinado substrato não é o mesmo que a detecção de uma toxina específica. Provavelmente, mesmo quando as micotoxinas são detectadas, é difícil provar conclusivamente que são a causa de estados patológicos agudos e crônicos específicos. Independentemente, existem outros interesses com respeito à relação entre as micotoxinas e a doença humana. Os exemplos de certas associações doença-fungo são razoavelmente bem documentados na literatura, incluindo a ATA – *Fusarium*, a doença hepática *Aspergillus* e o ergotismo – *Claviceps* spp. Além destes exemplos, a evidência é tênue. É provável que as micotoxinas se afirmem como um perigo importante à saúde de humanos e animais, mas a extensão pode ser determinada por estudos clínicos e laboratoriais rigorosamente delineados.

Questões

1. Quais das seguintes micotoxinas é o carcinógeno natural mais potente?

a. Ochratoxina A

b. Fumonisina

c. Ácido ciclopiazônico

d. Aflatoxina B1

1. Aflatoxina é o mais potente agente carcinogênico entre as quatro micotoxinas listadas.

2. Descreva as diferentes micotoxicoses causadas pela aflatoxina.

2. Aflatoxicose aguda pode resultar em morte por hepatite aguda. Aflatoxicose crônica pode produzir imunossupressão e carcinoma hepatocelular.

3. Descreva as diferentes apresentações do ergotismo.

3. As duas formas são de ergotismo convulsivo e gangrenoso. A forma gangrenosa é marcada por vasoconstrição periférica e necrose da extremidade distal e está associada à ingestão de grãos contaminados com *Claviceps purpurea* e que contenham alcaloides do grupo ergotamina. Além de infarto e necrose dos tecidos, a forma de ergotismo gangrenoso é associada com edema, prurido e sensações, variando de picada a dor muscular grave. Ergotismo convulsivo tem sido associado com a ingestão de milho contaminado com *Claviceps fusiformis* e contendo alcaloides do grupo Clavine. Ergotismo neurológico ou ergotismo convulsivo é marcado por espasmos musculares, convulsões e alucinações.

4. Qual a relação entre *Stachybotrys chartarum* e hemorragia idiopática pulmonar da infância?

4. Uma associação tem sido relatada, porém, a relação de causa e efeito não foi comprovada.

Bibliografia

Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbial Rev*. 2003;16:497-516.

Halsall WJ, et al. Mycotoxins. In Murray PR, et al, editors: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor mold, toxigenic fungi, and Stachybotrys chartarum: Infectious disease perspective. *Clin Microbiol Dis*. 2003;16:144-172.

Richard JL. Mycotoxins and human disease. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003.

77 Papel dos Fungos na Doença

Um resumo dos fungos (leveduras e fungos filamentosos) mais comumente associados com a doença humana é apresentado neste capítulo. As doenças micóticas em humanos se desenvolvem como processos patológicos em um ou mais sistemas de órgãos. Os sistemas afetados podem ser tão superficiais quanto as camadas externas da pele, ou tão profundas quanto o coração, o sistema nervoso central, ou as vísceras abdominais. Embora um único fungo possa estar mais comumente associado com infecção envolvendo um único sistema orgânico (p. ex., *Cryptococcus neoformans* e o sistema nervoso central), mais frequentemente, vários organismos diferentes podem produzir uma síndrome patológica similar. Como a conduta diante de uma determinada infecção pode ser diferente de acordo com o agente etiológico, para orientar o diagnóstico subsequente e esforços terapêuticos, é útil estabelecer um diagnóstico diferencial que inclua os mais prováveis patógenos fúngicos.

Como o desenvolvimento de uma infecção fúngica depende de fatores que, muitas vezes, são mais importantes que o potencial virulento do organismo infectante, deve ser levado em consideração, numerosos fatores, como a estado imune do hospedeiro, a oportunidade de interação entre o hospedeiro e o fungo (p. ex., é o fungo endógeno ou exógeno ao paciente?), e a dose infecciosa potencial (p. ex., no caso de fungo dimórfico endêmico), na determinação da possibilidade de uma infecção fúngica, a importância dos dados microbiológicos (p. ex., resultados da cultura), e a necessidade de tratar e com qual agente. As infecções fúngicas ocorrem, muitas vezes, em pacientes muito doentes, e não é possível resumir aqui as incríveis interações complexas que conduzem finalmente ao estabelecimento da infecção e da doença em cada sistema orgânico. Em vez disso, este capítulo fornece uma lista bastante ampla dos vários fungos comumente associados a infecções em locais específicos do corpo e/ou manifestações clínicas específicas (Tab. 77-1). Estas informações visam a utilização em conjunto com aquelas no Capítulo 69, Tabela 69-1, como auxílio para estabelecer um diagnóstico diferencial e para a seleção das amostras clínicas mais prováveis que ajudarão a estabelecer um diagnóstico etiológico específico. Outros fatores que podem ser importantes na determinação da frequência relativa com que fungos específicos causam doença (p. ex., idade, comorbidades, imunidade do hospedeiro, exposições epidemiológicas e fatores de risco) são cobertos nos capítulos individuais neste texto ou em textos mais completos de doenças infecciosas citadas neste e em outros capítulos.

Tabela 77-1 Resumo dos Fungos Associados com Doença Humana

Sistema Afetado	Patógenos
Infecções do Trato Respiratório Superior	
Orofaríngeo	*Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Penicillium marneffei, Geotrichum candidum*
Sinusite	*Aspergillus* spp., zigomicetos, *Fusarium* spp., fungos filamentosos demáceos (p. ex., *Alternaria, Bipolaris, Exophiala* spp.)
Laríngeo	*Histoplasma capsulatum, Sporothrix schenckii, Blastomyces dermatitidis*
Esofágico	*Candida* spp.
Infecções do Ouvido	
Otite externa	*Aspergillus níger, Candida* spp.
Infecções Oculares	
Endoftalmite	*Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Fusarium* spp., *Histoplasma capsulatum, Cryptococcus* spp.
Ceratite	*Candida* spp., *Fusarium* spp., fungos filamentosos demáceos, *Scedosporium* spp., *Paecilomyces lilacinus*
Sinuorbital	Zigomicetos, *Aspergillus* spp.
Dacriocistite e canaliculite	*Candida albicans, Aspergillus niger*
Infecções Pleuropulmonares e Brônquicas	
Bronquite	*Aspergillus* spp., *Cryptococcus neoformans*
Pneumonia	*Aspergillus* spp., zigomicetos, *Fusarium* spp., *Scedosporium apiospermum, Trichosporon* spp., fungos filamentosos demáceos, *Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Paracoccidioides brasiliensis, Penicillium marneffei, Pneumocystis jirovecii, Candida* spp. (rara)

Bola fúngica	*Aspergillus* spp. zigomicetos, *Scedosporium apiospermum, Fusarium* spp., *Candida* spp.
Empiema	*Aspergillus* spp., zigomicetos, *Scedosporium apiospermum, Fusarium* spp. *Candida* spp., *Coccidioides immitis/posadasii*
Infecções do Trato Genitourinário	
Vulvovaginal	*Candida* spp., *Saccharomyces cerevisae*
Cistite e pielonefrite	*Candida* spp., (mais comum), *Cryptococcus neoformans, Aspergillus* spp., *Coccidioides immitis/posadasii, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis* (raro), *Trichosporon* spp. (raro), *Blastoschizomyces capitatus* (raro), *Rhodotorula* spp. (raro)
Epididimite e orquite	*Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., *Coccidioides immitis/posadasii, Histoplasma capsulatum, Blatomyces dermatitidis* (todos raros)
Prostatite	*Candida* spp (comum), *Cryptococcus* spp. (comum), *Blastomyces dermatitidis* (comum), *Histoplasma capsulatum, Aspergillus* spp. (raro), *Coccidioides immitis/posadasii* (raro)
Infecções Intra-abdominais	
Peritonite	*Candida* spp., *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp. (raro)
Abscessos viscerais	*Candida* spp., *Trichosporon* spp., *Blastoschizomyces capitatus*
Infecções Cardiovasculares	
Endocardite	*Candida* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp., *Aspergillus* spp., outros hifomicetos hialinos (p.ex. *Fusarium, Acremonium*), fungos filamentosos demáceos
Pericardite	*Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis/posadasii*
Sistema Nervoso Central	
Meningite	*Candida* spp., *Cryptococcus neoformans, Aspergillus* spp., zigomicetos (raros), *Coccidioides immitis/posadasii, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis* (raro), *Rhodotorula* spp., *Blastoschizomyces capitatus, Penicillium marneffei*
Abscessos cerebrais	*Candida* spp., *Cryptococcus neoformans, C. gattii, Aspergillus* spp., zigomicetos, *Scedosporium apiospermum, Trichosporon* spp., *Trichoderma* spp., fungos filamentosos demáceos (especialmente *Cladophialophora bantiana* e *Bipolaris hawaiiensis)*, fungos dimórficos endêmicos (raro)
Infecções da Pele e de Tecidos Moles	
Superficiais e Cutâneas	Dermatófitos, *Candida* spp., *Scytalidium* spp., *Scopulariopsis* spp., *Aspergillus* spp., *Malassezia* spp., *Paecilomyces lilacinus*
Subcutâneas	Fungos filamentosos demáceos, *Fusarium* spp., *Acremonium* spp., *Scedosporium apiospermum, Sporothrix schenckii, Basidiobolus* sp., *Conidiobolus* sp.
Feridas (cirúrgicas ou traumáticas)	*Candida* spp., zigomicetos, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp., *Scedosporium prolificans*
Nódulos cutâneos (hematogêneo)	*Candida* spp., *Aspergillus* spp., Zigomicetos, *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp., *Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Penicillium marneffei, Fusarium* spp., *Acremonium* spp., fungos filamentosos demáceos (raro), *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*
Infecções Ósseas e Articulares	

Osteomielite	*Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., zigomicetos, fungos filamentosos demáceos (micetoma), outros hifomicetos hialinos (p. ex., *Scedosporium* spp., *Trichosporon*), *Histoplasma capsulatum* var *duboisii*
Artrite	*Coccidioides immitis/posadasii, Blastomyces dermatitidis, Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Aspergillus* spp., fungos filamentosos demáceos (micetoma; raro), *Histoplasma capsulatum* (raro), *Paracoccidioides brasiliensis* (raro), *Sporothrix schenckii* (raro)
Outras infecções	
Articulações protéticas	*Candida* spp., todos os outros muito raros
Disseminação hematogênea	*Candida* spp., *Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Cryptococcus* spp., *Paracoccidioides brasiliensis, Sporothrix schenckii, Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Trichosporon* spp.; *Malassezia* spp., *Blastoschizomyces capitatus, Penicillium marneffei*, outros (p. ex., *Rhodotorula, Acremonium, Saccharomyces* spp. em pacientes neutropênicos ou transplantados)

Bibliografia

Anaisse EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. Clinical Mycology. New York: Churchill Livingstone, 2003.

Chandler FW, Watts JC. Pathologic Diagnosis of Fungal Infections. Chicago: ASCP, 1987.

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange, 1997.

Murray PR, et al. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: Concern for resistance beyond Candida albicans and Aspergillus fumigatus. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4419.

Pfaller MA, et al. Invasive fungal pathogens: Current epidemiological trends. *Clin Infect Dis*. 2006;43(Suppl 1):S3.

Seção 8
Parasitologia

78 Patogênese das Doenças Parasitárias

Dada a ampla diversidade existente entre os parasitos humanos, não é surpreendente que a patogênese das doenças causadas por protozoários e helmintos seja muito variável. Apesar dos vários parasitos humanos exibirem ampla gama de mecanismos diretamente patogênicos, na maioria dos casos os próprios organismos não são muito virulentos, são incapazes de se replicarem no hospedeiro, ou apresentam ambas características. Dessa forma, a severidade da doença causada por muitos parasitos está relacionada à dose infectante e ao número de organismos adquiridos com o tempo. Diferente de muitas infecções bacterianas e virais, as infecções parasitárias muitas vezes são crônicas, com duração de meses a anos. Exposições repetidas resultam em uma carga parasitária crescente. Quando a infecção por um determinado organismo é associada a uma forte resposta imune, sem dúvida há uma considerável contribuição imunopatológica às manifestações da doença atribuídas à infecção.

Fatores importantes a serem considerados na discussão sobre a patogenicidade de um parasito são listados no Quadro 78-1. Os parasitos quase sempre são exógenos ao hospedeiro humano e, assim, devem entrar no corpo através de ingestão ou de penetração direta nas barreiras anatômicas. O tamanho do inóculo e a duração da exposição influenciam muito o potencial de um organismo causar doença. Do mesmo modo, a via de exposição é crítica para a maioria dos organismos. Por exemplo, cepas patogênicas de *Entamoeba histolytica* não costumam causar doença quando a exposição ocorre na pele intacta, porém podem causar severa disenteria após sua ingestão oral. Muitos parasitos apresentam meios ativos e autodirigidos para invadir o hospedeiro humano. Uma vez realizada a invasão, os parasitos aderem a células ou órgãos específicos do hospedeiro, evitam a detecção imune, replicam (a maioria dos protozoários e alguns helmintos), produzem substâncias tóxicas que destroem tecidos e provocam doenças secundárias à própria resposta imunológica do hospedeiro (Quadro 78-1). Além disso, alguns parasitos causam obstrução física e danos a órgãos e tecidos graças unicamente ao seu tamanho. Este capítulo discute os fatores importantes para a patogenicidade dos parasitos e fornece exemplos de organismos e processos da doença relacionados a cada fator.

Quadro 78-1 Fatores Associados à Patogenicidade do Parasito

Dose infectiva e exposição
Penetração das barreiras anatômicas
Fixação
Replicação
Dano celular e tecidual
Destruição, evasão e inativação das defesas do hospedeiro

Exposição e Invasão

Apesar de muitas doenças infecciosas serem causadas por organismos **endógenos** que fazem parte da microbiota normal do hospedeiro humano, não é isto que ocorre na maioria das doenças causadas por protozoários e helmintos parasitas. Estes organismos são na prática adquiridos de fontes **exógenas** que se utilizam de numerosos meios para entrar no corpo do hospedeiro humano. Os meios de entrada mais comuns são a ingestão oral ou a penetração direta através da pele ou de outras superfícies (Tab. 78-1). A transmissão de doenças parasitárias é frequentemente facilitada pela contaminação ambiental com dejetos humanos e animais. Isso aplica-se principalmente a doenças transmitidas pela via fecal-oral mas também se aplica a infecções helmíticas, como ancilostomose e estrogiloidíase, transmitidas através da penetração larval da pele.

Tabela 78-1 Portas de Entrada do Parasito

Via	Exemplos
Ingestão	Espécies de *Giardia, E. histolytica*, espécies de *Cryptosporidium*, cestoides, nematoides
Penetração Direta	
Picada de artrópode	Malária, espécies de *Babesia*, filárias, espécies de *Leishmania*, tripanossomas
Penetração transplacentária	*Toxoplasma gondii*
Penetração direcionada pelo organismo	Ancilostomídeos, espécies de *Strongyloides*, esquistossomas

Muitas doenças parasitárias são adquiridas através da picada de vetores **artrópodes**. A transmissão de doença dessa forma é extraordinariamente eficiente, como evidenciado pela ampla distribuição de doenças como malária, tripanossomíase e filaríase. Exemplos de parasitos e suas portas de entrada são listados na Tabela 78-1. Esta compilação não deveria ser considerada exaustiva; ao contrário, a lista fornece exemplos de alguns dos parasitos mais comuns e os meios através dos quais invadem o corpo humano.

Os fatores adicionais que determinam as consequências da interação parasito-hospedeiro são a via de **exposição** e o tamanho do **inóculo**. A maioria dos parasitos humanos apresenta limitações quanto aos órgãos e tecidos nos quais podem se replicar ou sobreviver. Por exemplo, o simples contato da pele com a maioria dos protozoários intestinais não resulta em doença; ao invés disso, os organismos devem ser ingeridos para que o processo que leva à doença seja iniciado. Deste modo, é necessário um número mínimo de organismos para estabelecer a infecção. Embora algumas doenças parasitárias possam ser adquiridas pela ingestão ou inoculação de apenas alguns poucos organismos, geralmente é necessário que o tamanho do inóculo seja razoável. Enquanto um indivíduo pode adquirir malária através de uma única picada de um mosquito fêmea infectado, geralmente são necessários inóculos grandes para que doenças como amebíase sejam produzidas em humanos.

Aderência e Replicação

A maioria das infecções é iniciada com a fixação do organismo aos tecidos do hospedeiro, seguida pela replicação para estabelecer colonização. O ciclo de vida de um parasito baseia-se na espécie e nos **tropismos teciduais**, que determinam em que órgãos ou tecidos do hospedeiro um parasito pode sobreviver. A fixação do parasito às células ou tecidos do hospedeiro pode ser relativamente inespecífica, mediada por partes da boca que exercem força mecânica ou que mordem, ou pode resultar de uma interação entre estruturas da superfície do parasito conhecidas como *adesinas*, e glicoproteínas específicas ou receptores glicolipídicos encontrados em alguns tipos celulares, porém ausentes em outros. As estruturas específicas da superfície que podem facilitar a adesão do parasito incluem **glicoproteínas**, como glicoforinas A e B, receptores de complemento, componentes da cascata do complemento adsorvidos, fibronectina e conjugados de *N*-acetilglicosamina. Exemplos de alguns dos mecanismos de aderência identificados nos parasitos humanos são listados na Tabela 78-2.

Tabela 78-2 Exemplos de Mecanismos de Aderência de Parasitos

Tabela 78-2. Exemplos de Mecanismos de Aderência de Parasitos

Organismo	Doença	Alvo	Mecanismo de Fixação e Receptor
Plasmodium vivax	Malária	Hemácia	Merozoíta (a fixação não é mediada pelo complemento), antígeno Duffy
Plasmodium falciparum	Malária	Hemácia	Merozoíta e glicoforinas A e B
Espécies de *Babesia*	Babesiose	Hemácia	Complemento mediada, receptor de C3b
Giardia lamblia	Diarreia	Epitélio do duodeno e do jejuno	Lectina de *G. lamblia* tripsina ativada e manose-6-fosfato. Molécula de aderência de *G. lamblia*-1 no disco
Entamoeba histolytica	Disenteria	Epitélio do cólon	Conjugados de *N*-acetilglicosamina e lectina
Trypanosoma cruzi	Doença de Chagas	Fibroblasto	Penetrina, fibronectina e receptor de fibronectina
Leishmania major	Leishmaníase	Macrófago	C3bi adsorvido e CR3
Leishmania mexicana	Leishmaníase	Macrófago	Glicoproteína de superfície (gp63) e CR2
Necator americanus *Ancylostoma duodenale*	Ancilostomose	Epitélio intestinal	Pressão mecânica e mordida com partes da boca

A *E. histolytica* é um bom modelo para analisar a importância das **adesinas** na virulência. A patogênese da amebíase invasiva requer a aderência da ameba à camada mucosa colônica, a fixação do parasito e a lise do epitélio do cólon com presença de células de inflamação aguda, e a resistência dos trofozoítas da ameba aos mecanismos de defesa imune humoral e celular do hospedeiro. A aderência da ameba a mucinas do cólon, células epiteliais e leucócitos é mediada por uma lectina de superfície que é inibida pela galactose (gal) ou *N*-acetil-D-galactosamina (GalNAc). A ligação da lectina de adesão galactose-inibida a carboidratos na superfície da célula do hospedeiro é necessária para que os trofozoítas da *E. histolytica* exerçam sua atividade citolítica. A presença da lectina de adesão galactose-inibida é uma característica que distingue as formas patogênica e não patogênica das cepas de *E. histolytica*.

Vários mecanismos de fixação têm sido associados a infecções específicas. Por exemplo, o **antígeno do grupo sanguíneo Duffy** atua como um sítio de ligação para o *Plasmodium vivax*. As hemácias da maioria dos africanos ocidentais, em contraste com as dos europeus, não possuem o antígeno de Duffy. Consequentemente, a malária causada por *P. vivax* é praticamente desconhecida na África ocidental. As estruturas físicas dos parasitos podem agir como moléculas de adesão para promover a fixação às células do hospedeiro. A *Giardia*

lamblia é um protozoário parasita que usa um disco ventral para fixar-se ao epitélio intestinal através de um mecanismo semelhante a um aperto ou sucção. Duas adesinas identificadas recentemente, a lectina de *G. lamblia* tripsina-ativada (taglina) e a molécula de aderência da *G. lamblia*-1 (MAGL-1), também podem ser importantes na fixação aos enterócitos. Acredita-se que o contato inicial do parasito com a superfície intestinal seja facilitado pela taglina, a qual está distribuída sobre a superfície do parasito, e que a MAGL-1 discoespecífica seja responsável pela ávida fixação do disco à superfície do enterócito.

Após a fixação a um específico tipo de célula ou tecido, o parasito pode passar por uma fase de replicação como passo seguinte para o estabelecimento da infecção. A maioria dos protozoários parasitos replica-se intra ou extracelularmente no hospedeiro humano, enquanto geralmente não se observa replicação de helmintos capazes de estabelecer infecção no homem.

A temperatura também pode desempenhar um papel importante na habilidade dos parasitos infectarem um hospedeiro e causarem doença. Espécies de *Leishmania* constituem um bom exemplo. A *Leishmania donovani* replica-se bem a 37°C e causa leishmaniose visceral com envolvimento da medula óssea, fígado e baço. Em contraste, a *L. tropica* cresce bem entre 25°C e 30°C, mas seu crescimento é escasso a 37°C, e causa uma infecção da pele sem envolvimento de órgãos mais profundos.

Dano Celular e Tecidual

Embora alguns microrganismos possam causar doença através da multiplicação localizada e da elaboração de **toxinas** microbianas potentes, a maior parte dos organismos inicia o processo da doença pela invasão de um tecido normalmente estéril com subsequente replicação e destruição. Protozoários e helmintos parasitos geralmente não produzem toxinas tão potentes quanto as toxinas bacterianas clássicas, tais como a toxina do antrax e a toxina botulínica; entretanto, a doença parasitária pode ser estabelecida através da elaboração de produtos tóxicos, dano tecidual mecânico e reações imunopatológicas (Tab. 78-3).

Tabela 78-3 Alguns Mecanismos Patológicos em Doenças Parasitárias

Mecanismo	Exemplos
Produtos Tóxicos dos Parasitos	
Enzimas hidrolíticas, proteinases, colagenase, elastase	Esquistossomas (cercárias), espécies de *Strongyloides*, ancilostomídeos, *Entamoeba histolytica*, tripanossomas africanos, *P. falciparum*
Ionóforo da ameba	*E. histolytica*
Endotoxinas	Tripanossomas africanos, *P. falciparum*
Catabólitos indólicos	Tripanossomas
Dano Tecidual Mecânico	
Bloqueio de órgãos internos	Espécies de *Ascaris*, cestoides, esquistossomas, filárias
Atrofia por pressão	Espécies de *Echinococcus* e de *Cysticercus*
Migração através dos tecidos	Larvas de helmintos
Imunopatologia	
Hipersensibilidade	Na Tabela 78-4
Autoimunidade	Na Tabela 78-4
Enteropatias com perda de proteínas	Ancilostomídeos, cestoides, espécies de *Giardia* e *Strongyloides*
Alterações metaplásicas	Espécies de *Opisthorchis* (vermes no fígado), esquistossomas

Inúmeros autores têm sugerido que produtos tóxicos elaborados por protozoários parasitos são responsáveis por pelo menos alguns aspectos patológicos (Tab. 78-3). **Proteases** e **fosfolipases** podem ser secretadas e são liberadas na destruição de parasitos. Estas enzimas podem causar a destruição de células do hospedeiro, respostas inflamatórias e patologia tecidual total. Por exemplo, o parasito intestinal *E. histolytica* produz proteinases que podem degradar a membrana basal epitelial e proteínas de ancoragem celular, rompendo as camadas de células epiteliais. Além disso, a ameba produz fosfolipases e uma proteína tipo ionóforo que lisa os neutrófilos reativos do hospedeiro, resultando na liberação dos constituintes destes neutrófilos que são tóxicos aos tecidos do hospedeiro. A expressão de certas proteinases aumenta conforme a virulência da cepa de *E. histolytica*. Em contraste aos protozoários parasitos, muitas das consequências das infecções helmínticas estão relacionadas ao tamanho, movimento e longevidade dos parasitos. O hospedeiro é exposto a um dano de longa duração e a uma estimulação imunológica,assim como as consequências físicas abruptas de estar sendo habitado por grandes corpos estranhos. As formas mais óbvias de dano direto causado por parasitos helmínticos são aquelas que resultam do bloqueio mecânico de órgãos internos ou de efeitos da pressão exercida pelos parasitos em crescimento. Organismos adultos e grandes de *Ascaris* podem bloquear fisicamente o intestino e os ductos biliares. De forma semelhante, o bloqueio da corrente linfática, levando à elefantíase, está associado à presença de organismos adultos de *Wuchereria* no sistema linfático. Algumas manifestações neurológicas de cisticercose são devidas à pressão exercida por cistos larvais de *Taenia solium* se expandindo lentamente no Sistema Nervoso Central (SNC) e nos olhos. A migração de helmintos (geralmente das formas larvais) através dos tecidos corporais, como pele, pulmões, fígado, intestinos, olhos e SNC pode causar lesão tecidual direta e iniciar reações de hipersensibilidade.

Como acontece com muitos agentes infecciosos, as manifestações da doença parasitária são devidas não apenas ao dano tecidual mecânico ou químico produzido pelo parasito, mas também às respostas do hospedeiro à presença do parasito. A hipersensibilidade celular é observada na doença causada por protozoários e helmintos (Tab. 78-4). Durante uma infecção parasitária, produtos das células do hospedeiro como citocinas e linfocinas são liberados de células ativadas. Estes mediadores influenciam a ação de outras células e podem

contribuir diretamente à patogênese das infecções parasitárias. As **reações imunopatológicas** abrangem desde reações agudas anafiláticas até reações de hipersensibilidade tardia mediadas por células (Tab. 78-4). O fato de muitos parasitos terem um longo período de vida significa que muitas alterações inflamatórias tornam-se irreversíveis, produzindo alterações funcionais nos tecidos. Exemplos incluem hiperplasia dos ductos biliares secundária à presença de vermes no fígado e fibrose extensiva levando à disfunção genitourinária e hepática na esquistossomíase crônica. A migração de larvas de helmintos através dos tecidos como pele, pulmões, fígado, intestino, SNC e olhos produz alterações inflamatórias imunomediadas nestas estruturas. Finalmente, alterações inflamatórias crônicas ao redor de parasitos como *Opisthorchis sinensis* e *Schistosoma haematobium* têm sido associadas à indução de alterações carcinomatosas nos ductos biliares e na bexiga, respectivamente.

Tabela 78-4 Reações Imunopatológicas à Doença Parasitária

Tabela 78-4. Reações Imunopatológicas à Doença Parasitária

Reação	Mecanismo	Resultado	Exemplo
Tipo 1: anafilática	Antígeno + imunoglobulina E ligado na maioria das células: liberação de histamina	Choque anafilático; broncoespasmo; inflamação local	Infecção helmítica, tripanossomíase africana
Tipo 2: citotóxica	Anticorpo + antígeno na superfície celular: ativação do complemento ou citotoxicidade celular dependente de anticorpo	Lise da célula portadora de antígenos microbianos	Infecção por *Trypanosoma cruzi*
Tipo 3: imunocomplexo	Anticorpo + complexo antigênico extracelular	Inflamação e dano tecidual; deposição de complexos nos glomérulos, articulações, vasos da pele, cérebro; glomerulonefrite e vasculite	Malária, esquistossomíase, tripanossomíase
Tipo 4: mediada por células (tardia)	Reação de célula T sensibilizada com antígeno, liberação de linfocinas, desencadeamento de citotoxicidade	Inflamação, acúmulo mononuclear, ativação de macrófagos Dano tecidual	Leishmaníase, esquistossomíase, tripanossomíase

Modificado de Mims C et al: Pathogenesis of Infectious Disease, 4th ed. London, Academic, 1995.

Destruição, Evasão e Inativação das Defesas do Hospedeiro

Apesar de os processos de destruição celular e tecidual muitas vezes serem suficientes para iniciar a doença clínica, o parasito deve ser capaz de escapar do sistema de defesa imune do hospedeiro para que o processo da doença seja mantido. Como outros organismos, os parasitos provocam respostas imunes humorais e celulares; entretanto, parasitos são particularmente especializados em interferir ou evitar estes mecanismos de defesa (Tab. 78-5).

Tabela 78-5 Interferência Microbiana ou Escape das Defesas Imunes

Tipo de Interferência ou Escape	**Mecanismo**	**Exemplos**
Variação antigênica	Variação dos antígenos de superfície junto ao hospedeiro	Tripanossomas africanos, espécies de *Plasmodium*, de *Babesia* e de *Giardia*
Mimetismo molecular	Os antígenos microbianos mimetizam antígenos do hospedeiro, levando ao enfraquecimento da resposta humoral	Espécies de *Plasmodium*, tripanossomas e esquistossomas
Encobrimento do sítio antigênico (mascaramento)	Aquisição de uma cobertura de moléculas do hospedeiro	Cisto hidático, filárias, esquistossomas, tripanossomas
Localização intracelular	Incapacidade de mostrar antígenos microbianos na superfície da célula do hospedeiro Inibição da fusão fagolisossômica Escape do fagossoma no citoplasma, com replicação subsequente	Espécies de *Plasmodium* (hemácias), tripanossomas, espécies de *Leishmania* e de *Toxoplasma* Espécies de *Toxoplasma* Espécies de *Leishmania, Trypanosoma cruzi*
Imunossupressão	Supressão das repostas T e B parasito-específicas Degradação de imunoglobulinas	Tripanossomas, espécies de *Plasmodium* Esquistossomas

Os organismos podem alterar a expressão antigênica, tal como se observa nos tripanossomas africanos. A rápida alteração na expressão de antígenos nos glicocálix destes organismos ocorre toda vez que o hospedeiro apresenta uma nova resposta humoral. Alterações semelhantes têm sido observadas com espécies de *Plasmodium, Babesia* e *Giardia*. Alguns organismos produzem antígenos que mimetizam antígenos do hospedeiro (**mimetização**) ou adquirem moléculas do hospedeiro que escondem o sítio antigênico (**mascaramento**), prevenindo assim o reconhecimento imunológico.

Muitos protozoários parasitos escapam da resposta imune assumindo uma localização intracelular no hospedeiro. Organismos que residem dentro de macrófagos desenvolveram uma variedade de mecanismos para evitar a destruição intracelular. Estes incluem a prevenção da fusão ao fagolisossoma, a resistência à destruição após a exposição a enzimas lisossômicas e o escape das células fagocitadas do fagossoma no citoplasma, com subsequente replicação do organismo (Tab. 78-5).

A imunossupressão do hospedeiro é observada frequentemente no curso das infecções parasitárias. A imunossupressão pode ser parasito-específica ou generalizada, envolvendo uma resposta a vários antígenos do parasito ou de outra origem. Os mecanismos propostos incluem sobrecarga antigênica, competição antigênica, indução de células supressoras e produção de fatores linfócito-específicos. Certos helmintos, como *Schistosoma mansoni*, também podem produzir proteinases que degradam imunoglobulinas.

Questões

1. Quais são os meios mais comuns que os parasitos usam para entrar no hospedeiro humano?

1. Os meios mais comuns de entrada são ingestão oral ou penetração direta pela pele ou outras superfícies (Tabela 78.1).

2. Nomeie dois fatores que determinam as consequências da interação parasito-hospedeiro.

2. Dois importantes fatores que determinam as consequências da interação entre parasito e hospedeiro são a via de exposição e o tamanho do inóculo.

3. Dê um exemplo de uma adesina que esteja diretamente relacionada à virulência de um parasito.

3. A lectina de adesão galactose-inibida de *E. histolytica* é um bom exemplo de uma adesina que está diretamente relacionada à virulência de um parasito. A ligação desta lectina a carboidratos presentes na superfície da célula hospedeira é necessária para os trofozoítas de *E. histolytica* exercerem sua atividade citolítica.

4. Nomeie três mecanismos patológicos considerados importantes nas doenças parasitárias.

4. Três mecanismos patológicos gerais em doenças parasitárias são (i) a produção de produtos tóxicos pelo parasito; (ii) dano tecidual mecânico; e (iii) reações imunopatológicas do hospedeiro (Tabela 78.3).

5. Como os parasitos podem resistir à depuração imunológica? Dê pelo menos um exemplo de cada mecanismo.

5. Os parasitos podem resistir à depuração imunológica através de variação antigênica (ex., tripanossomas, plasmódios), mimetismo molecular (ex., esquistossomas), encobrimento do sítio antigênico (mascaramento) (ex., filárias, esquistossomas), localização intracelular (ex., plasmódios, leishmanias), e imunossupressão (ex., tripanossomas) (Tabela 78.5).

6. Nomeie os quatro tipos de reações imunopatológicas que ocorrem nas doenças parasitárias e forneça exemplos de cada uma delas.

6. Os quatros tipos de reações imunológicas que ocorrem em doenças parasitárias são anafiláticas (Tipo 1, infecção helmíntica), citotóxicas (Tipo 2, infecção por *T. cruzi)*, imunocomplexos (Tipo 3, malária), e mediadas por células (Tipo 4, leishmaníases) (Tabela 78.4).

Bibliografia

Choi BI, Han JK, Hong ST, Lee KH. Clonorchiasis and cholangiocarcinoma: Etiologic relationship and imaging diagnosis. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:540-552.

Clark IA, et al. Pathogenesis of malaria and clinically similar conditions. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:509-539.

Conway DJ. Molecular epidemiology of malaria. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:188-204.

Cunningham MW, Fujinami RS. Molecular Mimicry, Microbes, and Autoimmunity. Washington, DC: ASM Press, 2000.

Espinosa-Cantellano M, Martinez-Palomo A. Pathogenesis of intestinalamebiasis: From molecules to disease. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:318-331.

Girones N, Cuervo H, Fresno M. Trypanosoma cruzi — induced molecular mimicry and Chagas disease (Curr Top Microbiol Immunol, vol 296). Berlin: Springer-Verlag, 2005.

Graczyk TK, Knight R, Tamang L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:128-132.

Hotez PJ, Brooker S, Bethony JM, et al. Hookworm infection. *N Engl J Med*. 2004;351:799-807.

79 Diagnóstico Laboratorial da Doença Parasitária

O diagnóstico das infecções parasitárias pode ser muito difícil, particularmente em cenários não endêmicos. As manifestações clínicas das doenças parasitárias raramente são específicas o bastante para levar o clínico a suscitar a hipótese de tais tipos de doença, e a rotina de testes laboratoriais raramente é útil. Embora a eosinofilia periférica seja amplamente reconhecida como indicador de doença parasitária, este fenômeno é característico apenas da infecção por helmintos e até mesmo nestes casos frequentemente está ausente. Assim, o médico deve manter um índice de suspeitas elevado e deve se basear em detalhes sobre viagens, alimentação, transfusões e histórico socioeconômico para levantar a possibilidade de uma doença parasitária. O diagnóstico apropriado requer que (1) o médico considere a possibilidade de infecção parasitária; (2) amostras adequadas sejam obtidas e transportadas no tempo certo; (3) o laboratório realize os procedimentos adequados de forma competente, permitindo a recuperação e a identificação do agente etiológico; (4) os resultados laboratoriais sejam comunicados eficientemente ao médico; e (5) que estes resultados sejam interpretados corretamente pelo médico e aplicados para o tratamento do paciente. Além disso, para a maioria das doenças parasitárias, os testes de seleção e interpretação apropriados baseiam-se na compreensão do **ciclo de vida** do parasito, como na **patogênese** do processo no homem.

Inúmeros métodos para o diagnóstico das doenças parasitárias têm sido descritos (Quadro 79-1). Alguns são úteis na detecção de uma ampla variedade de parasitos, enquanto outros são particularmente úteis para um ou alguns poucos parasitos. Embora o principal suporte do diagnóstico clínico microbiológico seja o isolamento do patógeno causador em cultura, o diagnóstico das doenças parasitárias é acompanhado quase completamente pela demonstração morfológica (geralmente microscópica) dos parasitos no material clínico. Ocasionalmente, a demonstração de uma resposta humoral específica (sorodiagnóstico) ajuda a estabelecer o diagnóstico. Atualmente, a detecção de antígenos do parasito no soro, urina ou nas fezes fornece meios rápidos e sensíveis para diagnosticar uma infecção com certos organismos. De modo semelhante, o desenvolvimento de ensaios baseados em ácido nucleico pode provar que é um modo excelente para detectar e identificar inúmeros parasitos em amostras biológicas como sangue, fezes, urina, escarro e biópsias de tecidos obtidas de paciente infectados. Em geral, é melhor para o laboratório oferecer um número limitado de procedimentos que sejam realizados com competência, a oferecer uma ampla variedade de testes que sejam realizados com pouca frequência e de forma ineficiente.

Quadro 79-1 Métodos Laboratoriais para o Diagnóstico de Doenças Parasitárias

Exame macroscópico

Exame microscópico
- Exame direto a fresco
- Colorações permanentes
- Concentrados de fezes

Exame sorológico
- Resposta de anticorpos
- Detecção de antígenos

Hibridização de ácido nucleico
- Sondas e técnicas de amplificação
- Detecção
- Identificação

Cultura

Inoculação em animais

Xenodiagnóstico

Este capítulo fornece uma descrição geral dos princípios de coleta e processamento de amostras necessários para diagnosticar a maioria das infecções parasitárias. Detalhes específicos destes e de outros procedimentos podem ser encontrados em vários textos de referência listados na Bibliografia.

O Ciclo de Vida do Parasito como Auxiliar no Diagnóstico

Os parasitos podem apresentar ciclos de vida complexos envolvendo um ou múltiplos hospedeiros. A compreensão do ciclo de vida dos organismos parasitários é a chave para o entendimento de aspectos importantes de distribuição geográfica, transmissão e patogênese de muitas doenças parasitárias. Os ciclos de vida dos parasitos muitas vezes também indicam pistas úteis para o diagnóstico. Por exemplo, no ciclo de vida das filárias que infectam o homem, certas espécies como *Wuchereria bancrofti* apresentam **"periodicidade noturna"**; onde um número maior de microfilárias são encontrados no sangue periférico à noite. A amostragem do sangue de tais pacientes durante o período diurno não possibilitará a detecção das microfilárias, enquanto as amostras de sangue coletadas entre as 10 horas da noite e as 4 horas da manhã podem demonstrar muitas microfilárias. Semelhantemente, nematoides intestinais como *Ascaris lumbricoides* e ancilostomídeos, que residem no lúmen do intestino, produzem um grande número de ovos que podem ser detectados facilmente nas fezes de um paciente infectado. Em contraste, outro nematoide intestinal, *Strongyloides stercoralis*, deposita seus ovos na parede do intestino ao invés do lúmen. Como resultado, os ovos raramente são vistos nas fezes durante o exame; para fazer o diagnóstico, o parasitologista deve atentar para a presença de larvas. Finalmente, os parasitos podem causar sintomas clínicos em algum momento quando os estágios de diagnóstico ainda não estiverem presentes em seu sítio usual. Por exemplo, em certas infecções por nematoides intestinais, a **migração** das larvas através dos tecidos pode causar uma sintomatologia intensa semanas antes dos ovos característicos estarem presentes nas fezes.

Considerações Gerais sobre o Diagnóstico

A importância da coleta apropriada da amostra, o número e o horário de coleta das amostras, o tempo para o transporte até o laboratório e a pronta análise do material por um microscopista experiente não podem ser superestimados. Como a maioria das análises e identificações parasitológicas são inteiramente baseadas no reconhecimento das características morfológicas dos organismos, qualquer condição que possa obscurecer ou distorcer a aparência morfológica do parasito resultará em uma identificação errônea ou em um diagnóstico equivocado. Como observado anteriormente e também no Quadro 79-1, podem existir alternativas à microscopia para a detecção e identificação de certos parasitos. Estes testes (p. ex., detecção de antígeno, amplificação/detecção de ácido nucleico), apesar de serem pouco comuns atualmente, podem passar a ser empregados mais amplamente no futuro. Eles oferecem a promessa de serem testes mais rápidos, sensíveis e específicos para o diagnóstico das doenças parasitárias. Estas opções de testes diagnósticos devem expandir as capacidades de teste de muitos laboratórios, permitindo que laboratórios com proficiência limitada em parasitologia ofereçam testes diagnósticos para certas doenças parasitárias. Uma lista de procedimentos comuns e incomuns e de amostras que devem ser coletadas para determinadas infecções parasitárias é fornecida na Tabela 79-1.

Tabela 79-1 Sítios Corporais, Coleta de Amostras e Procedimentos de Diagnóstico para Infecções Parasitárias Selecionadas

Tabela 79-1. Sítios Corporais, Coleta de Amostras e Procedimentos de Diagnóstico para Infecções Parasitárias Selecionadas

Organismo Infectante	Opções de Amostra	Métodos de Coleta	Procedimento Diagnóstico
Sangue			
Espécies de *Plasmodium*, *Babesia*, filárias, *Leishmania*, *Toxoplasma* e *Trypanosoma*	Sangue total com anticoagulantes	Punção venosa	Exame microscópico (coloração de Giemsa) ou coloração fluorescente com alaranjado de acridina Esfregaço delgado Esfregaço espesso Concentração do sangue (filária) Sorologia Anticorpo Antígeno PCR
Medula Óssea			
Espécies de *Leishmania*, *Trypanosoma cruzi*	Aspirado Soro	Estéril Punção venosa	Exame microscópico (coloração de Giemsa) Cultura Sorologia (anticorpo) PCR
Sistema Nervoso Central			
Espécies de *Acanthamoeba* e *Naegleria*, tripanossomas, *Toxoplasma gondii*	Líquido espinhal Soro	Estéril Punção venosa	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente Cultura Sorologia (anticorpo) PCR
Úlceras Cutâneas			
Espécies de *Leishmania* e *Acanthamoeba*	Aspirado Biópsia Soro	Estéril com esfregaço Estéril, não estéril para histologia Punção venosa	Exame microscópico (coloração de Giemsa) Cultura Sorologia (anticorpo) PCR
Olhos			
Espécies de *Acanthamoeba*, *Loa loa*	Raspagem da córnea Biópsia da córnea	Esfregaço em salina estéril, seco ao ar Salina estéril	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente Cultura
Trato Intestinal			
Entamoeba histolytica	Fezes frescas Fezes preservadas Material de sigmoidoscopia Soro	Frasco lubrificado Formalina, APV Esfregaços de Schaudinn Punção venosa	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente Sorologia Antígeno (fezes) Anticorpo (soro) Cultura PCR
Espécies de *Giardia*	Fezes frescas Fezes preservadas Conteúdo duodenal	Frasco lubrificado Formalina, APV *Entero Test*® ou aspirado	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente Antígeno IF EIE Cultura
Espécies de *Cryptosporidium*	Fezes frescas Fezes preservadas Biópsia	Frasco lubrificado Formalina, APV Salina	Exame microscópico (ácido-resistente) Antígeno IF EIE

Infecções Parasitárias dos Tratos Intestinal e Urogenital

Protozoários e helmintos podem colonizar ou infectar os tratos intestinal e urogenital do homem. Mais comumente, estes parasitos são amebas, flagelados ou nematoides (Tab. 79-2). Entretanto, infecção por trematódeos, cestoides, ciliados, coccídios ou microsporídios também pode ser encontrada.

Tabela 79-2 Parasitos Intestinais mais Comumente Identificados nos Laboratórios dos Estados Unidos

Organismo	% do Total de Amostras Positivas (n = 2453)
Giardia lamblia	37
Blastocystis hominis	27
Cryptosporidium parvum	10
Dientamoeba fragilis	5
Entamoeba histolytica/E. dispar	5
Ascaris lumbricoides	4
Trichuris trichiura	2
Ancilostomídeos	2
Enterobius vermicularis	2
Strongyloides stercoralis	2
Hymenolepis nana	1
Espécies de *Isospora*	<1
Microsporídios	<1
Espécies de *Clonorchis/Opisthorchis*	<1
Outros helmintos	1

Dados compilados de Valenstein et al.: The use and abuse of routine stool microbiology: A College of American Pathologists Q-Probes study of 601 institutions. Arch Pathol Lab Med 120: 206-211, 1996; Amin OM: Seasonal prevalence of intestinal parasites in the United States during 2000. Am J Trop Med Hyg 66: 799-803, 2002.

Nas infecções intestinais e urogenitais, uma simples preparação a fresco ou um esfregaço corado muitas vezes são inadequados. Frequentemente é necessário realizar coletas de amostras e testes repetidamente para otimizar a detecção de organismos que são eliminados de forma intermitente ou em números flutuantes. A concentração das amostras por meio de técnicas de sedimentação ou flutuação pode ser necessária para a detecção de pequeno número de ovos (vermes) ou cistos (protozoários) em amostras de fezes.

Ocasionalmente, outras amostras que não fezes ou urina devem ser examinadas (Tab. 79-1). A detecção ótima de pequenos patógenos intestinais, como *Giardia lamblia* e *S. stercoralis*, pode necessitar de aspiração do conteúdo duodenal ou até mesmo de biópsia do intestino delgado. Do mesmo modo, a detecção de parasitos do cólon como *Entamoeba histolytica* e *Schistosoma mansoni* pode necessitar de exames proctoscópicos ou sigmoidoscópicos com aspiração ou biópsia de lesões mucosas. A amostragem da pele na região perianal é um meio útil para recuperar os ovos de *Enterobius vermicularis* (oxiúrus) ou de espécies de *Taenia* (cestoides).

Coleta de Amostras de Fezes

Pacientes, clínicos e o pessoal de laboratório devem ser adequadamente instruídos sobre a coleta e o manuseio das amostras. Amostras de fezes devem ser coletadas em frascos limpos, com abertura ampla, impermeáveis e hermeticamente fechados para garantir o teor de umidade adequado. As amostras não devem ser contaminadas com água, solo ou urina, uma vez que água e solo podem conter organismos de vida livre que podem ser confundidos com parasitos humanos, e a urina pode destruir trofozoítas móveis e também causar rachadura de ovos de helmintos. Amostras de fezes não devem conter bário, bismuto ou medicações contendo óleo mineral, antibióticos, antimaláricos ou outras substâncias químicas, pois tais substâncias comprometem a detecção dos parasitos intestinais. A coleta de amostras deve ser retardada por 5 a 10 dias para permitir a eliminação do bário, e por pelo menos 2 semanas no caso de antibióticos como a tetraciclina para permitir que os parasitos intestinais se recuperem dos efeitos tóxicos (mas não curativos) dos fármacos.

Amostras purgadas podem ser coletadas quando os organismos não são detectados nas amostras fecais evacuadas normalmente; contudo, somente alguns tipos de purgantes (sulfato de sódio e bifosfato de sódio tamponado [Fosfo-soda]) são satisfatórios. Uma série de amostras purgadas pode ser examinada no lugar de ou em adição a uma série de amostras que foram evacuadas normalmente.

Amostras fecais formadas e sem conservantes devem chegar ao laboratório dentro de 2 horas após a evacuação. Se as fezes estiverem líquidas e assim mais propensas a conterem trofozoítas, devem chegar ao laboratório em 30 minutos para serem analisadas. Fezes moles ou soltas devem ser examinadas 1 hora após a evacuação. Se não for possível realizar o exame dentro dos limites de tempo recomendados, todas as amostras frescas devem ser mantidas em preservadores como a formalina a 10%, álcool polivinílico (APV), mertiolato-iodo-formaldeído (MIF) ou acetato de sódio-ácido acético-formaldeído (SAF). Amostras fecais podem ser estocadas a 4°C, porém não devem ser incubadas nem congeladas.

O número de amostras necessário para demonstrar parasitos intestinais é variável, dependendo da qualidade da amostra submetida, a acuracidade do exame realizado, da severidade da infecção e do propósito da análise. Se o médico estiver interessado apenas na determinação da presença ou ausência de helmintos, um ou dois exames podem ser suficientes, contanto que sejam utilizados métodos de concentração das amostras. Para um exame parasitário de rotina, recomenda-se um total de três amostras fecais. O exame de três amostras utilizando uma combinação de técnicas garante a detecção de mais de 99% das infecções. Em um levantamento realizado nos Estados Unidos, o exame de três amostras foi necessário para que 100% dos pacientes infectados fossem detectados (Tab. 79-3).

Tabela 79-3 Número de Amostras Necessárias para Detectar Parasitos Intestinais

Número de Amostras por Paciente	Percentual de Pacientes Infectados Detectados*
1	71,5
2	86,9
3	100

* *n* = 130

Dados compilados de Branda et al.: A rational approach to the stool ova and parasite examination. Clin Infect Dis 42: 972-978, 2006.

Não é apropriado que múltiplas amostras sejam coletadas do mesmo paciente no mesmo dia. Também não é recomendado que as três amostras sejam submetidas uma por dia durante 3 dias consecutivos. As séries de três amostras devem ser coletadas dentro de 10 dias no máximo. Muitos parasitos não aparecem em amostras de fezes em grande número diariamente; por isso a coleta de amostras em dias alternados tende a render percentuais maiores de resultados positivos.

Nos Estados Unidos a submissão de fezes para o exame parasitológico proveniente de pacientes com diarreia coletada no hospital (com início após mais de 3 dias da internação) geralmente tem se mostrado inapropriada. Isto se deve à rara frequência de contaminação de protozoários ou helmintos parasitas em hospitais. Uma solicitação de exame parasitológico de fezes de um paciente hospitalizado deve ser acompanhada de uma declaração clara das indicações clínicas e somente depois que as causas mais comuns de diarreia coletada em hospital (p. ex., induzida por antibióticos) tiverem sido excluídas.

Técnicas de Exame de Fezes

As amostras devem ser examinadas de forma sistemática por um microscopista competente, à procura de ovos e larvas de helmintos, como de protozoários intestinais. Para uma boa detecção destes agentes infecciosos, é necessário empregar uma combinação de várias técnicas de análise.

Exame Macroscópico

A amostra fecal deve ser examinada quanto à consistência e a presença de sangue, muco, vermes e proglotes.

Exame Direto a Fresco

Fezes frescas devem ser examinadas sob o microscópio usando a técnica de salina e solução de iodo para preparações a fresco para detectar trofozoítas móveis ou larvas (*Strongyloides*). Estas preparações também são usadas para detectar ovos de helmintos, cistos de protozoários e células do hospedeiro como leucócitos e hemácias. Esta técnica também é útil no exame de material proveniente de escarro, urina, esfregaços vaginais, aspirados duodenais, sigmoidoscopia, abscessos e biópsias de tecidos.

Concentração

Todas as amostras fecais devem ser colocadas em formalina a 10% para preservação da morfologia do parasito e devem ser concentradas através da utilização de procedimentos como formalina-acetato de etila (ou formalina-éter), sedimentação, ou flutuação em sulfato de zinco. Estes métodos separam cistos de protozoários e ovos de helmintos da massa de material fecal e, assim, melhoram a detecção de pequenos números de organismos que geralmente não são percebidos quando se faz apenas um esfregaço direto. Após a concentração, o material é corado com solução de iodo e examinado microscopicamente.

Esfregaços Permanentemente Corados

A detecção e a identificação correta de protozoários intestinais dependem do exame de esfregaços corados permanentemente. Estas lâminas fornecem um registro permanente dos organismos protozoários que foram identificados em uma amostra. O detalhe citológico revelado por um dos métodos de coloração permanente é essencial para uma identificação correta, sendo que a maioria das identificações deveria ser considerada apenas como tentativa até serem confirmadas por uma lâmina corada permanentemente. As colorações permanentes comumente utilizadas são a do tricômico, hematoxilina férrica e hematoxilina-ácido fosfotúngstico. As lâminas são feitas tanto pela preparação de esfregaços de material fecal fresco e então fixadas em solução de Schaudinn, como pela fixação de uma pequena quantidade de material fecal em preservador APV.

Coleta e Exame de Outros Tipos de Amostras não Fecais

Frequentemente, outros tipos de amostras não fecais devem ser coletados e examinados para o diagnóstico de infecções causadas por patógenos intestinais. Estas amostras incluem material perianal, sigmoidoscópico, aspirados do conteúdo duodenal, abscessos hepáticos, escarro, urina e amostras urogenitais.

Amostras Perianais

A coleta de amostras perianais frequentemente é necessária para o diagnóstico de infecções por oxiúrus (*E. vermicularis*) e ocasionalmente por *Taenia* (cestoides). Os métodos incluem a preparação de uma lâmina com fita de celofane adesiva e transparente ou um *swab* anal. A preparação deste material é o método de escolha para detecção de ovos de *Enterobius*. Amostras coletadas por qualquer um destes métodos devem ser obtidas pela manhã antes de o paciente tomar banho ou ir ao banheiro. O método da fita requer que a face adesiva seja pressionada firmemente contra as pregas perianais direita e esquerda e em seguida que a fita seja espalhada sobre a superfície de uma lâmina de microscopia. Deste modo, o *swab* anal deve ser esfregado suavemente sobre a região perianal e transportado para o laboratório para exame microscópico. Seja qual for o método de coleta, as lâminas ou *swabs* devem ser mantidos a 4°C caso o transporte para o laboratório seja demorado.

Material Sigmoidoscópico

O material de sigmoidoscopia pode ser útil no diagnóstico da infecção por *E. histolytica* que não tenha sido detectada através do exame parasitológico das fezes. As amostras consistem de material fragmentado ou aspirado de superfícies mucosas. Ao menos seis áreas devem ser amostradas. Após a coleta, o material deve ser colocado em um tubo contendo salina a 0,85% e mantido aquecido durante o transporte até o laboratório. As amostras devem ser examinadas imediatamente para pesquisa de trofozoítas móveis.

Aspirados Duodenais

A amostragem e o exame do conteúdo duodenal é um meio de recuperar larvas de *Strongyloides*, ovos de espécies de *Clonorchis, Opisthorchis* e *Fasciola*, e organismos que parasitam o intestino delgado como *Giardia, Isospora* e *Cryptosporidium*. Os exemplares podem ser obtidos através de endoscopia ou pelo uso de cápsulas entéricas ou do teste do barbante (Entero Test®). A biópsia endoscópica da mucosa do intestino delgado pode revelar organismos de *Giardia, Cryptosporidium* e microsporídios, como larvas de *Strongyloides*. As amostras devem ser coletadas em solução salina e transportadas diretamente para o laboratório para exame microscópico.

Aspirados de Abscessos Hepáticos

Lesões supurativas do fígado e dos espaços subfrênicos podem ser causadas por *E. histolytica* (amebíase extraintestinal). A amebíase extraintestinal pode ocorrer na ausência de qualquer história de infecção intestinal sintomática. A amostra deve ser coletada das margens do abscesso hepático ao invés do centro necrótico. A primeira porção removida geralmente tem uma aparência branco-amarelada e raramente contém amebas. As últimas porções, que

são avermelhadas, têm maiores chances de conterem organismos. Devem ser retiradas pelo menos duas porções separadas. Após a aspiração, o colapso dos abcessos e o subsequente influxo de sangue muitas vezes liberam amebas dos tecidos. Aspirações subsequentes podem apresentar maiores chances de revelarem organismos. O material aspirado deve ser transportado imediatamente para o laboratório.

Escarro

Ocasionalmente, parasitos intestinais podem ser detectados no escarro. Estes organismos incluem as larvas de *Ascaris, Strongyloides* e ancilostomídeos, rostros de cestoides e protozoários intestinais como *E. histolytica* e espécies de *Cryptosporidium*. O exemplar deve ser escarro profundo, e não saliva primária, devendo ser entregue imediatamente no laboratório. O exame microscópico deve incluir preparações montadas a fresco em salina e preparações de coloração permanente.

Urina

O exame de amostras de urina pode ser útil no diagnóstico de infecções causadas por *Schistosoma haematobium* (ocasionalmente outras espécies também) e *Trichomonas vaginalis*. A detecção de ovos na urina pode ser realizada usando detecção direta ou concentração empregando a técnica da sedimentação por centrifugação. Os ovos podem ficar presos em muco ou pus e estão presentes com mais frequência nas últimas gotas de urina que em amostras obtidas no início do processo de micção. A produção de ovos de *Schistosoma* varia e por isso os exames devem ser realizados ao longo de vários dias. *T. vaginalis* pode ser encontrado no sedimento urinário de pacientes de ambos os sexos.

Amostras Urogenitais

Estas amostras são coletadas quando há suspeita de infecção por *T. vaginalis*. A identificação baseia-se no exame de preparações a fresco de secreção vaginal, uretral e prostática ou sedimento de urina. As amostras devem ser colocadas em frascos contendo um pequeno volume de salina a 0,85% e enviadas imediatamente ao laboratório para serem examinadas. Se nenhum organismo for detectado nos exames direto a fresco, devem ser realizadas culturas.

Infecções Parasitárias do Sangue e dos Tecidos

Parasitos localizados no sangue ou nos tecidos do hospedeiro são mais difíceis de serem detectados que parasitos intestinais e urogenitais. O exame microscópico de esfregaços sanguíneos é um meio direto e útil para se detectar parasitos maláricos, tripanossomas e microfilárias. Infelizmente, como a concentração de organismos muitas vezes é flutuante, é necessário que se faça a coleta de múltiplas amostras durante vários dias. A realização de ambos, exame direto a fresco (microfilárias e tripanossomas) e esfregaços sanguíneos espessos e delgados permanentemente corados, é o principal suporte do diagnóstico. O exame de amostras de escarro pode revelar ovos de helmintos (parasitos no pulmão) ou larvas (*Ascaris* e espécies de *Strongyloides*) após o emprego de técnicas de concentração apropriadas. A biópsia da pele (oncocercíase) ou de um músculo (triquinose) pode ser necessária para o diagnóstico de certas infecções por nematoides (Tab. 79-1).

Esfregaços Sanguíneos

O diagnóstico clínico das doenças parasitárias como malária, leishmaníase, tripanossomíase e filaríase fundamenta-se em grande parte na coleta de amostras de sangue realizadas no momento certo e no exame microscópico competente de esfregaços sanguíneos espessos e delgados preparados e corados adequadamente. O melhor momento para a coleta de sangue para exames parasitológicos varia de acordo com o parasito que se busca em particular.

Como a malária é uma das poucas infecções parasitárias que pode ser agudamente incompatível com a vida, a coleta de sangue e o exame dos esfregaços sanguíneos devem ser realizados imediatamente caso o diagnóstico apresente suspeitas. Os laboratórios que oferecem este serviço devem estar preparados para o atendimento de 24 horas e 7 dias por semana. Como os níveis de parasitemia podem estar baixos ou flutuarem, é recomendado que se faça a repetição da obtenção dos esfregaços sanguíneos bem como de seu exame em 6, 12 e 24 horas após a amostragem inicial. A detecção de tripanossomas no sangue é possível algumas vezes durante a fase inicial aguda da doença. O *Trypanosoma cruzi* (Doença de Chagas) também pode ser detectado durante os períodos febris subsequentes. Após vários meses a um ano, os tripomastigotos da tripanossomíase africana (*Trypanosoma brucei rhodesiense* e *T. b. gambiense*) são melhor demonstrados no fluido espinhal que no sangue. As amostras de sangue para detecção de microfilárias noturnas (*W. bancrofti* e *Brugia malayi*) devem ser obtidas entre as 10 horas da noite e as 4 horas da manhã, enquanto as amostras para pesquisa de *Loa loa* diurna são obtidas ao redor do meio-dia.

Dois tipos de esfregaços sanguíneos são preparados para o diagnóstico de infecções por parasitos do sangue: esfregaços delgados e espessos (gota espessa). Embora preparações de exame direto a fresco do sangue possam ser examinadas para a pesquisa de parasitos móveis (microfilária e tripanossomas), a maioria dos laboratórios procede diretamente ao preparo dos esfregaços delgados e espessos para coloração. No esfregaço delgado, o sangue é espalhado sobre a lâmina em uma fina camada (células únicas), e as hemácias permanecem intactas após a coloração. No esfregaço espesso (gota espessa), as hemácias são lisadas antes da coloração e somente as células brancas, plaquetas e os parasitos (caso presentes) são visíveis. Os esfregaços espessos permitem que uma quantidade maior de sangue seja examinada, ao mesmo tempo que aumenta a possibilidade de detectar infecções leves. Infelizmente, um aumento na distorção dos parasitos torna a identificação das espécies no esfregaço espesso particularmente difícil. O uso adequado desta técnica geralmente requer um grau considerável de competência e de experiência.

Ocasionalmente, outros procedimentos de concentração do sangue podem ser utilizados para a detecção de infecções brandas. Métodos alternativos de concentração para detectar parasitos no sangue incluem o uso de centrifugação do micro-hematócrito, o exame de preparações da camada leucoplaquetária, a técnica da centrifugação tríplice para detecção de pequenos números de tripanossomas e a técnica que utiliza uma membrana de filtração para detecção da microfilária.

Estando prontos, os esfregaços devem ser corados. A coloração de parasitos do sangue mais segura é obtida através do corante de Giemsa tamponado em pH 7,0 a 7,2, embora algumas vezes possam ser utilizadas colorações especiais para identificar espécies de microfilárias. A coloração de Giemsa é particularmente útil para corar protozoários (malária e tripanossomas), entretanto, a camada de microfilárias nem sempre é corada por Giemsa. Neste caso, podem ser empregadas colorações derivadas da hematoxilina.

Outras Amostras que não Sangue

Pode ser necessário examinar amostras de tecido e de fluidos corporais que não o sangue, com base na apresentação clínica e em considerações epidemiológicas. Esfregaços e concentrados de líquido cerebroespinhal são necessários para a detecção de trofozoítas de *Naegleria fowleri*, tripanossomas e larvas do nematoide *Angiostrongylus cantonensis* no sistema nervoso central. O líquido cerebroespinhal deve ser prontamente examinado porque as formas trofozoítas destes parasitos são muito lábeis (tripanossomas) ou tendem a se unir, perdendo a motilidade (*Naegleria fowleri*). O exame de esfregaços por aposição tecidual de linfonodos, material de biópsia hepática, baço ou medula óssea corados pela coloração de Giemsa são muito úteis na detecção de parasitos **intracelulares** como espécies de *Leishmania* e *Toxoplasma gondii*. De modo semelhante, biópsias de vários tecidos constituem meios excelentes para a detecção de infecções localizadas ou disseminadas que sejam causadas por protozoários e helmintos parasitas. Preparações de retalhos cutâneos em salina são muito úteis na detecção de microfilárias de *Onchocerca volvulus*. O exame de escarro (induzido) é indicado em casos onde há suspeita de paragonimíase pulmonar (trematódeo no pulmão) ou formação de abscesso com *E. histolytica*. As larvas de *Strongyloides* podem ser detectadas no escarro na síndrome de hiperinfecção.

Alternativas à Microscopia

Na maioria dos casos, o diagnóstico de doenças parasitárias é feito no laboratório através de detecção microscópica e identificação morfológica do parasito em amostras clínicas. Em alguns casos, não é possível detectar o parasito nem mesmo através de uma pesquisa cuidadosa devido ao baixo número ou à ausência de organismos no material clínico disponível prontamente. Nestes casos, o clínico precisará do apoio de métodos alternativos baseados na detecção de materiais derivados do parasito (antígenos e ácidos nucleicos), ou através da resposta do hospedeiro à invasão parasitária (anticorpos). Abordagens adicionais utilizadas em determinadas infecções incluem cultura, inoculação em animais e xenodiagnóstico.

Imunodiagnóstico

Métodos imunodiagnósticos têm sido utilizados há muito tempo para auxiliar no diagnóstico das doenças parasitárias. A maioria destes testes sorológicos baseia-se na detecção de respostas específicas de anticorpos à presença do parasito. As abordagens analíticas incluem o uso da aglutinação clássica, fixação do complemento e de métodos de gel difusão, como ensaios mais modernos de imunofluorescência, enzima imunoensaio (EIE) e *Western blot*. A detecção de anticorpo é útil e indicada para o diagnóstico de muitas doenças causadas por protozoários (p. ex., amebíase extraintestinal, tripanossomíase sul-americana, leishmaníase, malária adquirida por transfusão e toxoplasmose) e por helmintos (p. ex., clonorquíase, cisticercose, hidatiose, filaríase linfática, esquistossomíase, triquinelose e toxocaríase). Há um problema relacionado à detecção de anticorpos como um procedimento diagnóstico: devido à persistência dos anticorpos durante meses e até anos após a infecção aguda, a demonstração de anticorpos raramente pode diferenciar a infecção aguda da crônica.

Contrastando com a detecção de anticorpos, a quantificação de antígenos circulantes do parasito no soro, urina ou nas fezes pode fornecer um marcador mais adequado da presença de uma infecção ativa e também pode indicar a carga parasitária. Do mesmo modo, demonstrações de **antígenos de parasitos** específicos em líquidos de lesão, como material de um abscesso amebiano ou líquido de um cisto hidático, podem fornecer um diagnóstico definitivo do organismo infectante. Os ensaios mais comumente utilizados para detectar antígenos empregam os princípios do EIE, entretanto, os métodos de imunofluorescência, radioimunoensaio e *Western blot* também têm provado serem úteis. Atualmente muitos ensaios comerciais para detecção de antígenos parasitários encontram-se disponíveis sob a forma de *kits*. Estes incluem ensaios de EIE e imunocromatografia para detecção de *Giardia, E. histolytica, E. dispar* e espécies de *Cryptosporidium* nas fezes, EIE para detecção de *T. vaginalis* em amostras urogenitais, e ensaios de imunofluorescência (IF) para a detecção de espécies de *Giardia, Cryptosporidium* e *Trichomonas*. Vários testes de detecção de antígenos também estão disponíveis para a detecção de parasitos do sangue (malária, filaríase) em conjunto com o exame microscópico de esfregaços sanguíneos espessos e delgados. A maioria dos *kits* não está disponível nos Estados Unidos. A sensibilidade e a especificidade descritas para a maioria destes *kits* são boas. As vantagens destas abordagens são a economia de trabalho e um potencial aumento da sensibilidade. As desvantagens são a perda da habilidade parasitológica e o fato de que em alguns casos os ensaios testam apenas a presença de um único organismo, enquanto o exame microscópico convencional possibilita o reconhecimento de muitos parasitos diferentes. Embora os ensaios para detecção de antígenos tenham sido descritos para muitos outros parasitos, sua disponibilidade é restrita. A disponibilidade de um amplo painel de ensaios para detecção de antígenos potencialmente tornaria o uso de uma triagem de antígenos uma alternativa viável ao tedioso exame microscópico.

Abordagens de Diagnóstico Molecular

Além dos métodos imunológicos, o diagnóstico das doenças parasitárias tem aumentado consideravelmente pela aplicação de métodos de diagnóstico molecular baseados na **hibridização de ácido nucleico**. Esta abordagem beneficia-se do fato de todos os organismos conterem sequências de ácidos nucleicos que podem ser utilizadas em um ensaio de hibridização para distinguir variedades, espécies e gêneros. Dessa forma, os parasitos podem ser simultaneamente detectados e identificados no material clínico, dependendo da especificidade da sonda de ácido nucleico utilizada. Outra vantagem dos sistemas que se baseiam na detecção de ácidos nucleicos é serem independentes das condições imunológicas em que o paciente se encontra ou de seu histórico de infecções prévias, podendo identificar infecções ativas. Por fim, o desenvolvimento de técnicas de amplificação do alvo, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), proporciona uma excelente sensibilidade, permitindo a detecção de até mesmo um único organismo em uma amostra biológica (Tabela 79-4).

Tabela 79-4 Exemplos de Técnicas para Detecção de Infecções Parasitárias Baseadas em Análises de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Tabela 79-4. Exemplos de Técnicas para Detecção de Infecções Parasitárias Baseadas em Análises de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Organismo	Gene	Sensibilidade do Alvo (%)	Comentário
Plasmodium vivax	Gene do circumsporozoíta	91-96	São utilizadas amostras de gotas de sangue secas em papel filtro.
Espécies de *Leishmania*	Sequência de minicírculo kDNA	87-100	Os resultados são comparados com cultura e microscopia de amostras de biópsia.
Trypanosoma cruzi	Sequência de minicírculo kDNA	100	Os resultados são comparados com sorologia e xenodiagnóstico de amostras de sangue.
Toxoplasma gondii	Gene B1 repetitivo Antígeno de superfície principal P30 Sequências de DNA recombinantes	46-99	PCR de LBA, sangue, líquido cerebroespinhal e líquido amniótico apresenta grande potencial para diagnóstico da toxoplasmose.
Entamoeba histolytica	Sequência de repetição em tandem P145 SSU rRNA	96 >90	Os resultados são comparados com o diagnóstico microscópico de amostras de fezes. O teste pode distinguir cepas patogênicas de não patogênicas.

PCR, Reação em Cadeia da Polimerase; LBA, Lavado Broncoalveolar; SSU rRNA, Subunidade Pequena de RNA Ribossômico.

Os métodos baseados em ácidos nucleicos podem ser utilizados para detectar parasitos não apenas em amostras clínicas de sangue, fezes ou tecidos de pacientes infectados, mas também em seus vetores naturais. A aplicação do *fingerprinting* de DNA permite a identificação precisa do parasito ao nível de subespécies ou variedade, e tem um valor considerável em estudos epidemiológicos. Ensaios que utilizam sondas de ácido nucleico vão desde métodos de *dot blot* e hibridização *Southern* até hibridização *in situ* em tecidos e amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) acoplada à hibridização em fase sólida ou em solução de fases. O uso de técnicas de marcação não isotópica do DNA aumenta o potencial de aplicabilidade destes ensaios no mundo inteiro. *Kits* diagnósticos baseados nestes métodos não estão amplamente disponíveis, entretanto vários estão em desenvolvimento e podem estar disponíveis para o uso clínico em futuro próximo. Um simples ensaio com sonda de ácido nucleico para *T. vaginalis* em amostras urogenitais está agora comercialmente disponível sob a forma de *kit* para uso em clínicas e consultórios médicos.

Independentemente do formato do ensaio, as sondas e técnicas de amplificação de

ácidos nucleicos atualmente estão sendo usadas em pesquisa para detecção e identificação de numerosas espécies e variedades, incluindo as de *Plasmodium* e *Leishmania, T. cruzi, E. histolytica* e *Toxoplasma gondii* (Tab. 79-4). Deve-se entender que a aplicação dos métodos de hibridização de ácido nucleico para o diagnóstico de doenças parasitárias está no início. A utilização disseminada destas técnicas necessita de maior desenvolvimento de procedimentos simples para o manuseio e preparo das amostras e precisará passar extensivamente por testes clínicos e de campo antes desses ensaios serem amplamente empregados como auxiliares do diagnóstico clínico.

Cultura

Apesar da cultura ser o padrão para o diagnóstico da maioria das doenças infecciosas, não é comumente utilizada no laboratório de parasitologia. Certos protozoários parasitas, como *T. vaginalis, E. histolytica*, espécies de *Acanthamoeba, Naegleria fowleri* espécies de *Leishmania, T. cruzi* e *Toxoplasma gondii*, podem ser cultivados com relativa facilidade. Entretanto, a cultura de outros parasitos não tem sido bem-sucedida ou é muito difícil ou laboriosa para ter um valor prático nos esforços do diagnóstico de rotina.

Inoculação em Animais

A inoculação em animais é um meio sensível de detectar uma infecção causada por parasitos do sangue e dos tecidos, como *T. b. gambiense, T. b. rhodesiense, T. cruzi* , espécies de *Leishmania* e *T. gondii*. Embora útil, esta abordagem não é prática para a maioria dos laboratórios de diagnóstico e é largamente confinada aos cenários de pesquisa.

Xenodiagnóstico

A técnica de xenodiagnóstico emprega o uso de vetores artrópodes produzidos em laboratório para detectar baixos níveis de parasitos em indivíduos infectados. Classicamente, esta abordagem era usada no diagnóstico da Doença de Chagas, fazendo com que um barbeiro não infectado se alimentasse em um indivíduo com suspeita de ter a doença. Subsequentemente, o barbeiro era dissecado e examinado microscopicamente para observar a presença de estágios do desenvolvimento de *T. cruzi*. Embora esta técnica possa ser usada em áreas endêmicas, é óbvio que não é prática para a maioria dos laboratórios de diagnóstico.

Questões

1. Por que é importante entender o ciclo de vida dos parasitos quando do diagnóstico de doenças parasitárias?

1. O ciclo de vida dos parasitos define a forma e a localização do parasito no hospedeiro. Essas características determinam o tipo de amostra a ser coletada para o diagnóstico, quando a amostra deve ser coletada e o tipo de método de diagnóstico ser utilizado para a amostra.

2. Quais fatores podem confundir o uso da microscopia no diagnóstico de uma doença parasitária?

2. Visto que a maioria dos exames e identificações parasitológicas é baseada integralmente no reconhecimento das características morfológicas dos organismos, condições que podem obscurecer ou distorcer o aspecto morfológico do parasito podem resultar em identificação errônea ou diagnóstico equivocado. Por exemplo, a coleta e a manipulação inadequadas de uma amostra antes de sua chegada ao laboratório podem resultar em lise de protozoários parasitas. Da mesma forma, a contaminação de espécimes fecais com urina pode destruir trofozoítas móveis e provocar a eclosão de ovos de helmintos. Amostras fecais não devem conter bário, bismuto ou outros medicamentos contendo óleo mineral, antibióticos, antimaláricos ou outras substâncias químicas, porque tais espécimes comprometem a detecção de parasitos intestinais.

3. Descreva considerações importantes para a coleta e a submissão de uma amostra de fezes para o exame parasitológico.

3. Amostras fecais devem ser coletadas em frascos limpos, com abertura ampla, impermeáveis e hermeticamente fechados para assegurar o teor de umidade adequado. As amostras devem ser livres de substâncias interferentes apontadas na questão 2 acima. Amostras fecais frescas devem ser levadas ao laboratório dentro de 2 horas após a coleta ou devem ser preservadas com formalina 10%, álcool polivinílico ou acetato de sódio-formalina se o transporte for prolongado. Amostra fecais podem ser estocadas a 4°C mas não devem ser incubadas ou congeladas. Para o exame parasitológico de rotina um total de três amostras separadas coletadas por um período não superior a 10 dias é recomendado. O exame parasitológico das fezes de pacientes que apresentam diarreia adquirida no hospital não é recomendado, considerando a rara frequência de aquisição de infecções parasitárias no ambiente hospitalar.

4. Quais parasitos podem ser detectados no sangue?

4. Parasitos detectados no sangue incluem *Plasmodium, Babesia, Trypanosoma* e espécies de filárias.

5. Quais são as alternativas à microscopia no diagnóstico de infecções parasitárias?

5. As alternativas à microscopia incluem sorologia (detecção de antígeno e anticorpo), diagnóstico molecular, cultura, inoculação em animais e xenodiagnóstico.

Bibliografia

Amin OM. Seasonal prevalence of intestinal parasites in the United States during 2000. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;66:799-803.

Branda JA, et al. A rational approach to the stool ova and parasite examination. *Clin Infect Dis*. 2006;42:972-978.

Deplazes P, Garcia LS, Shimizu R, et al. Specimen collection, transport, and processing: Parasitology. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Fotedar R, et al. Laboratory diagnostic techniques for Entamoeba species. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:511-532.

Garcia LS, Schimizu RY, Bernard CN. Detection of Giardia lamblia, Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar, and Cryptosporidium parvum antigens in human fecal specimens using the Triage Parasite Panel enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*. 2000;38:3337-3340.

Garcia LS, Shimizu RY, Paltridge GP, et al. Algorithms for detection and identification of parasites. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:66-78.

Rosenblatt JE. Clinical importance of adequately performed stool ova and parasite examinations. *Clin Infect Dis*. 2006;42:979-980.

Valenstein P, Pfaller M, Yungbluth M. The use and abuse of routine stool microbiology: A College of American Pathologists Q-Probes study of 601 institutions. *Arch Pathol Lab Med*. 1996;120:206-211.

80 Agentes Antiparasitários

A abordagem quimioterápica para o controle de doenças infecciosas claramente tem causado alterações na face da medicina. Infelizmente, poucos agentes anti-infecciosos que demostraram eficácia contra bactérias patogênicas foram bem-sucedidos contra parasitos. Muitas vezes os clínicos continuam recorrendo aos agentes antiparasitários da era pré-antibióticos. Estes e alguns outros novos agentes permanecem limitados quanto à eficácia e são relativamente tóxicos. Muitos agentes antiparasitários requerem administração prolongada ou parenteral podendo ser eficientes somente em certos estágios de uma doença. Felizmente, dos muitos novos agentes que apareceram nos últimos 5 a 10 anos, vários constituem avanços significativos no tratamento das doenças parasitárias. Em cada caso, os fármacos previamente disponíveis eram tóxicos e muitas vezes ineficazes.

As grandes dificuldades no tratamento das doenças parasitárias se originam no fato de os parasitos serem organismos **eucarióticos** e, por isso, mais semelhantes ao hospedeiro humano que as bactérias patogênicas procarióticas de tratamento bem-sucedido. Além disso, a infecção crônica de curso prolongado, os ciclos biológicos complexos e os múltiplos estágios de desenvolvimento de muitos parasitos são fatores que dificultam uma intervenção quimioterápica efetiva. Em países em desenvolvimento, onde a maioria das doenças parasitárias ocorre, fatores agravantes adicionais incluem (1) a existência de infecções múltiplas e a probabilidade elevada de reinfecção; (2) o grande número de pessoas com comprometimento imunológico devido à desnutrição e à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana; e (3) a influência esmagadora da pobreza e de condições sanitárias precárias que facilitam a transmissão de muitas infecções parasíticas. Apesar das abordagens quimioterápicas poderem ser usadas efetivamente para tratar e prevenir muitas infecções parasitárias, alguns agentes apresentam efeitos colaterais ou eventualmente encontram resistência (microbiana e social). A maioria dos agentes antiparasitários é muito cara para ser usada amplamente em países em desenvolvimento. Por isso, a abordagem global para prevenção e tratamento das doenças parasitárias deve envolver várias estratégias, incluindo melhorias de higiene e saneamento, controle dos vetores das doenças, **vacinação** caso esteja disponível (grande indisponibilidade para doenças parasitárias) e administração de quimioterapia segura e eficiente para fins profiláticos e terapêuticos. Notavelmente a quimioterapia de larga escala administrada 1 a 3 vezes por ano em regiões endêmicas tem reduzido a transmissão, como as taxas de morbidade e mortalidade de certas infecções como filaríase linfática, oncocercíase, esquistossomíase e causadas por nematoides intestinais. Atualmente estas estratégias também devem incluir esforços para diminuir a transmissão da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana.

Alvos para a Ação de Fármacos Antiparasitários

Como mencionado anteriormente, parasitos são organismos eucarióticos e por isso apresentam mais similaridades que diferenças em relação ao homem. Consequentemente, muitos agentes antiparasitários atuam em vias (síntese de ácido nucleico, metabolismo de carboidratos) ou alvos (função neuromuscular) compartilhados pelo parasito e seu hospedeiro. Por essa razão, o desenvolvimento de fármacos antiparasitários seguros e eficazes com base nas **diferenças** bioquímicas existentes entre o parasito e o hospedeiro tem sido difícil. A **toxicidade diferencial** comumente é alcançada através de ingestão preferencial, alteração metabólica do fármaco pelo parasito ou diferenças na suscetibilidade de sítios funcionalmente equivalentes no parasito e no hospedeiro. Felizmente, conforme nosso conhecimento sobre biologia básica e bioquímica de parasitos e sobre mecanismos de ação de agentes antimicrobianos tem aumentado, nossa capacidade de reconhecer alvos parasito específicos em potencial também tem melhorado. Cada vez mais, pesquisadores estão explorando projetos de genoma de protozoários parasitas recém-concluídos para identificar potenciais alvos para fármacos para a triagem em larga escala. Exemplos de estratégias que exploram as diferenças entre parasito e hospedeiro são fornecidos na Tabela 80-1. A discussão mais detalhada será feita conforme os agentes específicos forem tratados.

Tabela 80-1 Estratégias Quimioterápicas que Exploram as Diferenças entre Parasito e Hospedeiro

Único Sítio de Ataque	**Fármaco**	**Organismo**
Mecanismo de concentração do fármaco único ao parasito	Cloroquina	Espécies de *Plasmodium*
Via do ácido fólico (o parasito não é capaz de utilizar folato exógeno)	Pirimetamina ou trimetoprim-sulfametoxazol	Espécies de *Plasmodium* ou de *Toxoplasma*
Inibidor dos mecanismos dependentes de tripanotiona para redução de grupos tiol oxidados	Arsênicos, difluorometilornitina	Tripanossomas
Interferência com neuromediadores únicos aos parasitos	Pamoato de pirantel, dietilcarbamazina	Espécies de *Ascaris*
Interage com os canais de cloreto, resultando em hiperpolarização das células, paralisia e morte dos parasitos	Ivermectina	Filária
Interação com tubulina, única aos parasitos	Benzimidazóis	Muitos helmintos
Inibição da topoisomerase II	Pentamidina	Tripanossomas
Inibição da piruvato ferrodoxina óxido redutase	Nitazoxanida	*Cryptosporidium* e *Giardia*

Resistência a Fármacos

A resistência aos agentes antimicrobianos é considerado importante no tratamento de infecções que resultam de bactérias e fungos patogênicos e certamente desempenha um papel na quimioterapia das doenças parasitárias. Infelizmente, nossa compreensão das bases genéticas e moleculares da resistência à maioria dos agentes antiparasitários ainda é limitada. O maior entendimento da epidemiologia e dos mecanismos de resistência aos fármacos pode fornecer uma orientação valiosa para uma melhor utilização dos compostos existentes e para o desenvolvimento de novos agentes. Grande parte da informação sobre os mecanismos moleculares da resistência aos fármacos em parasitos vem de estudos realizados com plasmódios. A resistência à cloroquina, o principal agente antimalárico, parece ser causada pela existência de um mecanismo de efluxo ativo da cloroquina semelhante àquele que produz o efluxo rápido de fármacos anticancerígenos observado em células de mamíferos com resistência a múltiplos fármacos. Além disso, o desenvolvimento de resistência a compostos antifolato, como a pirimetamina, se deve a uma série de mutações na enzima diidrofolato redutase-timidina sintetase combinada do parasito. Estes esforços têm levado a novos estudos e melhorado a compreensão dos mecanismos de resistência a fármacos em *Trichomonas* (metronidazol), *Leishmania* (antimoniais pentavalentes), tripanossomas africanos (melarsoprol, pentamidina) e esquisitossomas (oxamniquina). Novas ideias sobre os mecanismos de ação e resistência aos agentes antiparasitários são necessárias para otimizar a eficiência da quimioterapia antiparasitária.

Agentes Antiparasitários

Embora o número de agentes antiparasitários seja pequeno em relação ao vasto arsenal de agentes antimicrobianos, a lista está se expandindo (Tab. 80-2). Certamente em muitos casos, o objetivo da terapia antiparasitária é semelhante ao da terapia antimicrobiana: erradicar o organismo rápida e corretamente. Entretanto, em muitos casos os agentes e regimes de tratamento utilizados para as doenças parasitárias são designados apenas para diminuir a carga de parasitos, para prevenir complicações sistêmicas da infecção crônica ou ambas as ações. Desta forma, os objetivos da terapia antiparasitária, particularmente conforme empregada em áreas endêmicas, pode ser diferente daqueles usualmente considerados para a terapia da infecção microbiana nos Estados Unidos ou em outros países em desenvolvimento. Devido à significativa toxicidade de muitos destes agentes, a necessidade do tratamento deve ser sempre confrontada contra a toxicidade do fármaco. Muitas vezes a decisão de não realizar a terapia pode estar correta, particularmente quando o fármaco pode causar efeitos adversos severos.

Tabela 80-2 Mecanismo de Ação e Indicações Clínicas para os Principais Agentes Antiparasitários

Tabela 80-2. Mecanismo de Ação e Indicações Clínicas para os Principais Agentes Antiparasitários

Classe do Fármaco	Mecanismo de Ação	Exemplos	Indicações Clínicas
Agentes Antiprotozoários			
Metais pesados: arsênicos e antimoniais	Inativam grupos sulfidril	Melarsoprol, estibogluconato de sódio, antimoniato de meglumina	Tripanossomíase, leishmaníase
Análogos de aminoquinolina	Se acumulam nas células parasitadas. Interferem com a replicação do DNA. Se ligam à ferriprotoporfirina IX. Elevam o pH intravesicular. Interferem com a digestão da hemoglobina	Cloroquina, mefloquina, quinina, primaquina	Profilaxia e terapia da malária. Cura radical (exoeritrocítica - somente primaquina)
Antagonistas de ácido fólico	Inibem a diidropteroato sintetase e a diidrofolato redutase	Sulfonamidas, pirimetamina, trimetoprim	Toxoplasmose, malária, ciclosporíase
Inibidores da síntese proteica	Bloqueiam a síntese de peptídeos ao nível do ribossomo	Clindamicina, espiramicina, paromomicina, tetraciclina, doxiciclina	Malária, babesiose, amebíase, criptosporidiose
Diaminas	Se ligam ao DNA. Interferem com o consumo e a função das poliaminas	Pentamidina	Pneumocistose, leishmaníase, tripanossomíase
Nitroimidazóis	Incerto. Interagem com o DNA. Inibem o metabolismo da glicose e interferem na função mitocondrial	Metronidazol, benzimidazol, tinidazol	Amebíase, giardíase, tricomoníase
Quinolonas	Inibem a DNA girase	Ciprofloxacina	Malária
Sesquiterpenos	Reagem com o heme, causando danos por ação de radicais livres às membranas do parasito	Artemisinina	Malária
Análogo da ornitina	Inibe a ornitina decarboxilase. Interfere com o metabolismo das poliaminas.	Difluorometilornitina	Tripanossomíase africana
Inibidores da síntese de ácidos nucleicos	Inibem enzimas da via de recuperação de purina	Alopurinol	Leishmaníase
Acetanilida	Desconhecido	Diloxanida furoato	Amebíase intestinal
Naftilamina sulfatada	Inibe a *sn*-glicerol fosfato oxidase e a glicerol 3-fosfato desidrogenase, causando diminuição da síntese de ATP	Suramina	Tripanossomíase africana
Fenantrenemetanóis	Ligam-se à ferriprotoporfirina IX. Afetam a mitocôndria.	Halofantrina	Malária

Indivíduos com comprometimento imunológico apresentam um problema em particular relacionado à quimioterapia antiparasitária. De um lado, a **profilaxia**, como a administrada na toxoplasmose, pode ser efetiva na prevenção da infecção. Entretanto, uma vez que a infecção tenha se estabelecido, uma cura radical poderá não ser possível e a **terapia supressora** poderá ser indicada. Em algumas doenças, como a criptosporidiose e a microsporidiose, não há uma terapia (curativa) efetiva e deve-se tomar cuidado para evitar uma toxicidade desnecessária ao se prestar assistência de suporte ao paciente.

O seguimento deste capítulo fornece uma revisão sobre as principais classes de agentes antiprotozoários e anti-helmínticos. Estes e outros agentes antiparasitários, seus mecanismos de ação e suas indicações clínicas estão listados na Tabela 80-2. O tratamento de infecções específicas é discutido nos capítulos que tratam dos parasitos. A Bibliografia lista várias revisões excelentes para se obter informações mais completas e para discussão dos agentes

antiparasitários disponíveis.

Agentes Antiprotozoáricos

Similares aos agentes antibacterianos e antifúngicos, os agentes antiprotozoários geralmente são direcionados a células jovens, em crescimento, que se proliferam rapidamente. Os agentes mais comuns deste tipo atuam na síntese de ácidos nucleicos e de proteínas ou em vias metabólicas específicas (p. ex., metabolismo do folato) que são unicamente de protozoários parasitas.

Metais Pesados

Os metais pesados usados no tratamento de infecções parasitárias incluem arsênico (melarsoprol) e compostos de antimônio (estibogluconato de sódio, antimoniato de meglumina). Acredita-se que estes agentes possam oxidar grupos sulfidril de enzimas, que são catalisadores essenciais do metabolismo de carboidratos. O melarsoprol inibe a enzima piruvato quinase de parasitos, causando uma diminuição nas concentrações de adenosina trifosfato (ATP), piruvato e fosfoenolpiruvato. Os arsênicos também inibem a *sn*-glicerol 3-fosfato oxidase, que é necessária para a regeneração de nicotinamida adenina dinucleotídeo em tripanossomas, mas não é encontrada em células de mamíferos. Os antimoniais, estibogluconato de sódio e antimoniato de meglumina inibem a enzima glicolítica fosfofrutoquinase e certas enzimas do ciclo de Krebs em organismos de *Leishmania*. Estas substâncias também parecem intervir no metabolismo da glutationa e da tripanotiona, resultando em aumento da sensibilidade dos organismos ao estresse oxidativo. Em cada situação, a inibição do metabolismo do parasito é **parasiticida**. Infelizmente, os compostos de metais pesados são tóxicos para o hospedeiro, como para o parasito. A toxicidade é maior para as células com maior atividade metabólica, como as células nervosas, tubulares renais, intestinais e células-tronco da medula óssea. Sua toxicidade diferencial e seu valor terapêutico estão grandemente associados ao aumento da ingestão pelo parasito e sua intensa atividade metabólica.

Melarsoprol é o fármaco de escolha para a tripanossomíase com envolvimento do sistema nervoso central. Este fármaco pode penetrar a barreira hematoencefálica e é efetivo em todos os estágios da tripanossomíase. Os compostos antimoniais são restritos ao controle da leishmaníase. O antimoniato de meglumina e o estibogluconato de sódio são agentes importantes para o tratamento da leishmaníase e são ativos contra todas as formas de doença. Geralmente é necessária uma terapia prolongada para casos de leishmaníase disseminada, sendo comum a ocorrência de recaídas. Apesar do uso mundial dos antimoniais para tratamento da leishmaníase por mais de 6 décadas com poucas evidências de resistência, a aquisição de resistência tem se tornado um problema clínico nos últimos 10 anos. Esta resistência está unicamente associada à *Leishmania donovani*, causadora da leishmaniose visceral na região hiperendêmica de Bihar, Índia. O mecanismo de resistência não é completamente conhecido, mas parece envolver a ativação de uma bomba de efluxo na membrana plasmática do organismo, levando ao transporte do fármaco para fora das células.

Derivados de Quinolina

Os derivados de quinolina incluem as 4-aminoquinolinas (cloroquina), os alcaloides (quinina, quinidina), as 8-aminoquinolinas (primaquina) e os compostos sintéticos de quinolina (mefloquina, halofantrina). Todos estes compostos apresentam atividade antimalárica e se acumulam preferencialmente em hemácias parasitadas. Vários mecanismos de ação em potencial têm sido propostos, incluindo (1) ligação e interferência na replicação do DNA; (2) ligação à ferriprotoporfirina IX liberada da hemoglobina de eritrócitos infectados, produzindo um complexo tóxico; e (3) aumento do pH em vesículas ácidas intracelulares do parasito,

interferindo com sua habilidade para degradar a hemoglobina. A quinina, quinidina, as 4-aminoquinolinas e as quinolinas sintéticas destroem rapidamente o estágio eritrocítico da malária e por isso podem ser utilizadas **profilaticamente** para suprimir a doença clínica, ou **terapeuticamente** para interromper um ataque agudo. As 8-aminoquinolinas (p. ex., primaquina) se acumulam nas células dos tecidos e destroem os estágios extraeritrocíticos (hepáticos) da malária, resultando em uma cura radical da infecção.

A cloroquina permanece o fármaco de escolha para a profilaxia e o tratamento de cepas suscetíveis da malária. A cloroquina é ativa contra todas as quatro espécies de *Plasmodium* que infectam o homem (*P. falciparum, P. vivax, P. ovale* e *P. malariae*) e é bem tolerada, barata e efetiva quando administrada por via oral. Infelizmente, a resistência de *P. falciparum* à cloroquina é grande na Ásia e na América do Sul, limitando muito seu uso. A resistência de *P. vivax* à cloroquina também é observada em Papua, Nova Guiné, Ilhas Salomão, Indonésia e Brasil.

A quinina e a quinidina são primariamente utilizadas para tratar a infecção cloroquina-resistente por *P. falciparum*. Presumivelmente, estes fármacos também são ativos contra as raras cepas cloroquina-resistentes de *P. vivax*. A quinina é usada oralmente apenas no tratamento de ataques moderados e por via endovenosa no tratamento de ataques agudos com *P. falciparum* resistente a vários fármacos. Ambas, quinina e quinidina são tóxicas e o efeito parasiticida que exercem não ocorre rapidamente. Por isso, estes fármacos não devem ser administrados isoladamente, mas sim combinados à sulfonamida ou à tetraciclina com atividade antimalárica.

A mefloquina é um agente antimalárico 4-quinolinametanol usado na profilaxia e no tratamento da malária falcípara. Este fármaco apresenta um grau de atividade elevado contra a maioria dos parasitos cloroquina-resistentes. Infelizmente, cepas de malária falcípara resistentes à mefloquina têm sido relatadas no sudeste da Ásia e na África.

A halofantrina é um composto sintético de fenantreno-metanol com eficácia comprovada no tratamento da malária causada por *P. vivax* e *P. falciparum*. Devido a sua toxicidade, não é recomendada para a profilaxia da malária. A holofantrina é mais ativa que a mefloquina, porém entre elas ocorre resistência cruzada. É considerada a segunda escolha para o tratamento da malária devido ao seu custo elevado e à toxicidade.

Antagonistas de Ácido Fólico

Semelhante a outros organismos, protozoários parasitas precisam de ácido fólico para a síntese de ácidos nucleicos, basicamente DNA. Protozoários são incapazes de absorverem folato exógeno e por isso são sensíveis a fármacos que inibem a síntese desta molécula. Os **antagonistas** de ácido fólico úteis no tratamento das infecções causadas por protozoários incluem as diaminopirimidinas (pirimetamina e trimetoprim) e as sulfonamidas. Estes compostos bloqueiam fases isoladas da via do ácido fólico. As sulfonamidas inibem a conversão do ácido aminobenzoico a ácido diidropteroico. As diaminopirimidinas inibem a diidrofolato redutase, bloqueando efetivamente a síntese de tetraidrofolato, um precursor necessário à formação de purinas, pirimidinas e certos aminoácidos. Estes agentes são efetivos em concentrações muito abaixo da concentração necessária para inibir a enzima em mamíferos, de forma a se conseguir seletividade. Quando uma diaminopirimidina é utilizada com sulfonamida, um **efeito sinergístico** é alcançado através do bloqueio de 2 estágios da mesma via metabólica, resultando em uma inibição muito eficiente do crescimento do protozoário.

A diaminopirimidina trimetoprim é usada com sulfametoxazol no tratamento da toxoplasmose. Outra diaminopirimidina, a pirimetamina, tem alta afinidade pela diidrofolato redutase de esporozoários e tem sido muito eficiente quando combinada à sulfonamida no tratamento da malária e da toxoplasmose. A resistência aos antifolatos é devida a mutações pontuais específicas no sítio ativo da diidrofolato redutase do parasito, sendo restrita a espécies de plasmódios.

Inibidores da Síntese de Proteínas

Vários antibióticos que inibem a síntese de proteínas em bactérias também apresentam atividade antiparasitária *in vitro* e *in vivo*. Tais agentes incluem clindamicina, tetraciclina e doxiciclina.

A clindamicina e as tetraciclinas são ativas contra espécies de *Plasmodium*, espécies de *Babesia* e amebas. A doxiciclina é usada na quimioprofilaxia da infecção por *P. falciparum* cloroquina-resistente. A clindamicina pode ser útil no tratamento da toxoplasmose do sistema nervoso central. A espiramicina é recomendada como uma alternativa aos antifolatos no tratamento da toxoplasmose. Embora a espiramicina pareça ser ativa contra espécies de *Cryptosporidium in vitro*, não tem sido clinicamente eficiente contra a criptosporidiose humana. Estudos recentes sugerem que a paromomicina, um aminoglicosídeo mais antigo, pode apresentar efeitos ao menos parcialmente efetivos no tratamento da criptosporidiose. A paromomicina, cuja absorção não ocorre sistemicamente, também é usada como fármaco secundário na amebíase e na giardíase.

Diaminas

A pentamidina, uma diamidina, é um agente relativamente tóxico. A pentamidina é um policátion e pode interferir com o DNA, ou no consumo e função das poliaminas.

A pentamidina é eficiente no tratamento das formas tissulares de leishmania e nas formas iniciais (pré-sistema nervoso central) da tripanossomíase africana. A pentamidina não penetra no sistema nervoso central e não tem utilidade nos estágios mais tardios da infecção por *Trypanosoma brucei gambiense*. A pentamidina também pode inibir a atividade da topoisomerase II do cinetoplasto e pode atuar contra tripanossomas, em parte, através deste mecanismo.

Nitroimidazóis

Os nitroimidazóis incluem o conhecido agente antibacteriano metronidazol, assim como o benzimidazol e o tinidazol. O mecanismo de ação destes compostos é desconhecido. Sugeriu-se que tais compostos inibem a síntese de DNA e de RNA e que também inibem o metabolismo da glicose e interferem na função mitocondrial. O metronidazol se liga a resíduos de guanina e citosina do parasito, causando a perda da estrutura helicoidal e a quebra dos filamentos de DNA.

Os nitroimidazóis apresentam uma excelente penetração nos tecidos do corpo e por isso são particularmente eficientes no tratamento da amebíase disseminada. O metronidazol é o fármaco de escolha para a tricomoníase e é efetivo no tratamento da giardíase. O tinidazol parece ser eficaz e menos mutagênico que o metronidazol; entretanto, ainda não está disponível para o uso nos Estados Unidos.

Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são agentes antimicrobianos representados pelas artemisininas, artemeter e artesunato. Estes agentes reagem com a porção heme, causando **dano por radicais livres** às membranas do parasito. As artemisininas são os compostos antimaláricos mais ativos disponíveis e produzem uma redução fracionada na biomassa do parasito de aproximadamente 10^4 por ciclo assexuado. As artemisininas são eficazes contra trofozoítas jovens e também contra esquizontes em maturação, tanto de *P. vivax* como de *P. falciparum*,

que são estágios menos suscetíveis a quinolinas ou à quinina. Os trofozoítas jovens de estágio mais prematuro são eliminados imediatamente (dentro de 6 a 12 horas) após a exposição às artemisininas. Os derivados de artemisininas também apresentam a vantagem de reduzir gametócitos e, assim, a transmissão. Estes agentes são muito eficientes quando utilizados em combinação com a mefloquina, halofantrina ou lumefantrina no tratamento da malária severa, incluindo a malária causada por *P. falciparum* resistente a vários fármacos. Tratamentos com base em combinações com artemisininas têm sido considerados a melhor terapia para malária falcípara atualmente, combinando compostos não relacionados com diferentes agentes moleculares (e, por isso, com diferentes potenciais mecanismos de resistência) retardando, assim, o surgimento de resistências.

Atovaquona-Proguanil (Malarone®)

A atovaquona é uma hidroxinaftoquinona e o proguanil é um antifolato. A combinação destes dois agentes, Malarone®, é usada na profilaxia e no tratamento da malária. A atovaquona inibe o sistema de transporte de elétrons na mitocôndria dos parasitos, bloqueando a síntese de ácido nucleico e causando inibição da replicação. O proguanil causa inibição seletiva da diidrofolato redutase plasmidial, porém, quando combinado à atovaquona diminui diretamente a concentração efetiva com a qual esta induz o colapso do potencial de membrana mitocondrial. O Malarone® é eficiente contra todos os estágios de desenvolvimento de *P. falciparum* e é recomendado para profilaxia e tratamento da malária falcípara. Este fármaco também é ativo contra os estágios eritrocíticos de *P. vivax* e *P. ovale*, apresentando boa eficácia no tratamento de infecções por *P. malariae*. Existem poucos relatos de falha clínica e resistência de isolados de *P. falciparum* ao Malarone® associadas a uma mutação em um único gene.

Miltefosina

A miltefosina é um análogo de fosfocolina oral usado no tratamento da leishmaníase visceral. Este composto se tornou cada vez mais importante devido ao aumento progressivo da resistência de cepas de *Leishmania* aos antimoniais pentavalentes. A miltefosina tem atividade antiparasitária direta e parece atuar sobre enzimas-chave envolvidas no metabolismo de lipídios presentes na superfície dos parasitos, embora ainda sejam desconhecidos os mecanismos exatos de sua ação parasiticida. A miltefosina é ativa contra cepas de *L. donovani* tanto resistentes como suscetíveis aos antimoniais e tem apresentado um índice de cura de 94% a 97% em 6 meses em pacientes com leishmaníase visceral. A resistência se deve a uma diminuição na recaptação do fármaco. Além de *Leishmania* spp., a miltefosina tem atividade contra *Trypanosoma cruzi, T. brucei, Entamoeba histolytica* e *Acanthamoeba* spp.

Nitazoxanida

A nitazoxanida é um novo derivado do 5-nitrotiazol com amplo espectro de atividade contra numerosos protozoários e helmintos intestinais. Este fármaco inibe a enzima piruvato ferredoxina oxidorredutase, que é essencial ao metabolismo energético anaeróbio em protozoários e também em bactérias anaeróbias. Seu mecanismo de ação contra helmintos é desconhecido. A nitazoxanida está licenciada nos Estados Unidos para o tratamento de criptosporidiose em crianças e de giardíase em crianças e adultos. Também tem mostrado eficiência *in vitro* e/ou *in vivo* contra infecções causadas por muitos protozoários e helmintos entéricos, incluindo *Ascaris lumbricoides, Balantidium coli, Blastocystis hominis, Cyclospora cayetanensis, Echinococcus* spp., *Entamoeba histolytica, Fasciola hepatica*, ancilostomídeos,

Hymenolepis nana, Isospora belli, espécies de microsporídios, *Taenia saginata, Trichomonas vaginalis* e *Trichuris trichiura*.

Outros Agentes Antiprotozoáricos

Um número de agentes adicionais utilizados na terapia, seus mecanismos de ação (se conhecidos) e usos clínicos são listados na Tabela 80-2.

Agentes Anti-helmínticos

A estratégia para uso de fármacos anti-helmínticos é bem diferente daquela para uso dos fármacos utilizados no tratamento da maioria das infecções por protozoários. A maior parte dos fármacos anti-helmínticos é direcionada a organismos adultos **não-proliferantes**, enquanto no caso dos protozoários, os alvos geralmente são células mais jovens, que proliferam mais rapidamente. O ciclo de vida de um helminto frequentemente é bem mais complexo e a adaptação para sobrevivência no hospedeiro humano depende fortemente de (1) coordenação neuromuscular para realização de movimentos para se alimentar e para se manter em uma local favorável junto ao hospedeiro; (2) metabolismo de carboidratos como principal fonte de obtenção de energia, utilizando glicose como substrato principal; e (3) integridade microtubular, uma vez que a deposição e incubação dos ovos, desenvolvimento das larvas, transporte de glicose e atividade enzimática e secreção ficam prejudicados quando os microtúbulos são modificados. A maioria dos agentes anti-helmínticos é direcionada a uma destas funções bioquímicas no organismo adulto.

Os mecanismos de ação e as indicações clínicas para agentes anti-helmínticos comuns são listados na Tabela 80-2.

Benzimidazóis

Os bezimidazóis são agentes anti-helmínticos de amplo espectro e incluem mebendazol, triclabendazol e albendazol. A estrutura básica destes agentes consiste de anéis de imidazol e benzeno ligados. Três mecanismos de ação foram propostos para os benzamidazóis: (1) inibição da fumarato redutase; (2) inibição do transporte de glicose, resultando em depleção de glicogênio, término da formação de ATP e paralisia ou morte; e (3) interrupção da função microtubular. Os benzimidazóis bloqueiam a montagem dos dímeros de tubulina em polímeros de tubulina em um processo mimetizado pela colchicina, uma poderosa droga antimitótica e embriotóxica. Como a tubulina é importante para a motilidade do parasito, fármacos como os benzamidazóis, que se ligam à tubulina do parasito, são considerados por agirem contra nematoides através da redução ou da eliminação de sua capacidade de motilidade.

Os benzamidazóis possuem um amplo espectro de atividade, que inclui nematoides intestinais (espécies de *Ascaris, Trichuris, Necator* e *Ancylostoma*; *Enterobius vermicularis*), como vários cestoides (espécies de *Taenia, Hymenolepis* e *Echinococcus*). O triclabendazol é o agente de escolha na fasciolíase, sendo uma alternativa ao praziquantel na terapia da paragonimíase e de infecções intestinais por trematódeos. O mebendazol é ativo contra os nematoides e cestoides intestinais previamente listados. O albendazol possui um espectro semelhante ao do mebendazol e pode apresentar uma atividade maior contra espécies de *Echinococcus*. Além de seu amplo espectro de atividade anti-helmítica, o albendazol também apresenta atividade contra espécies de *Giardia* e parece promissor no tratamento da microsporidiose intestinal em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida. O albendazol está sendo cada vez mais usado em combinação tanto com a dietilcarbamazina como a ivermectina no tratamento de filaríase e de loíase, sendo especialmente útil nestas infecções como parte de um regime de dose única em programas de quimioterapia em massa.

Tetra-hidropirimidinas

O palmoato de pirantel, uma tetra-hidropirimidina, é um agonista colinérgico que exerce efeito poderoso sobre as células musculares de nematoides ao se ligar a receptores colinérgicos, resultando na despolarização da célula e na contração muscular. Esta **ação paralítica** sobre nematoides intestinais leva à expulsão do verme do trato intestinal do hospedeiro.

O palmoato de pirantel não é prontamente absorvido a partir do intestino e é ativo contra espécies de *Ascaris*, oxiúrus e ancilostomídeos. O pirantel pode ser utilizado em associação com um análogo, o oxantel, para proporcionar uma terapia efetiva para a infecção causada pelos três principais nematoides transmitidos através do solo: espécies de *Ascaris*, ancilostomídeos e de *Trichuris*.

Piperazinas

A piperazina anti-helmíntica mais comumente utilizada é a dietilcarbamazina (DEC). Este fármaco é predominantemente um agente microfilaricida que atua estimulando receptores colinérgicos e despolarizando células musculares, causando uma paralisia subsequente nos vermes. Entretanto, evidências sugerem que a piperazina aumenta a aderência dos leucócitos às microfilárias podendo agir alterando a membrana da superfície do parasito, ou estimulando diretamente as células fagocitárias.

A DEC é ativa contra filárias que produzem a 'cegueira do rio' (*Onchocerca volvulus*) e a filaríase linfática (*Wuchereria bancrofti* e *Brugia malayi*). Infelizmente, a destruição das microfilárias nos tecidos pode aumentar a patologia devido à resposta inflamatória do hospedeiro aos antígenos do parasito liberados durante a exposição à DEC. Informação recente sugere que o tratamento de dose única com a DEC pode produzir efeitos antiparasitários semelhantes àqueles obtidos em cursos de 14 a 21 dias, sem a ocorrência dos efeitos colaterais severos observados com os regimes multidose. Além de seu uso como terapia individual para infecções filariais, a DEC também é utilizada em programas de quimioterapia de massa comunitários, tanto isoladamente como combinada à ivermectina ou ao albendazol.

Avermectinas

A ivermectina, uma avermectina, atua através da interação com o canal de cloreto nas membranas celulares de nervos e músculos, resultando na hiperpolarização das células afetadas com consequente paralisia e morte dos parasitos. O fármaco também inibe a função reprodutiva da fêmea adulta de *O. volvulus* e altera a habilidade das microfilárias deste parasito de evadirem o sistema imune do hospedeiro.

Apesar da ivermectina ser extensivamente utilizada para controlar infecções por nematoides que se alojam no intestino de animais domésticos e de fazenda, seu uso em humanos se limita primariamente ao tratamento das filaríases ocular e linfática. A ivermectina é efetiva no tratamento da estrongiloidíase, como de várias outras parasitoses causadas por nematoides intestinais, incluindo espécies de *Ascaris, Trichuris* e *Enterobius*. Quando utilizada no tratamento da filaríase, a ivermectina apresenta menos efeitos colaterais que a dietilcarbamazina, e uma única dose pode eliminar as microfilárias por até 6 meses. A ivermectina possui efeitos dramáticos sobre as microfilárias de *O. volvulus* que se fixam nos tecidos, e é capaz de reduzir a severidade da patologia ocular observada na oncocercose. Graças a sua habilidade em promover uma diminuição marcante do número de microfilárias na pele de pessoas com oncocercose, a ivermectina tem se mostrado eficiente na redução da transmissão da oncocercose em áreas endêmicas.

Pirazinoisoquinolinas

O praziquantel, uma pirazinoisoquinolina, é um anti-helmíntico ativo contra um amplo espectro de trematódeos e cestoides. Este fármaco é rapidamente consumido por helmintos sensíveis, nos quais atua com um **agonista de cálcio**. A entrada de cálcio em várias células resulta na elevação dos níveis intracelulares de cálcio, com contração muscular tetânica e

destruição do tegumento. O praziquantel parece atuar junto com o sistema imune para produzir um efeito sinergístico anti-helmíntico. Este fármaco causa a perda da integridade da superfície e do tegumento do parasito, permitindo que anticorpos ataquem os antígenos parasitários que normalmente não ficam expostos na superfície (Fig. 80-1). O dano irreversível ao parasito provavelmente ocorre quando o complemento ou os leucócitos do hospedeiro são recrutados para os sítios nos quais há ligação de anticorpos.

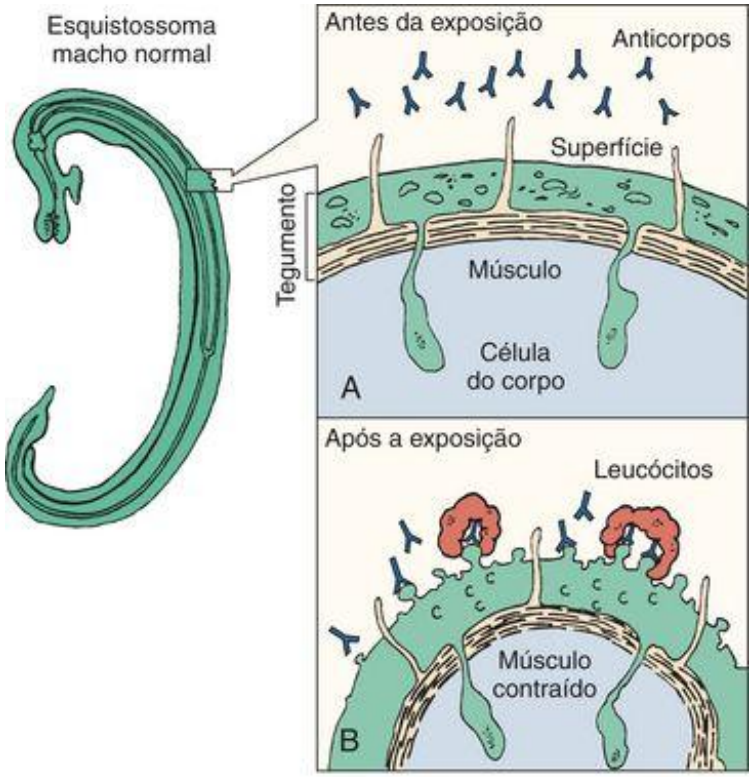


Figura 80-1 Antes da exposição ao praziquantel, o esquistossoma é capaz de escapar dos inúmeros anticorpos dirigidos à sua superfície e a antígenos localizados internamente. **A**, Corte de uma seção da face dorsal de um esquistossoma macho normal. Um a 2 segundos após a exposição ao praziquantel, os músculos do esquistossoma se contraem devido ao influxo de íons de cálcio induzido pelo fármaco para dentro do tegumento. **B**, A alteração da permeabilidade da superfície do esquistossoma no sentido dos íons externos inicia o aparecimento de pequenos orifícios e estruturas semelhantes a balões, fazendo com que o parasito se torne vulnerável à aderência anticorpo-mediada dos leucócitos do hospedeiro para matá-lo.

(De Wingard LB Jr et al: Human Pharmacology: Molecular to Clinical. St. Louis, Mosby, 1991.)

O praziquantel possui um espectro de atividade extremamente amplo contra trematódeos, incluindo espécies de *Fasciolopsis, Clonorchis, Opisthorchis, Paragonimus* e *Shistosoma*. Também é ativo contra cestoides, incluindo espécies de *Echinococcus, Taenia* e *Dipylidium*. O praziquantel é o fármaco de escolha para o tratamento da esquistossomíase, clonorquíase, opistorquíase e infecções por trematódeos intestinais. Atualmente existem evidências seguras de que o praziquantel reduz a hepatoesplenomegalia e a hipertensão portal na esquistossomíase. A maioria das infecções por cestoides responde ao praziquantel, que também é utilizado no tratamento da neurocisticercose e das infecções equinocócicas, tanto sozinho como combinado com o albendazol.

Fenóis

A niclosamina, um fenol, é um anti-helmíntico não absorvível que possui atividade seletiva

contra cestoides intestinais. O fármaco é absorvido por cestoides que ficam no intestino, mas não por nematoides. Atua desacoplando a fosforilação oxidativa na mitocôndria, o que leva à perda de ATP pelo helminto que causa sua paralisação e permite sua eliminação juntamente com as fezes do hospedeiro. A niclosamina é eficiente no tratamento de cestoides intestinais no homem e em animais.

Outros Agentes Anti-helmínticos

Agentes anti-helmínticos adicionais, incluindo a oxamniquina, metrifonato e suramina, são descritos na Tabela 80-2. Estes agentes geralmente são considerados secundários para o tratamento de infecções causadas por trematódeos (oxamniquina e metrifonato) e filárias (suramina).

Questões

1. Quais são os obstáculos à eficiência do tratamento e da profilaxia das doenças parasitárias em países em desenvolvimento?

1. Existem numerosos obstáculos para o tratamento e a prevenção efetivos de doenças parasitárias em países em desenvolvimento, incluindo fármacos tóxicos e ineficazes, necessidade de administração prolongada, ciclos de vida parasitários complexos, presença de múltiplas infecções e infecções recorrentes, elevados números de indivíduos imunocomprometidos, pobreza, carência na higiene e no saneamento básico.

2. Quais são as metas da terapia antiparasitária e no que diferem da terapia antibacteriana?

2. Em muitos casos a meta da terapia antiparasitária é semelhante à da terapia antibacteriana: erradicar o organismo rápida e completamente do hospedeiro infectado. Em contraste, em muitos casos em países em desenvolvimento, os agentes e regimes de tratamento usados para doenças parasitárias são propostos para simplesmente reduzir o impacto parasitário e para prevenir complicações sistêmicas da infecção crônica. A diferença nas estratégias de tratamento é influenciada pela severidade da doença, a toxicidade dos agentes antiparasitários e a possibilidade de reinfecção.

3. Qual é a importância dos análogos de aminoquinolina?

3. A principal importância dos análogos de aminoquinolina é o emprego na profilaxia e tratamento da malária, especialmente causada por *P. falciparum*.

4. Como a estratégia para o uso de agentes anti-helmínticos se diferencia da que é utilizada para o uso de fármacos contra infecções por protozoários?

4. A estratégia para o uso de fármacos anti-helmínticos é diferente da estratégia para o uso de outros fármacos para o tratamento da maioria das infecções causadas por protozoários. Enquanto os fármacos direcionados contra protozoários agem nos alvos jovens, nas células mais rapidamente proliferadoras, a maioria dos fármacos anti-helmínticos apresenta como alvo organismos adultos não proliferadores. Portanto, muitos agentes

antiprotozoários exercem uma atividade cidal relativamente rápida contra o parasito. Em contraste, agentes anti-helmínticos frequentemente impedem a função neuromuscular e microtubular, resultando na expulsão do verme do hospedeiro ou impedindo a produção de ovos e o desenvolvimento larvário.

Bibliografia

Ali V, Nozaki T. Current therapeutics, their problems, and sulfur containing amino acid metabolism as a novel target against infections by “amitochondriate” protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:164-187.

Baird JK. Effectiveness of antimalarial drugs. *N Engl J Med*. 2005;352:1565-1577.

Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:111-126.

Doenhoff MJ, Kusel JR, Coles GC, Cioli D. Resistance of Schistosoma mansoni to praziquantel: Is there a problem? *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002;96:465-469.

Edwards G, Krishna S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of parasitic infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:233-242.

Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:114-128.

Geertz S, Gryseels B. Drug resistance in human helminths: Current situation and lessons from livestock. *ClinMicrobiol Rev*. 2000;13(2):207-222.

Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*. 2007;357:1018-1027.

Leder K, Weller PF, et al. Antiparasitic agents. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Secor WE, Nguyen-Dinh P, et al. Mechanisms of resistance to antiparasitic agents. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Talisuna AO, Bloland P, D’Alessandro U. History, dynamics, and public health importance of malaria parasite resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2004;178:235-254.

Wingard LBJr, et al, editors. Human Pharmacology: Molecular to Clinical. St Louis: Mosby, 1991.

81 Protozoários Intestinais e Urogenitais

Protozoários podem colonizar e infectar a orofaringe, o duodeno e o intestino delgado, cólon e o trato urogenital do homem. A maioria destes parasitos são amebas e flagelados, porém infecções com parasitos ciliados, coccídios ou microsporídios também podem ser encontradas (Tab. 81-1). Estes organismos são transmitidos pela **via fecal-oral**. Nos Estados Unidos, a transmissão de protozoários intestinais é particularmente problemática em creches e asilos, onde vários episódios de diarreia causada por espécies de *Giardia* ou *Cryptosporidium* são documentados. Em outras partes do mundo, a disseminação das infecções por protozoários entéricos pode ser controlada parcialmente através de melhorias de saneamento através do tratamento dos suprimentos de água com cloro e filtração. Entretanto, estas medidas podem ser difíceis ou impossíveis em muitos países em desenvolvimento.

Tabela 81-1 Identificação Morfológica de *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba coli*

	E. histolytica *	***E. coli***
Tamanho (diâmetro, µm)		
Trofozoíta	12-50µm	20-30µm
Cisto	10-20µm	10-30µm
Padrão de cromatina nuclear periférica	Fino, anel disperso	Grosso, agrupado
Cariossoma	Central, distinto	Excêntrico, grosseiro
Eritrócitos ingeridos	Presentes	Ausentes
Estrutura cística		
Número de núcleos	1-4	1-8
Corpos cromatoides	Extremidades arredondadas	Extremidades fragmentadas, pontiagudas

* *E. histolytica* é morfologicamente indistinguível das espécies comensais *E. dispar* e *E. moshkovskii.*

Amebas

As amebas são microrganismos **unicelulares** primitivos. O ciclo biológico delas é relativamente simples e está dividido em dois estágios: o estágio ativamente móvel de alimentação (trofozoíta) e o estágio quiescente, resistente e infectante (cisto). A replicação ocorre por fissão binária (há uma divisão do trofozoíta) ou através do desenvolvimento de numerosos trofozoítas dentro do cisto maduro multinucleado. A movimentação ocorre através da extensão de um **pseudópode** (“falso pé”), na qual o ectoplasma celular sofre uma extrusão e o resto da célula é puxado em um movimento parecido com a movimentação de um caracol, seguindo o pseudópode. Os trofozoítas ameboides permanecem ativamente móveis enquanto o ambiente for favorável. A forma de cisto se desenvolve quando há uma queda da temperatura ou da umidade do ambiente.

A maioria das amebas encontradas no homem são organismos **comensais** (*Entamoeba coli, E. hartmanni, E. dispar, E. moshkovskii, E. gingivalis, Endolimax nana, Iodamoeba bütschlii*). Entretanto, a *Entamoeba histolytica* é um importante patógeno humano. Outras amebas, particularmente *Entamoeba polecki*, podem causar doença no homem, porém raramente são isoladas. A patogenicidade de *Blastocystis hominis* ainda é controversa. Algumas amebas de vida livre (*Naegleria fowleri*, espécies de *Acanthamoeba*) estão presentes no solo, em pequenos reservatórios de água fresca e morna ou em piscinas, podendo ser patógenos oportunistas do homem, causando meningoencefalite ou ceratite.

Entamoeba histolytica

Fisiologia e Estrutura

As formas císticas e trofozoíticas de *E. histolytica* são detectadas em amostras fecais de pacientes infectados (Fig. 81-1). Os trofozoítas também podem ser encontrados nas criptas do intestino grosso. Em fezes "líquidas ou diarreicas" frescas podem ser observados trofozoítas ativamente móveis, enquanto em fezes formadas, geralmente são encontrados apenas cistos. Para o diagnóstico da amebíase, é importante fazer a distinção entre trofozoítas e cistos de *E. histolytica* e de amebas comensais.

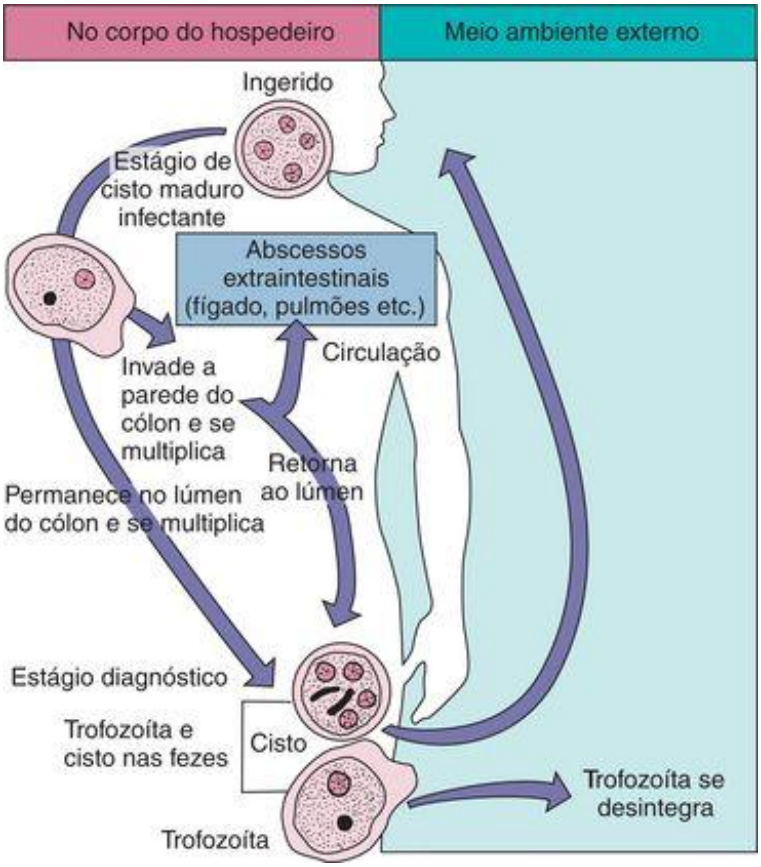


Figura 81-1 Ciclo de vida da *Entamoeba histolytica*.

Patogênese

Após a ingestão, os cistos passam pelo estômago onde a exposição ao ácido gástrico estimula a liberação dos trofozoítas patogênicos no duodeno. Os trofozoítas se dividem e produzem uma extensa necrose local no intestino grosso. A base desta destruição tecidual ainda não é completamente compreendida, embora seja atribuída à produção de uma **citotoxina**. A fixação dos trofozoítas de *E. histolytica* às células do hospedeiro através de uma proteína de adesão inibida por galactose é necessária para que ocorra citólise e necrose tecidual. A lise de células epiteliais do cólon, neutrófilos, linfócitos e monócitos do hospedeiro humano causada por trofozoítas é associada a uma alteração letal da permeabilidade da membrana plasmática nestas células, que resulta em aumento irreversível dos níveis de cálcio intracelular. A liberação dos constituintes tóxicos de neutrófilos após sua lise pode contribuir

para a destruição do tecido. São observadas ulcerações em forma de frasco na mucosa intestinal com inflamação, hemorragia e infecção bacteriana secundária. Pode haver invasão profunda da mucosa que se estende para dentro da cavidade peritoneal. Em consequência pode haver o envolvimento secundário de outros órgãos, primariamente o fígado mas também os pulmões, o cérebro e o coração. A amebíase extraintestinal está associada aos trofozoítas. As amebas são encontradas somente em ambientes que possuem baixa pressão de oxigênio, uma vez que protozoários não sobrevivem na concentração de oxigênio ambiental.

Recentemente, a ligação de lectina, as análises de zimodemo e de DNA e a coloração com anticorpos monoclonais específicos são utilizadas como marcadores para identificar cepas invasivas de *E. histolytica*. Atualmente se sabe que a ameba identificada morfologicamente como *E. histolytica* na verdade corresponde a três espécies diferentes. A espécie patogênica é a *E. histolytica* e as não patogênicas são *E. dispar* e *E. moshkvskii*. Os padrões de zimodemo e as diferenças bioquímicas, moleculares e imunológicas são estáveis e sustentam a existência das três espécies. Estas espécies são notavelmente indistinguíveis morfologicamente umas das outras.

Epidemiologia

A *E. histolytica* apresenta uma distribuição mundial. Apesar de ser encontrada em áreas frias como Alasca, Canadá e leste europeu, sua incidência é maior em regiões tropicais e subtropicais que possuem condições sanitárias precárias e água contaminada. A prevalência média de infecção nestas áreas está entre 10% e 15%, sendo que cerca de 50% da população está infectada em alguns locais. Muitos dos indivíduos infectados são portadores assintomáticos que constituem reservatórios para disseminação de *E. histolytica*. A prevalência da infecção nos Estados Unidos é de 1% a 2%.

Pacientes infectados com *E. histolytica* eliminam trofozoítas não infectantes e cistos infectantes nas fezes. Os trofozoítas não podem sobreviver no meio ambiente nem durante o transporte pelo estômago quando ingeridos. Por isso a principal fonte de contaminação de água e comida é o portador assintomático que elimina os cistos. Isto é particularmente um problema em hospitais para doentes mentais, em acampamentos militares e de refugiados, prisões e creches e asilos lotados. Moscas e baratas também podem servir de vetores para a transmissão dos cistos de *E. histolytica*. Esgoto contendo cistos pode contaminar sistemas de água, poços, nascentes e áreas agrícolas onde dejetos humanos são utilizados como fertilizantes. Finalmente, os cistos podem ser transmitidos através da prática sexual oral-anal, sendo que há uma prevalência da amebíase na população homossexual. A transmissão direta dos trofozoítas em relações sexuais pode produzir amebíase cutânea.

Síndromes Clínicas

O desfecho da infecção pode resultar em um estado de portador, amebíase intestinal ou extraintestinal. Se a cepa de *E. histolytica* tem virulência baixa, se a concentração do inóculo é pequena ou se o sistema imunológico do paciente está intacto, os organismos podem se reproduzir e os cistos podem ser evacuados junto com as fezes sem a ocorrência de sintomas clínicos. Embora as infecções por *E. histolytica* possam ser assintomáticas, a maioria dos indivíduos assintomáticos está infectada com *E. dispar* ou *E. moshkovskii* não invasivas, conforme caracterizado através de padrões específicos de isoenzimas (zimodemos), ensaios de DNA, suscetibilidade à lise mediada pelo complemento e incapacidade de aglutinação na presença da lectina concavalina A. A detecção de portadores de *E. histolytica* em áreas de baixo índice endêmico tem importância para fins epidemiológicos.

Pacientes com amebíase intestinal desenvolvem sintomas clínicos relacionados à destruição tecidual localizada no intestino grosso. Estes incluem dor abdominal, câimbras e colite com diarreia. A doença mais grave se caracteriza pela ocorrência de várias evacuações

com sangue nas fezes por dia. Pacientes com amebíase extraintestinal apresentam sinais sistêmicos de infecção (febre, leucocitose, calafrios). Primeiramente há o envolvimento do fígado porque os trofozoítas presentes no sangue são removidos conforme passam por este órgão. É comum haver formação de abscesso (Caso Clínico 81-1). O lobo hepático direito é o mais comumente envolvido. Observa-se dor sobre a região do fígado com hepatomegalia e elevação do diafragma.

Caso Clínico 81-1 HIV e Abscessos Amebianos no Fígado

Liu e colaboradores (J Clin Gastroenterol 33:64-68, 2001) descreveram o caso de um homossexual de 45 anos de idade, sexo masculino, que desenvolveu amebíase intestinal e hepática. Inicialmente o paciente apresentava febre intermitente seguida de dor no quadrante superior direito e diarreia. Na admissão ao hospital, ele estava febril com uma elevada contagem sanguínea de leucócitos e com testes de função hepática alterados. Os exames de fezes resultaram positivos para sangue oculto e leucócitos. O paciente foi submetido à colonoscopia, onde foram detectadas úlceras múltiplas e discretas no reto e no cólon. O diagnóstico de colite amebiana foi confirmado pela demonstração de numerosos trofozoítas ao exame histopatológico de amostras de biópsia do cólon. O exame ultrassônico do abdômen revelou uma grande massa heterogênea junto ao fígado, consistente com um abscesso. A drenagem percutânea de pus (com aspecto de chocolate) obtido do abscesso, e o exame de uma biópsia retirada de suas margens revelaram somente material necrótico sem evidências da presença de amebas. Uma amplificação por PCR da subunidade 16S de rRNA obtida por aspiração, resultou positiva, indicando infecção por *Entamoeba histolytica*. O paciente foi tratado com metronidazol seguido de iodoquinol para erradicar as amebas presentes no lúmen. A história subsequente revelou uma viagem para à Tailândia 2 meses antes do aparecimento da doença. A sorologia para HIV foi positiva também. O paciente melhorou rapidamente com a terapia antiamebiana e foi liberado da terapia antirretroviral.

Embora os cistos de ameba sejam detectados com frequência em fezes de homens homossexuais, estudos prévios em países ocidentais sugeriram que quase todos os isolados eram da espécie não patogênica *E. dispar*, e a amebíase invasiva foi considerada rara em indivíduos HIV positivos. Este caso ilustra o fato de que a amebíase invasiva, como abscessos hepáticos e colite, pode acompanhar a infecção pelo HIV. A possível associação de amebíase invasiva com infecção por HIV deve ser lembrada nos casos de pacientes que vivem ou que viajaram para áreas endêmicas por *E. histolytica*.

Diagnóstico Laboratorial

A identificação dos trofozoítas de *E. histolytica* (Fig. 81-2) e a presença de cistos nas fezes e de trofozoítas nos tecidos são diagnósticos de infecção por amebas. Deve-se ter cuidado ao fazer a distinção entre este tipo de amebas e as amebas comensais, bem como entre estas amebas e leucócitos polimorfonucleares. O exame microscópico de amostras de fezes é essencialmente insensível, uma vez que os trofozoítas não se distribuem homogeneamente na amostra e os parasitos podem se concentrar em úlceras intestinais e nas margens dos abscessos, mas não nas fezes nem no centro necrótico dos abscessos. Por esta razão, faz-se a coleta de múltiplas amostras de fezes. A amebíase extraintestinal é diagnosticada algumas vezes através da utilização de procedimentos de varredura do fígado e de outros órgãos. Testes sorológicos específicos juntamente com exame microscópico de amostras provenientes de abscessos podem confirmar o diagnóstico. Virtualmente todos os pacientes com amebíase hepática e a maioria dos pacientes com doença intestinal (mais de 80%) apresentam resultados sorológicos positivos no momento da apresentação clínica. Este fato pode ter menor utilidade em áreas endêmicas onde a prevalência de resultados sorológicos positivos é maior. Exames de amostras de fezes frequentemente são negativos na doença extraintestinal. Além dos testes microscópicos e sorológicos convencionais, pesquisadores desenvolveram vários testes imunológicos para detecção de antígeno fecal, bem como ensaios de reação em cadeia da polimerase e de sondas de DNA para detecção de cepas patogênicas de *E. histolytica* (*versus E. dispar* ou *E. moshkovskii* não patogênicas).

Estas abordagens diagnósticas mais recentes são promissoras e estão comercialmente disponíveis.

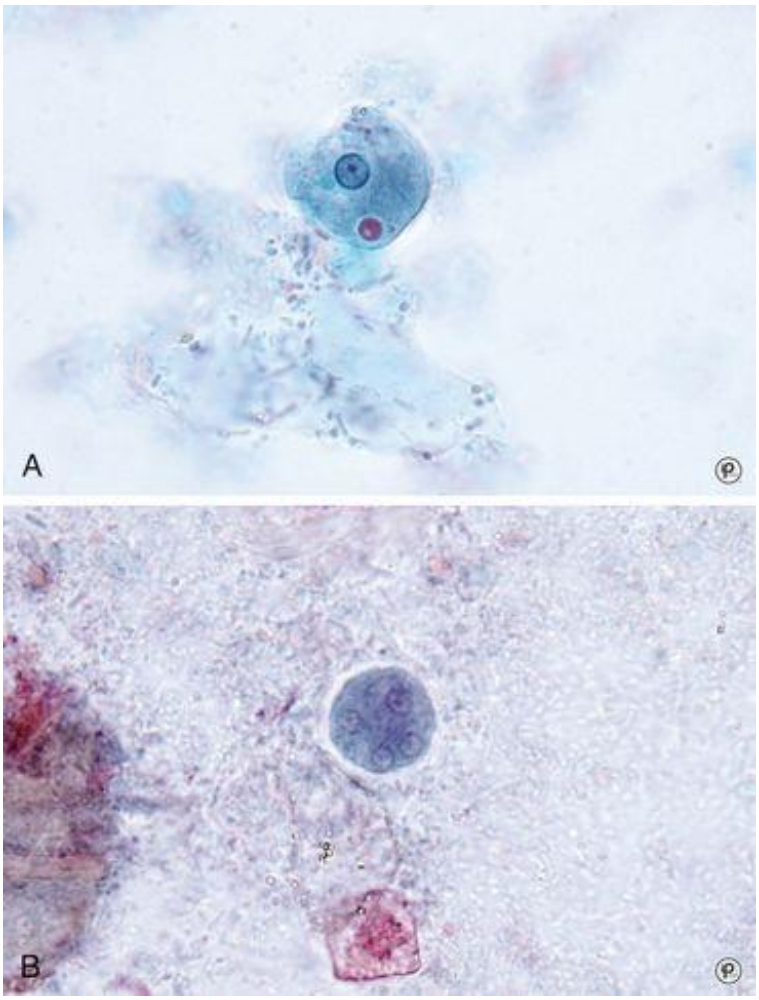


Figura 81-2 Trofozoíta (**A**) e cisto (**B**) de *Entamoeba histolytica*. Os trofozoítas são móveis e seu tamanho varia de 12 a 60µm (média de 15 a 30µm). O único núcleo existente na célula é redondo, possui um ponto no centro (cariossoma) e uma distribuição uniforme dos grânulos de cromatina ao redor da membrana nuclear. Eritrócitos fagocitados podem estar no citoplasma. Os cistos são menores (10 a 20µm com um tamanho médio de 15 a 20µm) e contêm de 1 a 4 núcleos (geralmente 4). Corpos cromatoides arredondados podem ser encontrados no citoplasma.

(De Marler LM et al.: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Tratamento, Prevenção e Controle

A amebíase aguda e fulminante é tratada com metronidazol seguido de iodoquinol. O portador assintomático pode ser erradicado com iodoquinol, furoato de diloxanida ou paromomicina. Conforme foi observado, a infecção humana resulta da ingestão de comida ou água contaminada com fezes humanas, ou como resultado de práticas sexuais específicas. A eliminação do ciclo de infecção requer a introdução de medidas adequadas de saneamento e educação sobre as vias de transmissão. Embora a cloração e a filtração dos suprimentos de água possam limitar a disseminação destas e de outras infecções por protozoários entéricos, não é possível realizá-las em vários países em desenvolvimento. Os médicos devem alertar aqueles que viajam para estes países dos riscos associados ao consumo de água (incluindo cubos de gelo), frutas com casca e vegetais crus. A água deve ser fervida e as frutas e vegetais completamente limpos antes de serem consumidos.

Outras Amebas Intestinais

Entre outras amebas que podem parasitar o trato gastrointestinal humano estão *E. coli, E. hartmanni, E. polecki, E. nana, I. bütschlii* e *Blastocystis hominis*. *E. polecki*, um parasito primário de porcos e macacos, pode causar diarreia moderada e transiente no homem. O diagnóstico da infecção por *E. polecki* é confirmado através da detecção microscópica de cistos em amostras de fezes. O tratamento é o mesmo utilizado nos casos de infecção por *E. histolytica*.

O *Blastocystis hominis*, previamente considerado uma levedura não patogênica, atualmente é o centro de grande controvérsia relacionada à sua posição taxonômica e patogenicidade. Recentemente, *B. hominis* foi colocado no reino Chromista, com base na análise de rRNA 18S e em outras evidências moleculares. É o primeiro Chromista a ser reconhecido como parasito do homem. É encontrado em amostras de fezes obtidas de indivíduos assintomáticos, como de pessoas apresentando diarreia persistente. Sugeriu-se que a doença é indicada pela presença de grande número destes parasitos (cinco ou mais por campo microscópico observado com óleo de imersão) na ausência de outros patógenos intestinais. Outros investigadores concluíram que a "blastocistose sintomática" pode ser atribuída a um patógeno não detectado ou a problemas de função intestinal. O organismo pode ser detectado em montagens a fresco ou em esfregaços de amostras de fezes corados com tricrômio. O tratamento com iodoquinol ou metronidazol tem apresentado sucesso na erradicação de organismos do intestino e em proporcionar alívio aos sintomas. Entretanto, o papel definitivo deste organismo na doença ainda não foi demonstrado.

As amebas intestinais não patogênicas são importantes porque devem ser diferenciadas de *E. histolytica, E. polecki* e *Blastocystis hominis*, principalmente no caso da *E. coli*, que é detectada com frequência em amostras de fezes coletadas de pacientes expostos à comida ou água contaminada. A identificação correta das amebas intestinais requer o exame microscópico cuidadoso do cisto e dos trofozoítas presentes em amostras de fezes coradas e não coradas (Tab. 81-1). Deste modo, atualmente é possível fazer a diferenciação de *E. dispar* e de *E. moshkovskii* da *E. histolytica* através do uso de reagentes imunológicos específicos.

Flagelados

Os flagelados de significado clínico incluem *Giardia lamblia (duodenalis/intestinalis), Dientamoeba fragilis* e *Trichomonas vaginalis*. Flagelados comensais não patogênicos como *Chilomastix mesnili* (entérico) e *Trichomonas tenax* (oral) também podem ser observados. Organismos de *Giardia*, assim como *E. histolytica*, apresentam os estágios de cisto e trofozoítas em seus ciclos biológicos. Já em espécies de *Trichomonas* e de *Dientamoeba* não são observados cistos. Diferentemente das amebas, os flagelados se movem através da movimentação rápida do flagelo que impulsiona os organismos em ambientes fluidos. Doenças causadas por flagelados são primeiramente o resultado de irritação mecânica e inflamação. Por exemplo, *G. lamblia* (*duodenalis/intestinalis*) fixa-se às vilosidades intestinais com um disco adesivo, resultando em dano tecidual localizado. A invasão do tecido com extensiva destruição, como se observa na infecção por *E. histolytica*, raramente é observada nas infecções por flagelados.

Giardia lamblia (G. duodenalis; G. intestinalis)

A literatura se refere a estes organismos como *G. lamblia, G. duodenalis* e *G. intestinalis*, refletindo a ambiguidade existente em torno da classificação e da nomenclatura destes flagelados. São necessários mais estudos para determinar designações ou agrupamentos das espécies. Contudo, *G. lamblia* é o nome predominantemente utilizado nos Estados Unidos e será utilizado neste capítulo.

Fisiologia e Estrutura

Tanto o cisto quanto os trofozoítas de *G. lamblia* são detectados em amostras fecais de pacientes infectados (Fig. 81-3).

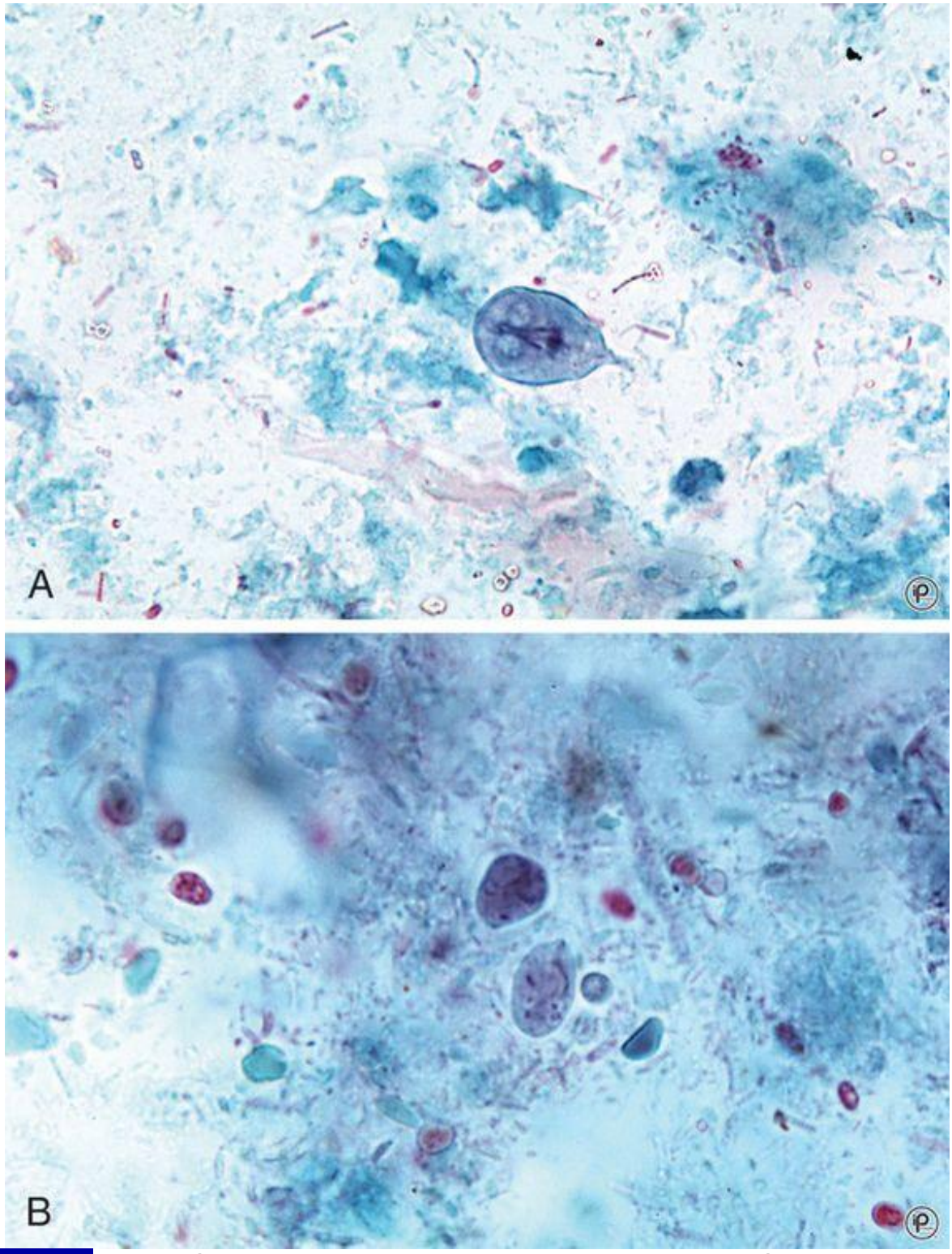


Figura 81-3 Trofozoíta (**A**) e cisto (**B**) de *Giardia lamblia*. Os trofozoítas medem 9 a 12µm de comprimento e 5 a 15µm de largura. Flagelos estão presentes, bem como dois núcleos com grandes cariossomas centrais, um grande disco ventral de sucção para fixação do parasito às vilosidades intestinais, e dois corpos parabasais oblongos abaixo dos núcleos. A morfologia dá a impressão de que os trofozoítas estão olhando na direção do observador. Os cistos são menores − 8 a 12µm de comprimento por 7 a 10µm de largura. Quatro núcleos e quatro corpos parabasais estão presentes.

(De Marler LM et al.: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Patogênese

A infecção por *G. lamblia* se inicia pela ingestão dos cistos (Fig. 81-4). Estima-se que a

dose infectante mínima para o homem seja de 10 a 25 cistos. O ácido gástrico estimula o rompimento dos cistos com liberação dos trofozoítas no duodeno e no jejuno, onde os organismos se multiplicam por **fissão binária**. Os trofozoítas podem se fixar nas vilosidades intestinais por meio de um proeminente disco ventral de sucção. Embora as pontas das vilosidades possam parecer achatadas e ser observada uma inflamação na mucosa com hiperplasia dos folículos linfoides, não ocorre necrose tecidual. Além disso, a disseminação metastática da doença além do trato gastrointestinal é muito rara.

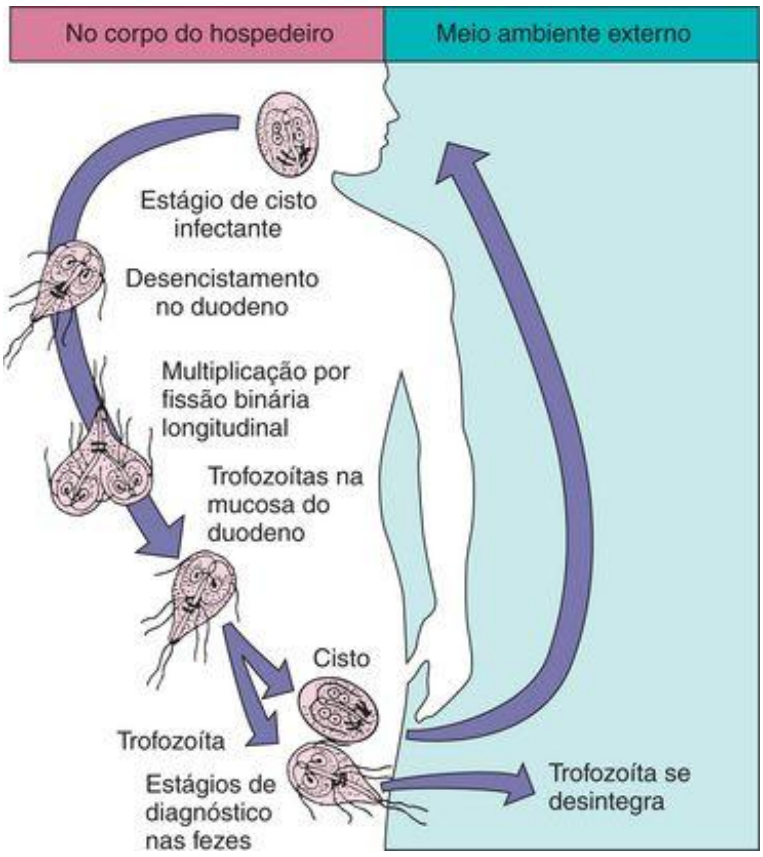


Figura 81-4 Ciclo de vida de *Giardia lamblia*.

Epidemiologia

As espécies de *Giardia* possuem uma distribuição mundial, sendo que estes flagelados apresentam uma distribuição silvestre ou "selvagem" em muitos córregos, lagos e refúgios de montanha. Esta distribuição silvestre é mantida em animais reservatório, tais como castores e ratos almiscarados. A giardíase é adquirida através do consumo de água contaminada tratada de forma inadequada, ingestão de vegetais e frutas crus contaminados, ou pela transmissão direta de uma pessoa a outra por via fecal-oral ou oral-anal. O estágio de cisto é resistente às concentrações de cloro (1 a 2 partes por milhão) empregadas na maioria dos estabelecimentos de tratamento de água. Por isso, o tratamento correto da água deve incluir reagentes químicos e filtração.

Fatores de risco associados à infecção por *Giardia* incluem condições sanitárias precárias, viagem a áreas sabidamente endêmicas, consumo de água contaminada tratada de forma inadequada (p. ex., de córregos de montanha contaminados), creches e prática de sexo oral-anal. Podem ocorrer infecções deflagradas e endêmicas em creches e outros cenários institucionais, e entre os membros das famílias de crianças infectadas. Para o controle da infecção nestas situações é importante que dar atenção especial à lavagem das mãos e ao tratamento de todos os indivíduos infectados.

Síndromes Clínicas

A infecção por *Giardia* pode resultar em transporte assintomático (observado em cerca de 50% dos indivíduos infectados) ou em doença sintomática que compreende desde uma diarreia moderada até a síndrome da má absorção (Caso Clínico 81-2). O período de incubação antes do desenvolvimento da doença sintomática varia de 1 a 4 semanas (em média 10 dias). O aparecimento da doença é repentino, com uma diarreia aquosa e de odor desagradável, cólicas abdominais, flatulência e esteatorreia. Sangue e pus raramente estão presentes em amostras de fezes, o que é consistente com a ausência de destruição tecidual. Geralmente há uma recuperação espontânea após 10 a 14 dias, embora uma doença mais crônica com recaídas múltiplas possa ocorrer. Isto é um problema em especial para pacientes com deficiência de imunoglobulina A ou divertículos intestinais.

Caso Clínico 81-2 Giardíase Resistente a Tratamento

Abboud e colaboradores (Clin Infec Dis 32:1792-1794, 2001) descreveram um caso de giardíase resistente ao metronidazol e ao albendazol, cujo tratamento foi bem-sucedido com nitazoxanida. O paciente era um homem homossexual com 32 anos de idade, aidético, admitido no hospital devido a uma diarreia incurável. O exame das fezes revelou a presença de inúmeros cistos de *Giardia duodenalis* (*G. lamblia*). O paciente foi tratado cinco vezes sem sucesso com metronidazol e albendazol, sem melhoras no quadro de diarreia nem eliminação dos cistos. Apesar de uma terapia antirretroviral combinada também ter sido administrada, esta foi ineficaz, e a análise genotípica viral detectou mutações associadas a uma elevada resistência à maioria dos fármacos antirretrovirais. O paciente foi subsequentemente tratado para giardíase com nitazoxanida, resultando na resolução da diarreia e em resultados negativos nos exames parasitológicos de fezes. A resistência do isolado infectante de *G. lamblia* ao metronidazol e ao albendazol foi confirmada através de estudos realizados *in vivo* e *in vitro*. A nitazoxanida pode ser considerada uma alternativa útil na terapia para casos de giardíase resistente.

Diagnóstico Laboratorial

Com o aparecimento de diarreia e desconforto abdominal, amostras de fezes devem ser examinadas quanto à presença de cistos e trofozoítas (Fig. 81-3). As espécies de *Giardia* apresentam intermitência na passagem dos estágios nas fezes, com presença de muitos organismos nas fezes num dia, e poucos ou nenhum organismo presente no dia seguinte. Por esta razão, o médico jamais deve aceitar os resultados do exame de uma única amostra negativa de fezes como evidência de que o paciente está livre de parasitos intestinais. O correto é examinar uma amostra de fezes por dia durante 3 dias. Se as fezes continuarem negativas em um paciente com elevada suspeita de giardíase, amostras adicionais podem ser coletadas por aspiração duodenal, Entero-test® ou teste do barbante, ou através de biópsia do intestino delgado superior. Além da microscopia convencional, vários testes imunológicos para detecção do **antígeno fecal** estão disponíveis comercialmente. Estes testes incluem contraimunoeletroforese, enzima imunoensaio, um ensaio imunocromatográfico e imunofluorescência indireta. As sensibilidades descritas variam de 88% a 98%, enquanto as especificidades vão de 87% a 100%.

Tratamento, Prevenção e Controle

É importante erradicar espécies de *Giardia* de portadores assintomáticos e de pacientes doentes. O fármaco de escolha é o metronidazol ou nitazoxanida com furazolidona, e tinidazol,

paromomicina ou quinacrina são alternativas aceitáveis. A prevenção e o controle da giardíase envolvem evitar água e alimentos contaminados, principalmente por parte de viajantes e pessoas que vivem fora de casa. Filtrar a água proveniente de córregos e lagos ou em países com uma taxa elevada de incidência da doença garante proteção. Também é necessária a manutenção do funcionamento adequado de sistemas de filtração em fornecedores de água municipais, uma vez que os cistos são resistentes aos procedimentos padrões de cloração. Esforços de saúde pública devem ser realizados no sentido de identificar o reservatório da infecção para prevenir a disseminação da doença. Além disso, o comportamento sexual de alto risco também deve ser evitado.

Dientamoeba fragilis

Fisiologia e Estrutura

A *Dientamoeba fragilis* foi classificada inicialmente como uma ameba; entretanto, as estruturas internas do trofozoíta são típicas de um flagelado. O estágio de cisto não foi descrito.

Epidemiologia

A *D. fragilis* apresenta uma distribuição mundial. A transmissão do delicado trofozoíta não é completamente compreendida. Alguns pesquisadores acreditam que o organismo pode ser transportado de pessoa a pessoa dentro da casca protetora dos ovos de vermes, tal como ocorre com *E. vermicularis*, o oxiúrus. Há transmissão pelas vias fecal-oral e oral-anal.

Síndromes Clínicas

A maioria das infecções por *D. fragilis* é assintomática, com colonização do ceco e do cólon superior. Entretanto, alguns pacientes podem desenvolver doença sintomática com desconforto abdominal, flatulência, diarreia intermitente, anorexia e perda de peso. Não há evidência de invasão tecidual por este flagelado, apesar de ocorrer irritação da mucosa intestinal.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção é confirmada através do exame microscópico de amostras de fezes nas quais trofozoítas típicos podem ser observados. O trofozoíta é pequeno (5 a 1µm), com um ou dois núcleos. O cariossoma central consiste de quatro a seis grânulos discretos. A excreção do parasito pode variar diariamente de forma marcante, tornando necessária a coleta de várias amostras de fezes. O exame de uma amostra de fezes após a administração de laxante também pode ser útil.

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia de escolha para a infecção por *D. fragilis* é o tratamento com iodoquinol, com tetraciclina e paromomicina como alternativas aceitáveis. O reservatório para estes flagelados e para os organismos de vida livre é desconhecido, dificultando fazer recomendações específicas para prevenção e controle. Entretanto, as infecções podem ser evitadas mantendo-se condições sanitárias adequadas. A erradicação das infecções por *Enterobius* também pode reduzir a transmissão da infecção por *Dientamoeba*.

Trichomonas vaginalis

Fisiologia e Estrutura

O *T. vaginalis* não é um protozoário intestinal mas sim o causador de infecções urogenitais. O parasito possui quatro flagelos e uma curta membrana ondulante, responsáveis por sua motilidade. *T. vaginalis* existe apenas sob a forma de trofozoíta e é encontrado na uretra e na vagina das mulheres e na uretra e glândula prostática dos homens.

Epidemiolgia

Este parasito apresenta uma distribuição mundial, sendo a relação sexual o principal meio de transmissão da infecção (Fig. 81-5). Ocasionalmente, as infecções são transmitidas através de fômites (toalhas, vestuário), embora este tipo de transmissão seja limitado pela labilidade da forma trofozoítica. Crianças podem ser infectadas pela mãe durante o nascimento, durante a passagem pelo canal de parto. A prevalência desse flagelado em países desenvolvidos é de 5% a 20% em mulheres e de 2% a 10% em homens.

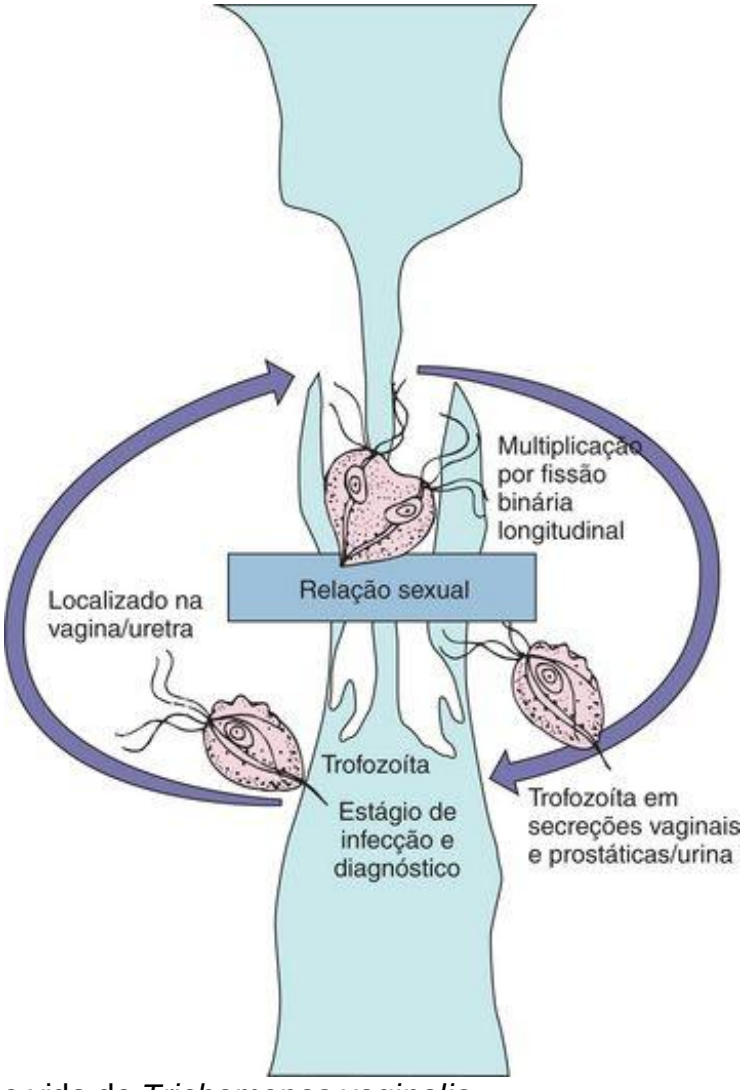


Figura 81-5 Ciclo de vida de *Trichomonas vaginalis*.

Síndromes Clínicas

A maioria das mulheres infectadas é assintomática ou possui um corrimento vaginal escasso e aquoso. Pode ocorrer vaginite com uma inflamação mais extensa e erosão do revestimento epitelial associada a prurido, ardência e micção dolorosa. Homens primariamente são portadores assintomáticos que servem de reservatório para a infecção em mulheres. Contudo, ocasionalmente os homens podem apresentar uretrite, prostatite e outros problemas do trato urinário.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico do corrimento vaginal ou uretral para a pesquisa de trofozoítas característicos é o método diagnóstico de escolha (Fig. 81-6). Esfregaços corados (Giemsa, Papanicolau) ou não corados podem ser examinados. O alcance diagnóstico pode ser melhorado através da cultura dos organismos (sensibilidade de 93%) ou pelo uso de coloração com emprego de anticorpos monoclonais fluorescentes (sensibilidade de 86%). Também está comercialmente disponível um teste que utiliza sonda de ácido nucleico. Testes sorológicos podem ser úteis em inquéritos epidemiológicos.

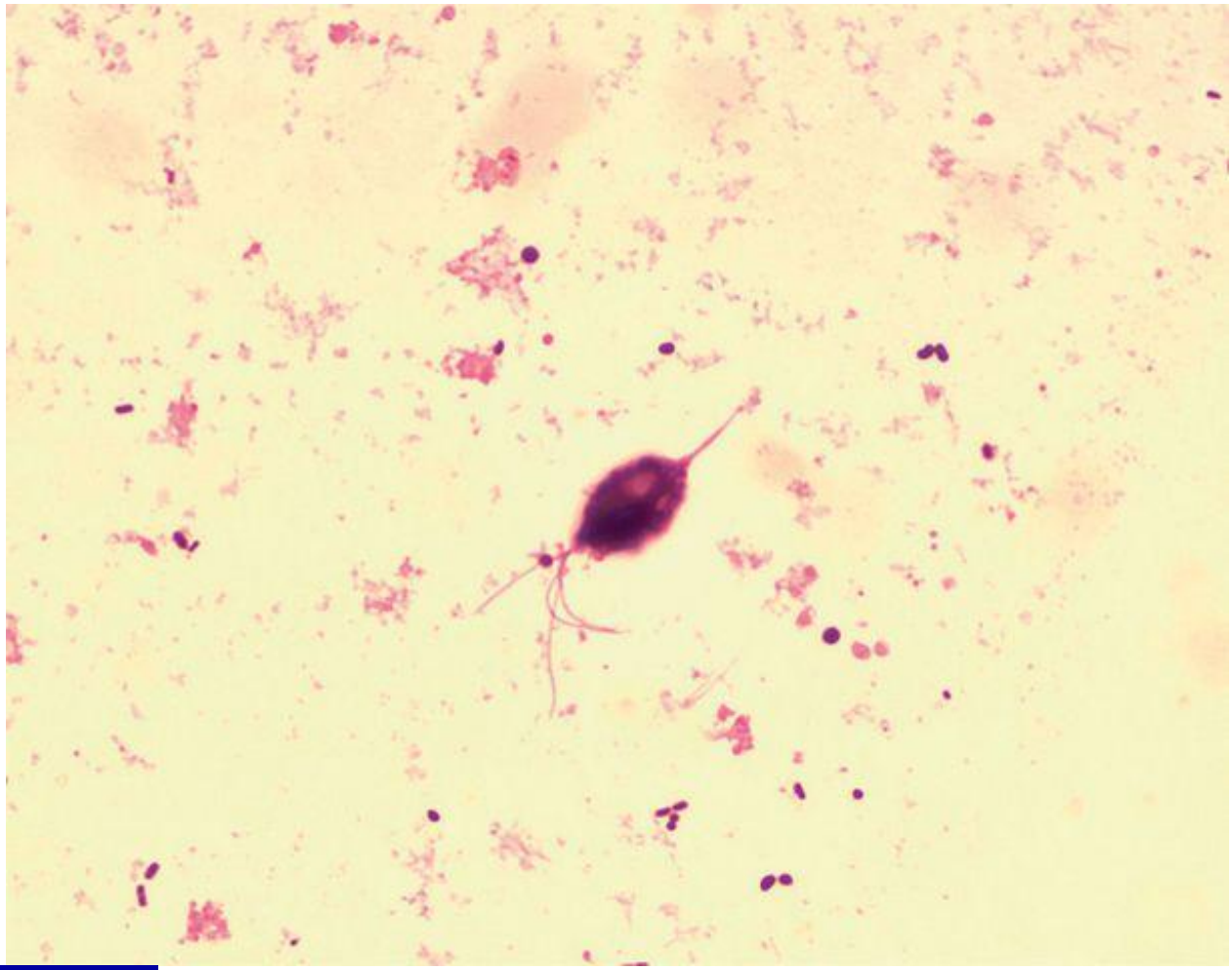


Figura 81-6 Trofozoíta de *Trichomonas vaginalis*. O trofozoíta mede de 7 a 23μm de comprimento e 6 a 8μm de largura (em média 13 × 7μm). Os flagelos e uma curta membrana ondulante estão presentes em um dos lados, e um axóstilo se estende pela porção central do parasito.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o metronidazol. Ambos parceiros sexuais (homens e mulheres) devem ser tratados para evitar reinfecção. A resistência ao metronidazol foi descrita e pode tornar necessária a repetição do tratamento usando doses mais altas. Mais recentemente, o U. S. Food and Drug Administration (FDA) aprovou o uso de tinidazol para tratamento da tricomoníase em adultos e poderá ser usado como agente de primeira linha ou em casos refratários ao metronidazol. A higiene pessoal, evitar o compartilhamento de artigos de banho e vestuário, e práticas sexuais seguras são medidas de prevenção importantes. A eliminação do transporte do parasito nos homens é crítica para a erradicação da doença.

Ciliados

O protozoário intestinal *Balantidium coli* é o único membro do grupo de ciliados que é patogênico para o homem. A doença produzida pelo *B. coli* é semelhante à amebíase, uma vez que os organismos produzem substâncias proteolíticas e citotóxicas que promovem invasão tecidual e ulceração intestinal.

Balantidium coli

Fisiologia e Estrutura

O ciclo biológico do *B. coli* é simples, envolvendo a ingestão de cistos infectantes, desencistamento e invasão dos trofozoítas no revestimento mucoso do intestino grosso, ceco e íleo terminal (Fig. 81-7). O trofozoíta é coberto de camadas de cílios semelhantes a fios de cabelo que auxiliam na movimentação. Morfologicamente mais complexo que as amebas, o *B. coli* possui uma espécie de boca afunilada primitiva chamada de **citóstoma**, um macronúcleo e um micronúcleo envolvido no processo reprodutivo, vacúolos digestivos e dois vacúolos contráteis.

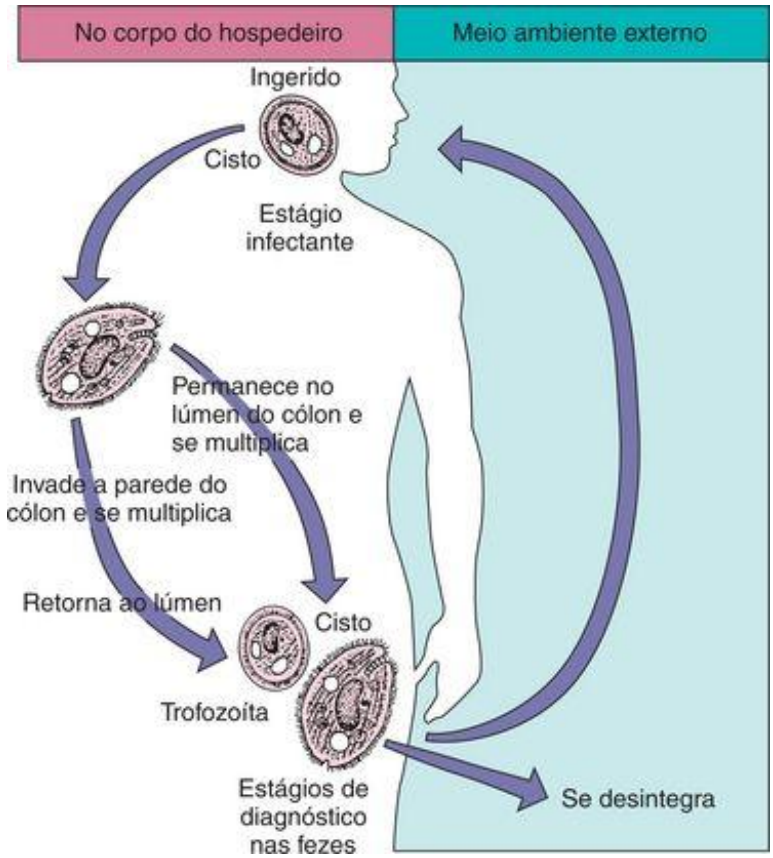


Figura 81-7 Ciclo de vida de *Balantidium coli*.

Epidemiologia

A distribuição de *B. coli* é mundial. Suínos e (menos comumente) macacos são seus reservatórios mais importantes. As infecções são transmitidas através da via fecal-oral; surtos estão associados com a contaminação de abastecimento de água com fezes suínas. A transmissão de pessoa a pessoa, incluindo através de pessoas que manuseiam alimentos, foi implicada em surtos da doença. Entre os fatores de risco associados à doença humana estão o contato com suínos e condições de higiene abaixo do padrão.

Síndromes Clínicas

Como ocorre com outros protozoários parasitas, também pode haver o portador assintomático de *B. coli*. A doença sintomática se caracteriza por uma dor abdominal e sensibilidade, tenesmo, náusea, anorexia e fezes aquosas contendo sangue e pus. Pode ser observada uma ulceração da mucosa intestinal, como na amebíase, e também pode ocorrer uma complicação secundária causada por invasão bacteriana da mucosa intestinal erodida. A invasão extraintestinal de outros órgãos é extremamente rara na balantidíase.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico das fezes é realizado para detectar a presença de cistos e trofozoítas. O trofozoíta é muito grande, com comprimento variando de 50 a 200µm e largura entre 40 e 70µm. A superfície é coberta de cílios e há uma estrutura interna proeminente, o **macronúcleo**. Um **micronúcleo** também está presente. Dois vacúolos pulsáteis e contráteis também são observados em preparações frescas de trofozoítas. O cisto é menor (40 a 60µm de diâmetro), circundado por uma parede clara e refratária possuindo um único núcleo no citoplasma. *B. coli* é um organismo grande comparado a outros protozoários intestinais, sendo prontamente detectado em preparações microscópicas de material fresco.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a tetraciclina, tendo como agentes antimicrobianos alternativos o iodoquinol e o metronidazol. As ações para prevenção e controle são semelhantes àquelas tomadas na amebíase. A higiene pessoal apropriada, a manutenção das condições sanitárias e o monitoramento cuidadoso das fezes suínas constituem medidas preventivas importantes.

Esporozoa (Coccídios)

Esporozoa constitui um grupo muito grande chamado **Apicomplexa** ou **Coccidia**, sendo que alguns de seus membros são discutidos nesta seção junto com os parasitos intestinais e outros serão discutidos juntamente com parasitos do sangue e dos tecidos. Todos os esporozoários demonstram características típicas, especialmente a existência de reprodução assexuada (**esquizogonia**) e sexuada (**gametogonia**). A maioria dos membros do grupo também compartilha hospedeiros alternativos, por exemplo, na malária, mosquitos abrigam o ciclo sexuado e humanos, o ciclo assexuado. Os esporozoários intestinais discutidos neste capítulo são espécies de *Isospora, Sarcocystis, Criptosporidium* e *Cyclospora*.

Isospora belli

Fisiologia e Estrutura

A *I. belli* é um parasito coccídio do epitélio intestinal. Pode haver tanto reprodução sexuada como assexuada no epitélio intestinal, resultando em lesão tecidual (Fig. 81-8). O produto final da gametogênese é o oocisto, que é o estágio utilizado no diagnóstico que está presente nas amostras fecais.

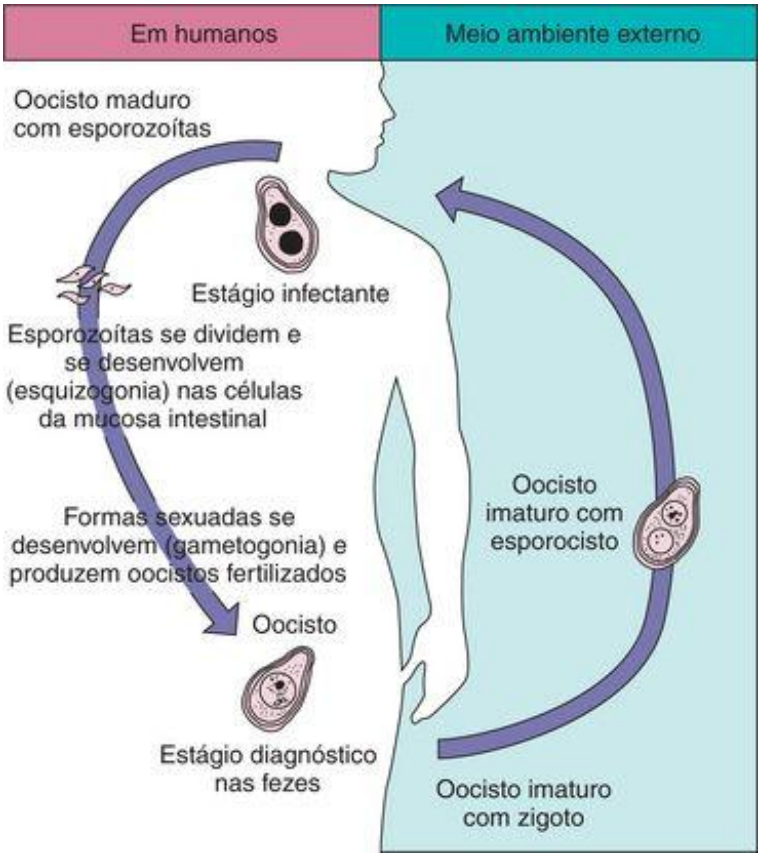


Figura 81-8 Ciclo de vida de espécies de *Isospora*.

Epidemiologia

Organismos de *Isospora* apresentam uma distribuição mundial porém não são detectados com frequência em amostras de fezes. Este parasito tem sido relatado com frequência cada vez maior em pessoas saudáveis e em pacientes imunocomprometidos. Este fato provavelmente seja devido ao aumento da atenção à doença causada por espécies de *Isospora* em pacientes com AIDS. A infecção por este organismo segue-se à ingestão de alimentos e água contaminados, ou pelo contato sexual oral-anal.

Síndromes Clínicas

Indivíduos infectados podem ser portadores assintomáticos ou apresentar uma doença gastrointestinal moderada ou severa. A doença geralmente mimetiza a giardíase, com uma

síndrome de má absorção caracterizada por fezes moles e de odor desagradável. Pode haver diarreia crônica com perda de peso, anorexia, mal-estar e fadiga, embora seja difícil separar tal apresentação da doença subjacente do paciente.

Diagnóstico Laboratorial

O exame cuidadoso do sedimento concentrado de fezes e a coloração com solução de iodo ou pelos métodos derivados da coloração pela fucsina-fenicada revelam o parasito (Fig. 81-9). A biópsia do intestino delgado tem sido utilizada para estabelecer o diagnóstico quando os resultados dos testes realizados com amostras de fezes são negativos.

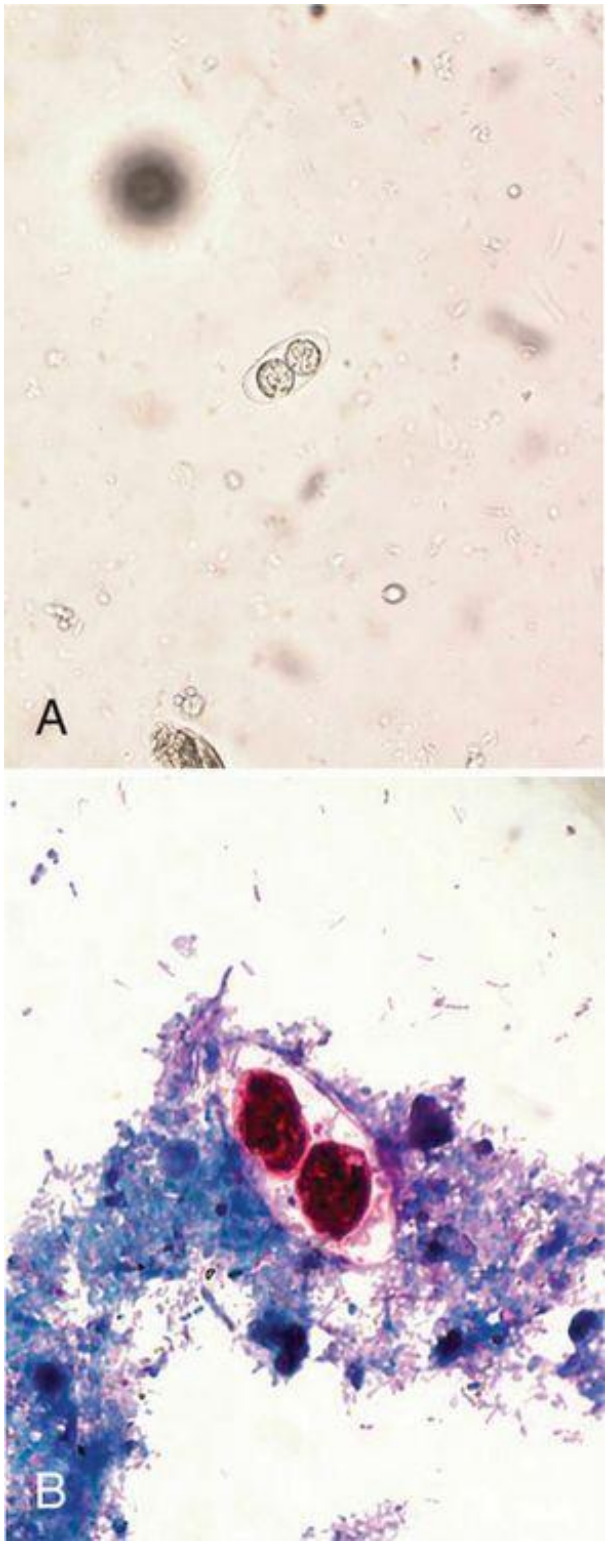


Figura 81-9 Oocisto de *Isospora belli* contendo dois esporoblastos. **A**, exame direto a fresco. **B**, coloração pela fucsina-fenicada. Os oocistos são ovoides (aproximadamente 25µm de comprimento e 15µm de largura) com extremidades cônicas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o trimetoprim-sulfametoxazol, com a combinação de pirimetamina e sulfadiazina como alternativa aceitável. A prevenção e o controle são realizados através da manutenção da higiene pessoal e de boas condições sanitárias, e evitando-se o contato sexual oral-anal.

Espécies de *Sarcocystis*

O conhecimento do gênero *Sarcocystis* pelo médico é importante apenas para saber que os parasitos podem ser detectados em amostras de fezes. Espécies de *Sarcocystis* podem ser isoladas de suínos e do gado, sendo idênticas em todos os aspectos às espécies de *Isospora*, com uma exceção: os oocistos de *Sarcocystis* se rompem antes de passarem para as fezes, nas quais somente os esporocistos estão presentes. A doença intestinal pode ocorrer após a ingestão de carne infectada e é caracterizada por náusea, dor abdominal e diarreia. Alguns indivíduos podem estar infectados sem apresentarem sinais clínicos. Infecções musculares causadas por *Sarcocystis* podem ocorrer no homem em caso de ingestão dos esporocistos, porém geralmente são moderadas ou subclínicas. Não existe tratamento conhecido para a sarcocistose humana, intestinal ou muscular.

Espécies de *Cryptosporidium*

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida das espécies de *Cryptosporidium* é típico dos coccídios, como doença intestinal, porém estas espécies diferem quanto à localização intracelular dos organismos nas células epiteliais (Fig. 81-10). Em contraste à invasão intracelular profunda observada com as espécies de *Isospora*, os organismos de *Cryptosporidium* são encontrados junto à borda em escova do epitélio intestinal. Os coccídios se fixam à superfície das células e se replicam através de uma série de processos (merogonia, gametogonia, esporogonia), levando à produção de novos oocistos infecciosos. Após a esporogonia, os oocistos maduros tanto podem se romper junto ao trato digestivo do hospedeiro causando a infecção de outras células, como podem ser eliminados para o meio ambiente.

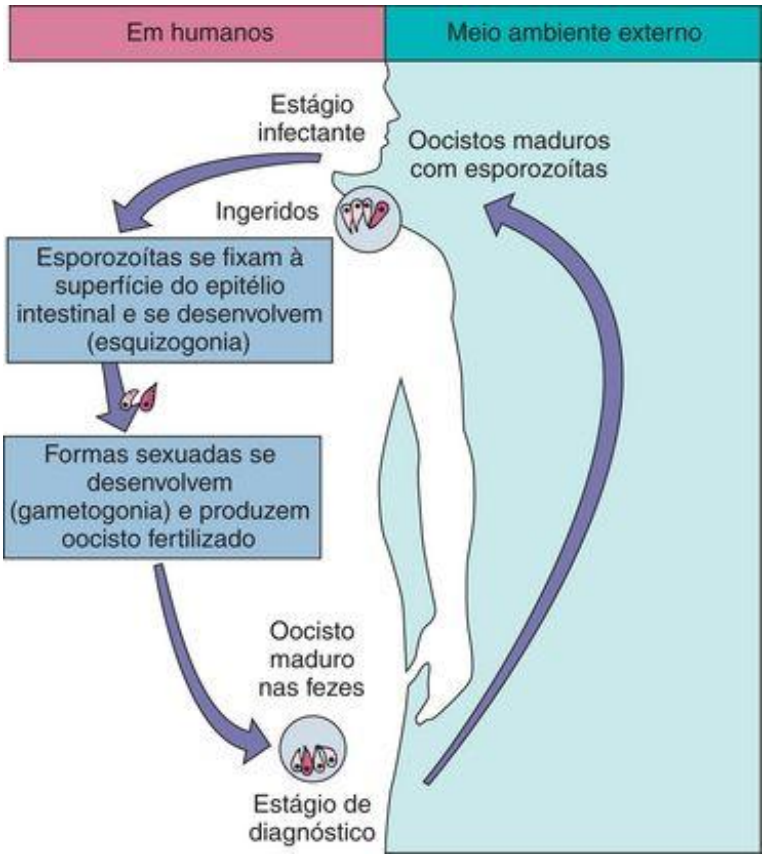


Figura 81-10 Ciclo de vida de espécies de *Cryptosporidium*.

Epidemiologia

As espécies de *Cryptosporidium* são distribuídas mundialmente. A infecção foi descrita em uma grande variedade de animais, incluindo mamíferos, répteis e peixes. Existem pelo menos 16 espécies diferentes de *Cryptosporidium*; entretanto, *C. hominis* e *C. parvum* são as espécies que infectam o homem mais comumente. Atualmente a transmissão da criptosporidiose através da água está bem documentada como sendo uma via de infecção importante. O impressionante surto de criptosporidiose em Milwaukee em 1993 (aproximadamente 300.000 indivíduos infectados) foi associado à contaminação do abastecimento de água municipal. Os criptosporídios são resistentes aos procedimentos

usuais de purificação da água (cloração e ozônio), e acredita-se que o escoamento do lixo local e da água superficial para os reservatórios municipais seja uma fonte de contaminação importante. A disseminação zoonótica a partir de reservatórios animais para o homem, como a transmissão de pessoa a pessoa através das vias fecal-oral e oral-anal, também são meios comuns de infecção. Profissionais veterinários, tratadores de animais e homossexuais estão particularmente expostos ao risco de infecção. Muitos surtos da infecção são descritos em creches, onde a transmissão fecal-oral é comum.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 81-3)

Assim como em outras infecções por protozoários, a exposição a organismos de *Cryptosporidium* pode resultar em transporte assintomático. A doença em indivíduos previamente sadios geralmente é uma **enterocolite** moderada e autolimitante, caracterizada por uma diarreia aquosa e sem sangue. A remissão espontânea depois de 10 dias é característica. Em contraste, a doença em pacientes com comprometimento imunológico (p. ex., pacientes com AIDS), caracterizada por 50 ou mais evacuações por dia e uma tremenda perda de líquidos, pode ser severa e persistir por meses a anos. Infecções disseminadas por *Cryptosporidium* foram descritas em alguns pacientes com AIDS.

Caso Clínico 81-3 Criptosporidiose

Quiroz e colaboradores (J Infect Dis 181:685-700, 2000) descreveram um surto repentino de criptosporidiose ligado a um manipulador de alimentos. No outono de 1998, foi noticiado um surto de gastroenterite entre estudantes universitários ao Ministério da Saúde. Dados preliminares sugeriram que a doença estava associada ao hábito de se alimentar em uma das cafeterias do campus; quatro empregados desta cafeteria apresentavam doença semelhante. A suspeita inicial da causa do surto foi um agente viral até que foi detectada a presença de *Cryptosporidium parvum* em amostras de fezes de vários empregados da cafeteria. Em um estudo de caso-controle com 88 casos de pacientes e 67 indivíduos controle, a alimentação em uma das duas cafeterias mostrou estar associada à doença diarreica. *C. parvum* foi detectado em amostras de fezes de 16 (70%) dos 23 estudantes doentes e em dois dos quatro empregados. Um manipulador de alimentos, que estava doente com cripstosporidiose confirmada por exames laboratoriais, preparou uma refeição crua perto dos dias em que se deu o surgimento da doença. Todos os 25 isolados de *C. parvum* submetidos à análise de DNA, incluindo três provenientes do manipulador de alimentos doente, apresentaram genótipo 1. Este surto ilustra o potencial da criptosporidiose de causar infecções alimentares. Evidências epidemiológicas e moleculares indicam que o manipulador de alimentos doente foi a provável fonte do surto da infecção.

Diagnóstico Laboratorial

O *Cryptosporidium* pode ser detectado em grande número em amostras de fezes concentradas provenientes de indivíduos imunocomprometidos apresentando diarreia. Os oocistos geralmente medem de 5 a 7 mícrons e podem ser concentrados através da técnica modificada de centrífugo-flutuação em sulfato de zinco, ou pelo método de centrífugo-flutuação em sacarose de Sheather. As amostras devem ser coradas usando o método **da fucsina-fenicada** modificado (Fig. 81-11), ou através do ensaio de imunofluorescência indireta. O ensaio imunoenzimático e o ensaio de imunocromatografia para detecção de antígenos fecais estão comercialmente disponíveis. Como o número de oocistos depositados nas fezes pode variar, devem ser examinadas pelo menos três amostras. Procedimentos sorológicos são utilizados em estudos epidemiológicos e de prevalência sorológica, porém ainda não estão amplamente disponíveis para o diagnóstico e o monitoramento das infecções.

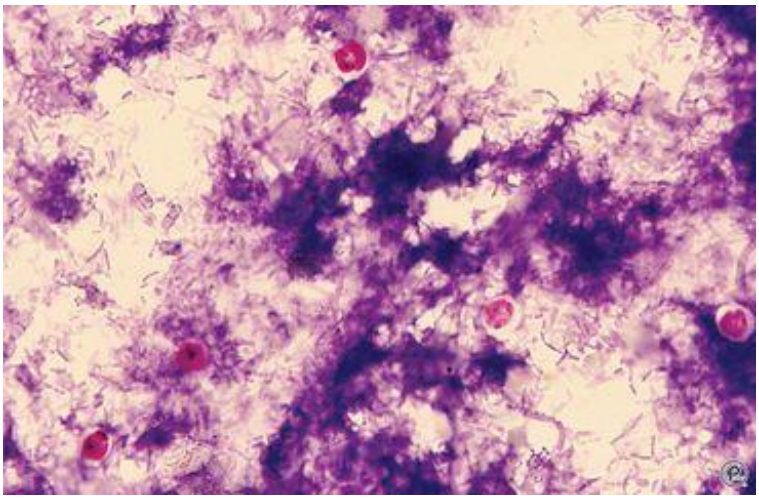


Figura 81-11 Oocistos de *Cryptosporidium* corados através da coloração da fucsina-fenicada (aproximadamente 5 a 7µm de diâmetro).

(De Marler LM et al.: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Tratamento, Prevenção e Controle

Infelizmente nenhuma terapia amplamente efetiva foi desenvolvida para o controle das infecções por *Cryptosporidium* em pacientes imunocomprometidos. A informação terapêutica se baseia muito em casos isolados e anedotas. A espiramicina pode ajudar no controle da diarreia em alguns pacientes em estágios iniciais da AIDS que apresentam criptosporidiose, mas é ineficaz para pacientes aidéticos que já progrediram para estágios mais avançados da doença. A espiramicina não foi mais eficiente que um placebo no tratamento de diarreia crisptosporídica em crianças. A nitazoxanida foi aprovada pelo FDA para o tratamento da criptosporidiose em crianças entre 1 e 11 anos de idade, porém ainda não foi aprovada para o tratamento da infecção em indivíduos imunocomprometidos. Os relatos sobre a eficácia da azitromicina e da paromomicina são promissores, mas ainda necessitam de confirmação. A terapia consiste primariamente da tomada de medidas de suporte para restaurar a tremenda perda de líquidos que ocorre através da diarreia aquosa.

Por causa da ampla distribuição deste organismo em humanos e em outros animais, a prevenção da infecção é difícil. Os mesmos métodos de melhor higiene pessoal e saneamento utilizados para outros protozoários parasitas intestinais devem ser mantidos para esta doença. Abastecimentos de água contaminados devem ser tratados por meio de cloração e filtração. Além disso, evitar atividades sexuais de alto risco é fundamental.

Espécies de *Cyclospora*

Fisiologia e Estrutura

A *Cyclospora* é um parasito coccídio taxonomicamente relacionado a espécies de *Isospora, Cryptosporidium parvum* e *Toxoplasma gondii*. *C. cayetanensis* é a única espécie a infectar o homem identificada até agora.

Apesar dos detalhes de seu ciclo de vida ainda serem indeterminados, os organismos de *Cyclospora* se parecem aos de *Isospora*, pelo fato de que seus oocistos são excretados sem esporulação e requerem a permanência no meio ambiente fora do hospedeiro por um tempo para sofrerem maturação. Os mecanismos patogênicos através dos quais as espécies de *Cyclospora* causam doença clínica são desconhecidos. Contudo, geralmente o organismo infecta o intestino delgado superior e causa alterações histológicas pronunciadas. O organismo é encontrado junto a vacúolos citoplasmáticos nas células epiteliais do jejuno, e sua presença é associada a alterações inflamatórias, atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas.

As características morfológicas das espécies de *Cyclospora* são semelhantes àquelas das espécies de *Isospora* e *C. parvum*, com poucas exceções. Os oocistos de *Cyclospora* são esféricos e medem 8 a 10µm em diâmetro, em oposição aos oocistos menores de *C. parvum* (5 a 7µm) e aos oocistos elípticos maiores das espécies de *Isospora* (15 a 25µm). Os oocistos das espécies de *Cyclospora* contêm dois esporocistos, cada um contém duas esporozoítas, que por sua vez possuem um núcleo ligado à membrana e micronemas característicos dos esporozoários. Em contraste, o oocisto de *Cryptosporidium* contém quatro esporozoítas nus ou não encistados, enquanto o oocisto de *Isospora* contém dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítas.

Epidemiologia

Assim como o *Cryptosporidium, Clyclospora* apresenta uma ampla distribuição mundial e infecta uma variedade de répteis, pássaros e mamíferos. Apesar da transmissão direta animal-homem ou pessoa-pessoa não ter sido documentada, atualmente existem evidências de que a infecção por *Cyclospora* seja adquirida através da água contaminada. Em áreas endêmicas, como no Nepal, estudos documentaram uma ocorrência anual de ciclosporíase que coincide com a estação chuvosa. A prevalência da infecção (sintomática e assintomática) varia de 2% a 18% em áreas endêmicas e está estimada em 0,1% a 0,5% em países desenvolvidos. Surtos que ocorrem nos Estados Unidos durante os meses de verão foram correlacionados ao consumo de frutas e vegetais contaminados, sendo também sugerida a transmissão via água contaminada. Como o *Cryptosporidium*, as espécies de *Cyclospora* são resistentes à cloração, não sendo detectadas prontamente através dos métodos usualmente utilizados para garantir a segurança do abastecimento de água potável.

Síndromes Clínicas

As manifestações clínicas da ciclosporíase se assemelham às da criptosporidiose, e incluem náusea moderada, anorexia, cólicas abdominais e diarreia aquosa. Fadiga, mal-estar, flatulência e inchaço da barriga também foram relatados. Embora em hospedeiros imunocompetentes a diarreia seja autolimitada, pode se prolongar e durar semanas. Entre as pessoas imunocomprometidas, especificamente pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV), a doença clínica é tipicamente prolongada e severa,

se associando a uma elevada taxa de recorrência. Foram relatados dois casos de infecção do trato biliar por *Cyclospora* em pacientes com AIDS.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da ciclosporíase é baseado na detecção microscópica de oocistos nas fezes. Os oocistos devem ser detectados pelo exame microscópico de material fecal não corado (exame direto a fresco), onde aparecem como corpos não refráteis, esféricos ou ovais e levemente enrugados, medindo de 8 a 10µm em diâmetro; estas estruturas também possuem um agregado interno de glóbulos ligados à membrana (Fig. 81-12). Em amostras frescas, os organismos de *Cyclospora* aparecem fluorescentes quando examinados sob a luz ultravioleta de um microscópio de fluorescência, com o filtro de excitação ajustado para 365nm.

Figura 81-12 Oocisto esporulado de *Cyclospora cayetanensis*. Os oocistos medem de 8 a 10µm de diâmetro e contêm dois esporocistos com duas esporozoítas. (Exame direto a fresco em salina; ×900).

(Cortesia de sr. J Williams; de Peters W, Giles HM: Color Atlas of Tropical Medicine and Parasitology, 4th ed. London, Mosby, 1995.)

Os oocistos de *Cyclospora* podem ser concentrados através das técnicas de centrífugo-flutuação em sulfato de zinco, ou de centrífugo-flutuação em sacarose de Sheather. Os organismos são álcool-acidorresistentes e por isso podem ser detectados utilizando-se uma das várias técnicas derivadas da coloração pela fucsina-fenicada existentes, inclusive a coloração modificada de Ziehl-Neelsen ou a coloração de Kinyoun (Fig. 81-13). Um aspecto diferencial dos oocistos das espécies de *Cyclospora* é a variabilidade de coloração diante dos métodos derivados da fucsina-fenicada, variando de descoloridos a rosados, até vermelhos-escuros.

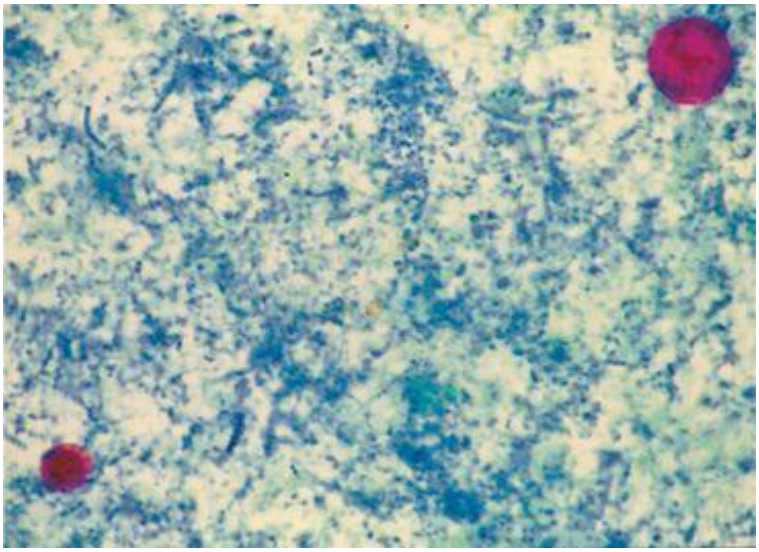


Figura 81-13 Oocistos de *Crypstosporidium parvum* (*abaixo à esquerda*) e de *Cyclospora cayetanensis* (*acima à direita*). Ambos parasitos são corados de vermelho na coloração de Ziehl-Nielsen modificado, porém os organismos de *Cyclospora* tipicamente tomam quantidades variáveis de corante e seus oocistos são maiores (8 a 10µm comparado a 5 a 7µm).

(Cortesia de sr. J Williams; de Peters W, Giles HM: Color Atlas of Tropical Medicine and Parasitology, 4th ed. London, Mosby, 1995.)

A sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo relativos aos vários métodos para o diagnóstico da infecção por *Cyclospora* são desconhecidos. Atualmente não existem técnicas imunodiagnósticas que auxiliem no diagnóstico e monitoramento destas infecções. A natureza rudimentar das técnicas de diagnóstico disponíveis e o conhecimento incompleto dos mecanismos da doença podem contribuir para o sub-reconhecimento da infecção por *Cyclospora*.

Tratamento, Prevenção e Controle

A eficácia do trimetoprim-sulfametoxazol foi demonstrada através de rumores, de um amplo estudo aberto com pacientes aidéticos e de uma triagem controlada por placebo. Em pacientes infectados por HIV, parece que a elevada taxa de recaída pode ser atenuada com uma terapia supressiva por longo período usando trimetoprim-sulfametoxazol. Apesar de muitos agentes adicionais, incluindo metronidazol, nitazoxanida, norfloxacina, quinacrina, ácido nalidíxico, tinidazol e furoato de diloxanida, serem utilizados em várias triagens, nenhum teve sua eficiência comprovada.

Do mesmo modo que as espécies de *Cryptosporidium*, a prevenção da infecção por *Cyclospora* é difícil. Embora os organismos de *Cyclospora* pareçam resistentes à cloração, o tratamento de estações de abastecimento de água com cloração e filtração continua sendo uma prática razoável. Além disso, os mesmos métodos de aperfeiçoamento da higiene pessoal e de saneamento utilizados para outros protozoários intestinais devem ser usados como medidas preventivas para esta doença.

Microsporídios

Fisiologia e Estrutura

Microsporídios são patógenos intracelulares obrigatórios que pertencem ao reino Fungi e ao filo Microspora. Estes organimos são considerados eucarióticos primitivos devido à ausência de mitocôndria, peroxissomas, membranas do complexo de Golgi e outras organelas eucarióticas típicas. Os organismos são caracterizados pela estrutura de seus esporos, que possuem um mecanismo complexo de extrusão tubular usado para injetar o material infectante (esporoplasma) dentro das células. Os microsporídios foram detectados em tecidos humanos e participam da doença no homem. Até hoje, foram descritos sete gêneros de microsporídios (*Encephalitozoon, Pleistophora, Nosema, Vittaforma, Trachipleistophora, Brachiola* e *Enterocytozoon*) e foram detectadas espécies não classificadas de *Microsporidium* no homem.

Patogênese

A infecção por microsporídios se inicia através da ingestão dos esporos. Após a ingestão, os esporos passam para o duodeno, onde o esporoplasma contendo seu material nuclear é injetado em uma célula adjacente no intestino delgado. Uma vez dentro de uma célula conveniente do hospedeiro, os microsporídios se multiplicam intensivamente, tanto junto ao **vacúolo parasitóforo** como livre no citoplasma. A multiplicação intracelular inclui uma fase repetitiva de divisões por fissão binária (**merogonia**) e uma fase que culmina na formação dos esporos (**esporogonia**). Os parasitos se disseminam de célula a célula, causando morte celular e inflamação local. Embora algumas espécies sejam altamente seletivas quanto ao tipo de célula que invadem, coletivamente os microsporídios são capazes de infectar todos os órgãos do corpo, sendo descritas infecções disseminadas em indivíduos severamente imunocomprometidos. Após a esporogonia, os esporos maduros contendo o esporoplasma infectante podem ser excretados no meio ambiente, continuando o ciclo.

Epidemiologia

Os microsporídios são distribuídos mundialmente e apresentam uma ampla gama de hospedeiros entre animais invertebrados e vertebrados. *Enterocytozoon bieneusi* e *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* ganharam atenção crescente como causadores de diarreia crônica em pacientes com AIDS. Existem relatos da presença de organismos do tipo *Encephalitozoon* e do tipo *Enterocytozoon* em tecidos de pacientes aidéticos com hepatite e peritonite. *Trachipleistophora* e *Nosema* são conhecidos por causarem miosite em pacientes com comprometimento imunológico. Espécies de *Nosema* causaram ceratite localizada, como infecção disseminada em uma criança com imunodeficiência severa combinada. Espécies de *Microsporidium* e *Encephalitozoon hellem* têm causado infecção da córnea humana.

Embora o reservatório da infecção humana seja desconhecido, a transmissão parece ocorrer através da ingestão de esporos que são eliminados pela urina e pelas fezes de animais ou pessoas contaminadas. Assim como na infecção criptosporídica, indivíduos com AIDS ou outros defeitos imunológicos celulares parecem apresentar um risco maior para a infecção com microsporídios.

Síndromes Clínicas

Os sinais clínicos e sintomas da microsporidiose são bastante variáveis nos casos humanos reportados (Caso Clínico 81-4). A infecção intestinal causada por *E. bieneusi* em pacientes com AIDS é marcada por uma diarreia persistente e debilitante, semelhante à observada em pacientes com criptosporidiose, ciclosporíase e isosporíase. A apresentação clínica da infecção por outras espécies de Microspora depende do órgão/sistema envolvido, e pode variar de uma dor ocular localizada e perda da visão (espécies de *Microsporidium* e *Nosema*) a distúrbios neurológicos e hepatite (*Encephalitozoon cuniculi*), para uma situação mais generalizada de disseminação com febre, vômito, diarreia e má-absorção (espécies de *Nosema*). Em um relato de infecção disseminada por *Nosema connori*, o organismo foi observado envolvendo os músculos do estômago, intestino, artérias, diafragma e coração, e células parenquimais do fígado, pulmões e glândulas adrenais.

Caso Clínico 81-4 Microsporídios

Coyle e colaboradores (N Engl J Med 351:42-47, 2004) descreveram um caso fatal de miosite devido ao microsporídio *Brachiola algerae*. A paciente era uma mulher com 57 anos de idade com artrite reumatoide e diabetes, apresentando uma história de 6 semanas de fadiga crescente, dores generalizadas nos músculos e articulações, fraqueza profunda e febre. Ela estava tomando agentes imunossupressores (prednisona, metotrexato, leflunomida) para tratar a artrite reumatoide, e não apresentava nenhuma evidência de infecção por HIV. Nos 6 meses anteriores à sua admissão, ela passou a tomar infliximab, um anticorpo monoclonal com alta afinidade para o fator de necrose numoral α (TNF-α). A paciente residia em uma cidade pequena ao nordeste da Pensilvânia e não tinha histórico de viagens recentes. Ela não teve contato com animais. Na admissão, seus níveis de creatina quinase sérica estavam elevados e o teste para HIV resultou negativo. Uma biópsia de tecido muscular retirado da porção anterior da coxa esquerda apresentou microrganismos que eram consistentes com microsporídios. A aparência morfológica sugeriu que se tratava de espécies de *Brachiola*, e a identidade foi confirmada através de PCR com emprego de *primers* específicos para *Brachiola algerae*, um patógeno de mosquitos.

A dor muscular piorou e a paciente se tornou cada vez mais debilitada, necessitando de ventilação mecânica após o desenvolvimento de insuficiência respiratória. Apesar da administração de albendazol e itraconazol, a repetição de uma biópsia de tecido muscular proveniente do lado direito do músculo quadríceps revelou a presença de microsporídios. Quatro semanas após a admissão, a paciente morreu devido a um infarto cerebrovascular massivo. Uma biópsia muscular obtida após a morte revelou necrose e microrganismos persistentes.

B. algerae é um conhecido patógeno microsporídio de mosquitos, porém ainda não havia sido demonstrado como causador de miosite no homem. Este caso ilustra o fato de que patógenos de insetos como *B. algerae* são capazes de causar doença disseminada no homem. A terapia com anti-TNF-α (infliximab) pode ter um efeito adverso na microsporidiose.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por microsporídios pode ser realizado através da detecção de organismos em material de biópsia e através do exame microscópico de líquido cerebroespinhal e de urina. Esporos medindo entre 1µm e 2µm podem ser visualizados empregando-se as técnicas de coloração de Gram (Gram positiva), fucsina-fenicada, ácido periódico de Schiff, imunoquímica e Giemsa (Fig. 81-14). Também foi descrita uma técnica de coloração baseada no *Chromotrope*, utilizada para detecção de esporos de *E. bieneusi* e *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* nas fezes e em aspirados duodenais (Fig. 81-15). A microscopia eletrônica é considerada o padrão ouro para a confirmação do diagnóstico de microsporidiose, embora seu grau de sensibilidade seja desconhecido. Técnicas diagnósticas adicionais, incluindo reação em cadeia da polimerase, cultura e testes sorológicos, estão sendo investigadas. Essas técnicas ainda não são consideradas seguras o bastante para uso no diagnóstico de rotina.

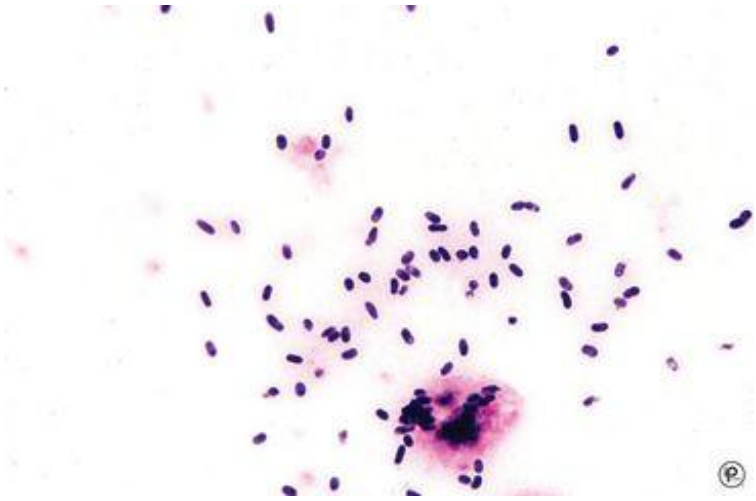


Figura 81-14 Esporos Gram positivos de espécies de *Encephalitozoon*.

(De Marler LM et al.: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

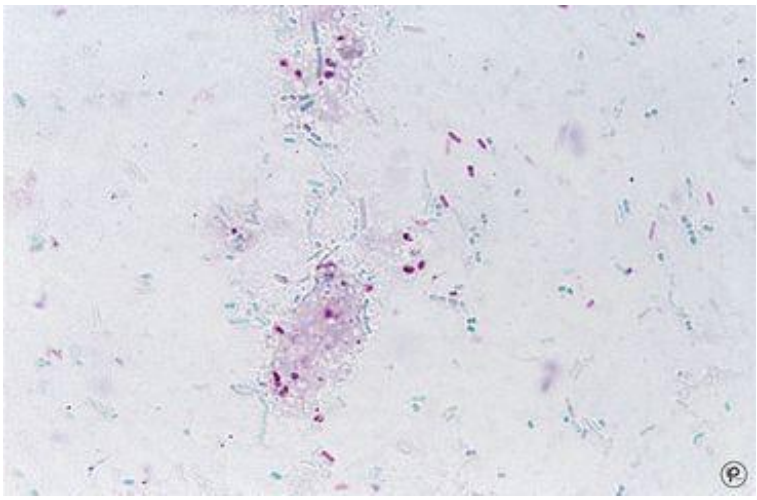


Figura 81-15 Esfregaço de amostra de fezes fixadas em formalina mostrando esporos de microsporídios corados de rosa-avermelhado. As bactérias estão coradas levemente de verde. (Coloração pelo Chromotrope; ×1.000).

(De Marler LM et al.: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003).

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há um tratamento completamente eficiente para as infecções por microsporídios. O tratamento com albendazol resultou na cura clínica da encefalitozoonose associada ao HIV. De modo semelhante, alguns pacientes tratados com sulfas têm sobrevivido. A administração oral de fumagilina resultou em melhora transiente em um pequeno estudo sobre diarreia associada ao HIV causada por *E. bieneusi*. Atualmente o albendazol é o fármaco de escolha para o tratamento da microsporidiose ocular (*Encephalitozoon hellem, E. cuniculi, Vittaforma corneae* [*Nosema corneum*]), intestinal (*Encephalitozoon* [*Septata*] *intestinalis*) e disseminada (*E. hellem, E. cuniculi, E. intestinalis, Pleistophora* spp.) Surpreendentemente, o albendazol não é efetivo contra a infecção por *Enterocytozoon*.

Assim como na infecção por *Cryptosporidium*, a prevenção da infecção por microsporídios é difícil. Os mesmos métodos de aperfeiçoamento da higiene pessoal e das condições sanitárias usados para outros protozoários intestinais devem ser empregados também nesta doença.

Estudo de Caso e Questões

Uma veterinária de 31 anos de idade reclamava de uma diarreia que, segundo ela, já durava 2 semanas. A diarreia foi descrita como diluída, aquosa e sem sangue. A paciente relatava uma frequência de 10 a 14 evacuações diarreicas por dia, que não era afetada por uma variedade de medicamentos antidiarreicos sem contraindicação.

O exame físico revelou uma mulher bem desenvolvida e bem nutrida, que parecia um tanto fatigada e moderadamente desidratada. O exame médico completo incluiu um teste sorológico negativo para HIV, um exame de sigmoidoscopia flexível normal e uma cultura de fezes negativa para bactérias patogênicas. Um exame microscópico das fezes para detectar a presença de leucócitos resultou negativo, bem como um teste para toxina de *Clostridium difficile*. Uma amostra de fezes foi enviada para exame parasitológico de fezes e, depois de terem sido utilizados métodos de concentração adequados, foram demonstrados oocistos álcool-ácido resistentes.

1. Qual parasito foi encontrado nas fezes da paciente?

1. A história e o quadro clínico sugerem infecção por *Cryptosporidium parvum*.

2. Qual poderia ser a fonte da infecção deste indivíduo?

2. Considerando a ocupação da paciente, a mais provável fonte foi aquisição zoonótica de um de seus pacientes animais.

3. Se esse indivíduo fosse HIV positivo, quais outros patógenos intestinais deveriam ser considerados?

3. Além da criptosporidiose, pacientes infectados com HIV estão em risco para infecção com *E. histolytica, Giardia, Isospora* e *Microsporidia*. Ambos *Isospora* e *Microsporidia* produzem um quadro clínico semelhante ao da criptosporidiose.

4. Além da microscopia convencional, quais outros métodos poderiam ter sido utilizados

para diagnosticar esta infecção?

4. A criptosporidiose pode ser diagnosticada por coloração imunofluorescente e por detecção de antígeno.

5. Esta paciente deveria ter recebido uma terapia antimicrobiana específica? Caso devesse, qual deveria ter sido prescrita? Caso não devesse, por quê?

5. Em indivíduos imunocompetentes a criptosporidiose é autolimitada e não requer terapia antimicrobiana específica. Atualmente, não existe terapia eficaz para criptosporidiose em pacientes imunocomprometidos. Espiramicina, nitazoxanida, azitromicina e paromomicina representam promessas em diferentes grupos de pacientes. A terapia consiste primariamente de medidas paliativas para reestabelecer a severa perda de fluidos devido à diarreia aquosa.

Bibliografia

Adam RD. Biology of Giardia lamblia. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:447-475.

Cama VA, Ross JM, Crawford S, et al. Differences in clinical manifestations among Cryptosporidium species and subtypes in HIV-infected person. *J Infect Dis*. 2007;196:684-691.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases, vol 2. Stamford: Conn, Appleton & Lange, 1997.

Espinosa-Cantellano M, Martinez-Palomo A. Pathogenesis of intestinal amebiasis: From molecules to disease. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:318-331.

Fayer R. Sarcocystis spp. in humans. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:894-902.

Fotedar R, et al. Laboratory diagnostic techniques for Entamoeba species. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:511-532.

Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:114-128.

Herwaldt BL. Cyclospora cayetanensis: A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. *Clin Infect Dis*. 2000;31:1040-1057.

Hunter PR, Nichols G. Epidemiology and clinical features of Cryptosporidium infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:145-154.

Leber AL, Novak SM, et al. Intestinal and urogenital amebae, flagellates, and ciliates. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Lindsay DS, Upton SJ, Weiss LM, et al. Isospora, Cyclospora, and Sarcocystis. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Mathis A, Weber R, Deplazes P. Zoonotic potential of microsporidia. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:423-445.

Peters W, Giles HM. Color Atlas of Tropical Medicine and Parasitology, 4th ed., London: Mosby, 1995.

Weber R, Mathis A, Deplazes P, et al. Microsporidia. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.

Xiao L, et al. Cryptosporidium taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:72-97.

Xiao L, Cama V, et al. Cryptosporidium. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

82 Protozoários do Sangue e dos Tecidos

Os protozoários do sangue e dos tecidos estão relacionados de maneira próxima aos protozoários parasitas intestinais em praticamente todos os aspectos, exceto por seus respectivos sítios de infecção (Quadro 82-1). Os parasitos da malária (espécies de *Plasmodium*) infectam tanto o sangue como os tecidos.

Quadro 82-1 Protozoários Sanguíneos e Teciduais de Importância Médica

Espécies de:
Plasmodium
Babesia
Toxoplasma
Sarcocystis
Acanthamoeba
Balamuthia
Naegleria
Leishmania
Trypanosoma

Espécies de *Plasmodium*

Os plasmódios são parasitos coccídios ou esporozoários das células do sangue e, como ocorre com outros coccídios, exigem dois hospedeiros: o mosquito, para os estágios de reprodução sexuada, e o homem e outros animais para os estágios de reprodução assexuada. A infecção por *Plasmodium* spp. (*i.e.*, malária) é responsável por 1 a 5 bilhões de episódios febris e por 1 a 3 bilhões de mortes anualmente, sendo 85% na África (Caso Clínico 82-1).

Caso Clínico 82-1 Malária

Mohin & Gupta (Infec Dis Clin Pract 15:209-212, 2007) descrevem um caso de malária severa causada por *Plasmodium vivax*. O paciente era um homem de 59 anos de idade que apresentava uma história de febre alta a 1 dia após ter voltado das Guianas, na América do Sul. Ele não havia tomado nenhuma medicação antes, durante ou após a viagem. Ele percebeu que seus sintomas eram parecidos aos de uma infecção malárica que ele tinha adquirido anteriormente (5 anos atrás) também nas Guianas. Um esfregaço de sangue periférico demonstrou numerosas hemácias contendo esquizontes, consistente com uma infecção por *Plasmodium*, com mais de 5% de parasitemia. Vários testes sanguíneos, incluindo o da reação em cadeia da polimerase (PCR), foram enviados para a determinação da espécie do parasito. O paciente tinha iniciado uma terapia oral com quinina e doxiciclina devido à preocupação com relação à malária resistente à cloroquina. Durante os 4 dias subsequentes, o paciente desenvolveu trombocitopenia grave, insuficiência renal não oligúrica, insuficiência respiratória aguda circulatória, apesar de a parasitemia ter sido reduzida para menos de 0,5%. Ele recebeu quinina por via endovenosa e uma transfusão de sangue para tratar uma infecção por *P. falciparum*, da qual havia suspeitas no momento devido à severidade dos sintomas. Entretanto, no dia seguinte, os resultados da PCR das amostras de sangue revelaram que o parasito era *P. vivax* e não *P. falciparum*. O paciente melhorou gradualmente e foi tratado com primaquina para prevenir uma recaída.

Este caso mostra que, embora incomum, o comprometimento respiratório e circulatório severo pode complicar a malária causada por *P. vivax*. *P. vivax* deve ser considerado quando a condição do paciente piora apesar da presença de níveis relativamente baixos do parasito. Em oposição a *P. falciparum*, as infecções causadas por *P. vivax* trazem o risco adicional de uma recaída, a qual justifica um tratamento adequado e apropriado. Finalmente, este caso também enfatiza a importância da quimioprofilaxia e de medidas de proteção pessoal para qualquer um que esteja planejando viajar para uma região infestada pela malária.

As quatro espécies de plasmódios que infectam os humanos são *P. vivax, P. ovale, P. malariae e P. falciparum* (Tab. 82-1). Estas espécies compartilham um ciclo biológico em comum, conforme ilustrado na Fig. 82-1. A infecção humana inicia com a picada de um mosquito *Anopheles*, que introduz os **esporozoítas** infectantes do plasmódio no sistema circulatório através de sua saliva. Os esporozoítas são carregados até as células parenquimatosas do fígado, onde ocorre a reprodução assexuada (**esquizogonia**). Esta fase do crescimento é denominada **ciclo exoeritrocítico** e tem duração de 8 a 25 dias, dependendo da espécie de plasmódio. Algumas espécies (p. ex., *P. vivax, P. ovale*) podem estabelecer uma fase hepática dormente na qual os esporozoítas (chamados de **hipnozoítas** ou **formas adormecidas**) não se dividem. A presença destes plasmódios viáveis pode levar à recaída de infecções depois de meses e até anos da doença clínica inicial (malária recrudescente). Os hepatócitos eventualmente se rompem, liberando plasmódios (chamados d e **merozoítas** neste estágio), que por sua vez se fixam a receptores específicos na superfície dos eritrócitos e entram nas células, iniciando, assim, o ciclo eritrocítico.

Tabela 82-1 Parasitos da Malária Humana

Parasito	**Doença**
Plasmodium vivax	Malária terçã benigna
P. ovale	Malária terçã benigna ou ovale
P. malariae	Malária quartã ou malárica
P. falciparum	Malária terçã maligna

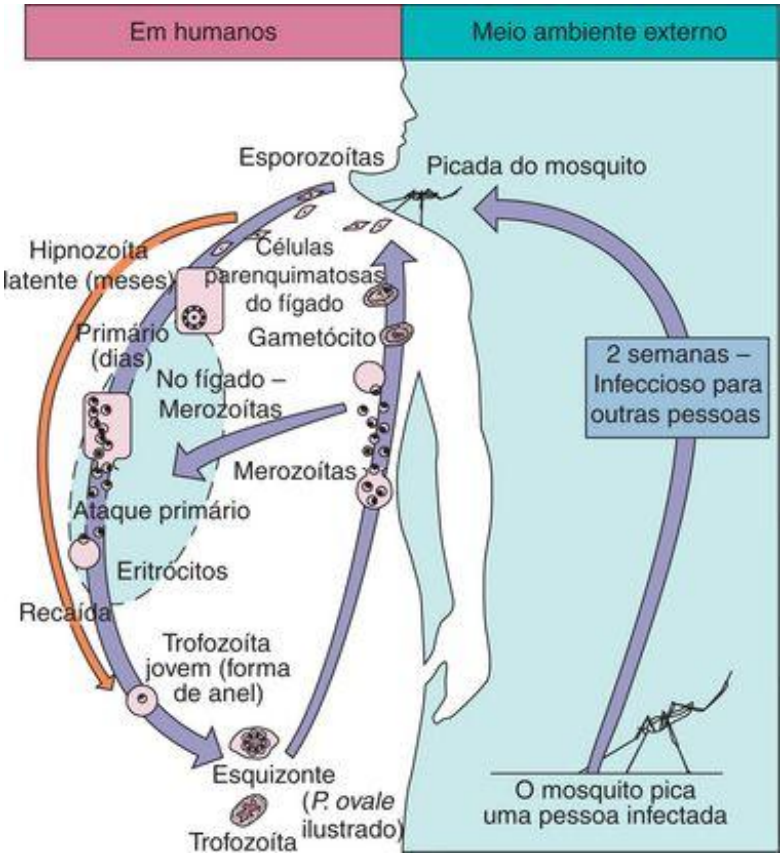


Figura 82-1 Ciclo de vida das espécies de *Plasmodium*.

A replicação assexuada progride através de uma série de estágios (trofozoíta jovem, trofozoíta maduro, esquizonte) que culminam na ruptura do eritrócito com liberação de até 24 merozoítas, que iniciam outro ciclo de replicação ao infectarem outros eritrócitos. Alguns merozoítas também se desenvolvem nos eritrócitos em **gametócitos** masculinos e femininos. Se um mosquito ingere gametócitos masculinos e femininos maduros quando realiza a hematofagia, o ciclo reprodutivo sexuado da malária pode ser iniciado, com eventual produção de esporozoítas infecciosos para o homem. Este estágio de reprodução sexuada no mosquito é necessário para a manutenção da malária em uma população.

A maioria dos casos de malária observada nos Estados Unidos é adquirida através de visitantes ou de residentes de países onde a doença é endêmica (**malária importada**). Entretanto, o vetor adequado, o mosquito *Anopheles*, é encontrado em várias regiões dos Estados Unidos, e a transmissão doméstica da doença tem sido observada (**malária introduzida**). Além da transmissão por mosquitos, a malária também pode ser adquirida através de transfusões de sangue proveniente de um doador infectado (**malária de transfusão**). Este tipo de transmissão também pode ocorrer entre viciados em narcóticos que compartilham agulhas e seringas. A aquisição por via congênita, embora rara, também é um meio possível de transmissão (**malária congênita**).

Plasmodium vivax

Fisiologia e Estrutura

O *P. vivax* (Fig. 82-2) é seletivo no sentido de que só invade eritrócitos jovens e imaturos, contendo o **antígeno sanguíneo de Duff** na superfície celular (Cap. 78). Nas infecções causadas por *P. vivax*, as hemácias infectadas geralmente estão maiores e contêm numerosos grânulos cor-de-rosa ou **granulações de Schüffner**, o trofozoíta jovem tem a forma de um anel e aparência ameboide, os trofozoítas mais maduros e esquizontes eritrocíticos contêm até 24 merozoítas, e os gametócitos são redondos. Muitasvezes os esquizontes maduros contêm grânulos de pigmento **hemozoína** marrom-dourado (**pigmento malárico**). Estas características são úteis na identificação de espécies específicas de plasmódios, o que é importante para o tratamento da malária.

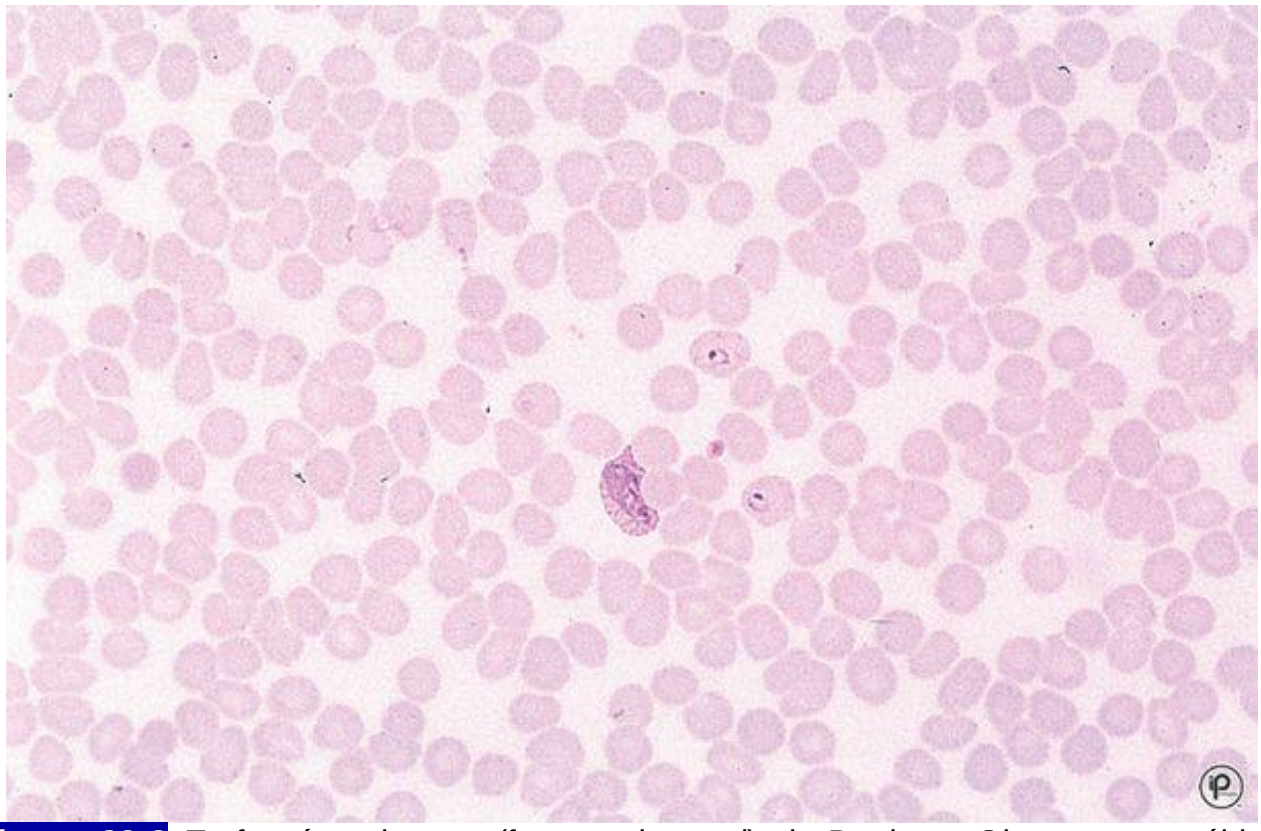


Figura 82-2 Trofozoítas jovens (formas de anel) de *P. vivax*. Observe os múltiplos estágios do parasito vistos no esfregaço de sangue periférico, os eritrócitos parasitados aumentados e a presença das granulações de Schüffner com a forma trofozoítica. Estas são características das infecções por *P. vivax*.

(De Marler L.M.et al.: parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Epidemiologia

O *P. vivax* é o plasmódio humano mais prevalente, com maior distribuição geográfica, incluindo trópicos, subtrópicos e regiões temperadas.

Síndromes Clínicas

Após um período de incubação (geralmente 10 a 17 dias), o paciente apresenta sintomas vagamente semelhantes aos de uma gripe, com dores de cabeça, dores musculares, fotofobia, anorexia, náusea e vômitos.

Conforme a infecção progride, um número aumentado de eritrócitos se rompe e libera merozoítas, como restos celulares tóxicos e hemoglobina na circulação. Consequentemente há produção de um **padrão típico de arrepios, febre e rigidez malárica**. Estes **paroxismos** costumam reaparecer periodicamente (geralmente a cada 48 horas), conforme o ciclo de infecção, replicação e lise celular progride. Os paroxismos podem permanecer relativamente moderados ou progredir para ataques severos, com horas de sudorese, arrepios, tremores, temperaturas persistentemente elevadas (39,4°C a 41,1°C) e exaustão.

O *P. vivax* é o causador da "malária terçã benigna", que se refere ao ciclo de paroxismos a cada 48 horas (em pacientes não tratados) e ao fato de a maioria dos pacientes tolerar os ataques e poder sobreviver durante anos sem ser tratada. Porém, caso não sejam tratadas, as infecções crônicas por *P. vivax* podem causar danos ao cérebro, rins e fígado como resultado da deposição de pigmento malárico, restos celulares e entupimento de capilares por massas de eritrócitos aderentes nestes órgãos.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico de esfregaços sanguíneos espessos e delgados é o método de escolha para confirmar o diagnóstico clínico de malária e para identificar espécies específicas que sejam responsáveis pela doença. O esfregaço espesso (ou gota espessa) é um método de concentração e pode ser usado para detectar a presença dos organismos. Com treinamento, os esfregaços espessos também podem ser utilizados para diagnosticar espécies. O esfregaço delgado é mais útil no estabelecimento da identificação das espécies. Esfregaços de sangue podem ser obtidos a qualquer tempo durante o curso da infecção, porém o melhor momento é entre os paroxismos de arrepios e febre, quando o maior número de organismos intracelulares está presente. Pode ser necessário repetir a obtenção dos esfregaços em intervalos de 4 a 6 horas.

Procedimentos sorológicos estão disponíveis, porém estes somente são utilizados primariamente para estudos epidemiológicos ou para triagem de doadores de sangue. A sorologia geralmente permanece positiva durante aproximadamente 1 ano, mesmo após o tratamento completo da infecção.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da infecção por *P. vivax* envolve uma combinação de medidas de suporte e quimioterapia. Repouso, alívio da febre e da cefaleia, controle do balanço hídrico e, em alguns casos, transfusão de sangue são terapias de apoio.

Os regimes quimioterápicos são:

1. Supressivo—visa evitar a infecção e os sintomas clínicos (*i.e.*, uma forma de profilaxia)

2. Terapêutico—objetiva erradicar o ciclo eritrocítico

3. Cura radical—objetiva erradicar o ciclo exoeritrocítico no fígado

4. Gametocida—objetiva destruir os gametócitos eritrocíticos para prevenir a transmissão pelo mosquito

A cloroquina é o fármaco de escolha para a supressão e o tratamento terapêutico de *P. vivax*, seguida da primaquina para a cura radical e eliminação dos gametócitos. Formas de *P. vivax* cloroquinarresistentes têm surgido na Indonésia, nas ilhas Salomão, Nova Guiné e no Brasil. Pacientes infectados com estas formas resistentes de *P. vivax* podem ser tratados com outros agentes, incluindo mefloquina ± artesunato, quinina, sulfadoxina-pirimetamina (Fansidar®) e doxiciclina. A primaquina é especialmente efetiva na prevenção da recaída de formas latentes de *P. vivax* no fígado. Como as drogas antimaláricas são potencialmente tóxicas, é imperativo que os médicos tenham cuidado ao recomendarem regimes terapêuticos.

A quimioprofilaxia e a pronta erradicação das infecções são críticas para a interrupção do ciclo de transmissão mosquito-homem. O controle da procriação do mosquito e a proteção dos indivíduos através de triagem, uso de telas, roupas protetoras e repelentes de insetos também são essenciais. Imigrantes de áreas endêmicas e viajantes que se dirigem a essas áreas devem passar por uma triagem cuidadosa, com emprego de esfregaços sanguíneos ou testes sorológicos para detectar uma possível infecção. O desenvolvimento de vacinas para proteção das pessoas que vivem em áreas endêmicas ou que viajam para essas áreas está sendo investigado.

Plasmodium ovale

Fisiologia e Estrutura

O *P. ovale* é semelhante ao *P. vivax* em muitos aspectos, incluindo sua seletividade por eritrócitos jovens e flexíveis. Como consequência, a célula hospedeira se torna maior e deformada, adquirindo usualmente uma forma oval. As granulações de Schüffner aparecem como grânulos de cor rosa pálido e as bordas da célula se apresentam frequentemente fimbriadas ou dentadas. O esquizonte de *P. ovale*, quando maduro, contém cerca de metade do número de merozoítas observado para *P. vivax* e o pigmento malárico tem cor marrom-escuro.

Epidemiologia

O *P. ovale* distribui-se primariamente pela África tropical, onde muitas vezes é mais prevalente que *P. vivax*. Também é encontrado na Ásia e na América do Sul.

Síndromes Clínicas

O perfil clínico dos ataques terçãos na infecção por *P. ovale* (terçã benigna ou malária ovale) é semelhante ao de *P. vivax*. Infecções não tratadas duram cerca de um ano, ao invés de vários anos como para *P. vivax*. Ambas as fases de recaída e recrudescência são similares às de *P. vivax*.

Diagnóstico Laboratorial

Assim como para *P. vivax*, esfregaços sanguíneos espessos e delgados são examinados para pesquisa de células hospedeiras ovais típicas contendo granulações de Schüffner e uma parede celular irregular. Testes sorológicos revelam reação cruzada com *P. vivax* e outros plasmódios.

Tratamento, Prevenção e Controle

O regime de tratamento, incluindo o uso de primaquina para prevenir recaídas a partir de formas latentes que possam estar no fígado, é semelhante ao utilizado no tratamento de infecções por *P. vivax*. A prevenção das infecções causadas por *P. ovale* envolve as mesmas medidas que são tomadas para prevenir infecções por *P. vivax* e outros plasmódios.

Plasmodium malariae

Fisiologia e Estrutura

Contrastando com *P. vivax* e *P. ovale, P. malariae* infecta somente eritrócitos maduros com membranas celulares relativamente rígidas. Como resultado, o crescimento do parasito deve se acomodar ao tamanho e à forma da hemácia. Diferentemente do que se observa com *P. vivax* e *P. ovale*, a hemácia não aumenta de tamanho nem sofre deformação em decorrência do crescimento do parasito, sendo que o que se observa é que o parasito apresenta formas diferentes na célula hospedeira: “formas de fita e de barra”, e também formas muito compactas e de coloração escura. O esquizonte de *P. malariae* não causa alargamento ou deformação da hemácia, sendo usualmente composto por 8 merozoítas que formam uma roseta circundando um grânulo central de pigmento marrom-escuro. Ocasionalmente, grânulos avermelhados chamados de **granulações de Ziemann** são observados na célula hospedeira.

Diferente de *P. vivax* e *P. ovale*, não são encontrados hipnozoítas de *P. malariae* no fígado e não ocorrem recaídas. Há recrudescência e pode haver o desenvolvimento de ataques após uma diminuição aparente dos sintomas.

Epidemiologia

A infecção por *P. malariae* ocorre primariamente nas mesmas regiões subtropicais e temperadas onde os outros plasmódios ocorrem, porém de forma menos prevalente.

Síndromes Clínicas

O período de incubação do *P. malariae* é o maior entre os plasmódios, e embora geralmente dure 18 a 40 dias, pode durar vários meses a anos. Os primeiros sintomas são semelhantes aos de uma gripe, com padrões de febre com periodicidade de 72 horas (malária malárica ou quartã). Os ataques variam de moderados a severos e duram várias horas. Infecções não tratadas podem durar 20 anos.

Diagnóstico Laboratorial

A observação dos característicos trofozoítas em **forma de fita e de barra e do esquizonte em roseta** em esfregaços sanguíneos espessos e delgados estabelece o diagnóstico da infecção por *P. malariae*. Nota-se que os testes sorológicos mostram reação cruzada com outros plasmódios.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é semelhante ao que se usa para tratar infecções causadas por *P. vivax* e *P. ovale* e deve ser realizado para prevenir infecções recrudescentes. O tratamento para prevenção de recaídas causadas por formas latentes presentes no fígado não é necessário, uma vez que estas formas não se desenvolvem a partir de *P. malariae*. Os mecanismos de

prevenção e controle são os mesmos discutidos para *P. vivax* e *P. ovale*.

Plasmodium falciparum

Fisiologia e Estrutura

O *P. falciparum* não apresenta seletividade quanto aos eritrócitos do hospedeiro e invade qualquer célula em qualquer estágio de sua existência. Também é possível a infecção de um único eritrócito por múltiplos merozoítas. Por isso podem ser vistos de 3 a 4 trofozoítas jovens pequenos em uma célula infectada (Fig. 82-3). *P. falciparum* é observado com frequência junto à extremidade ou periferia da membrana celular da célula hospedeira, aparecendo quase como se estivesse "preso" do lado de fora da célula (Fig. 82-3). A isto dá-se o nome de posição de **apliqué**; ou **accolé**;„ a qual é uma característica que o distingue das outras espécies.

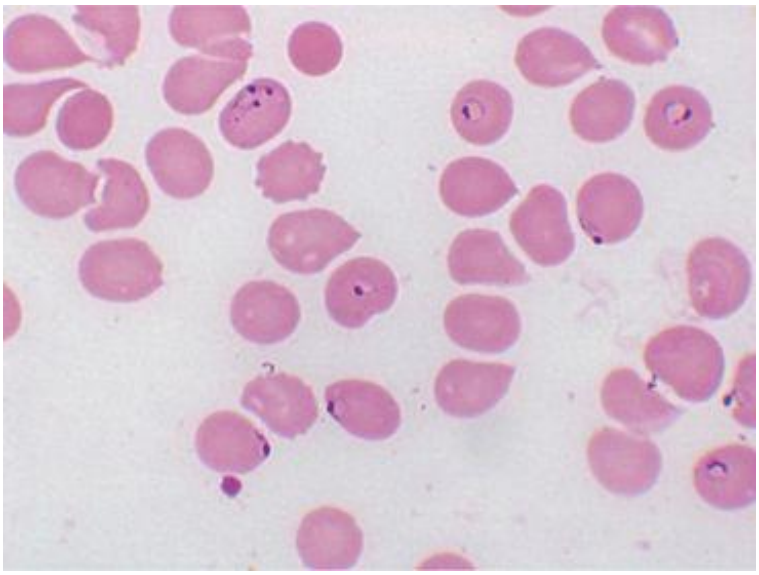


Figura 82-3 Trofozoítas jovens (formas de anel) de *P. falciparum*. Observe o poliparasitismo, múltiplos trofozoítas em eritrócitos individuais, o que é uma característica deste organismo.

Os estágios do crescimento sob as formas de trofozoíta e de esquizonte de *P. falciparum* raramente são vistos em esfregaços de sangue periférico, pois ficam sequestrados no fígado e no baço. Estas formas são encontradas na circulação periférica somente em infecções muito severas. Por isso, os esfregaços sanguíneos de pacientes com malária causada por *P. falciparum* caracteristicamente contêm apenas trofozoítas jovens e ocasionalmente gametócitos. Os típicos gametócitos em crescente são diagnósticos da espécie (Fig. 82-4). As hemácias infectadas não aumentam de tamanho nem ficam deformadas como ocorre na infecção por *P. vivax* e *P. ovale*. Ocasionalmente são observados grânulos avermelhados conhecidos como **granulações de Maurer** em *P. falciparum*.

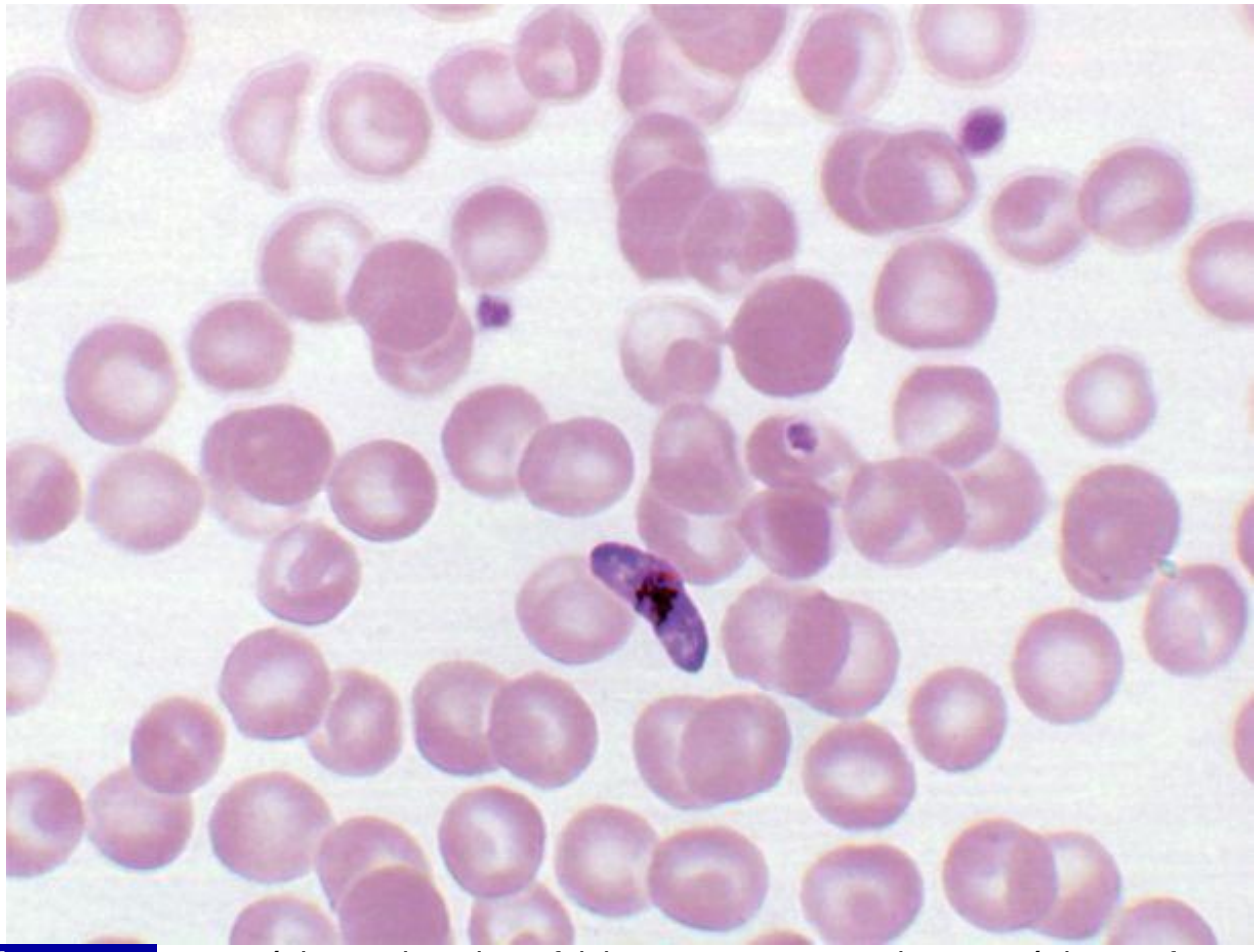


Figura 82-4 Gametócito maduro de *P. falciparum*. A presença deste estágio com forma de 'salsicha' é diagnóstico da malária por *P. falciparum*.

O *P. falciparum*, como *P. malariae*, não produz hipnozoítas no fígado. Não ocorrem recaídas a partir do fígado.

Epidemiologia

O *P. falciparum* ocorre quase exclusivamente em regiões tropicais e subtropicais. Nestas regiões é comum haver coinfecção com HIV o que pode representar um fator de risco para malária severa.

Síndromes Clínicas

O período de incubação de *P. falciparum* é o menor entre os plamódios, variando de 7 a 10 dias, sem se estender por meses ou anos. Após os sintomas iniciais de gripe, *P. falciparum* rapidamente provoca calafrios e febre diários (**cotidianos**), como náuseas severas, vômitos e diarreia. A periodicidade dos ataques se torna terçã (36 a 48 horas), desenvolvendo uma doença fulminante. O termo **malária terçã maligna** é apropriado para esta infecção. Como os sintomas deste tipo de malária são semelhantes aos de infecções intestinais, sintomas de náusea, vômito e diarreia levaram à observação de que a malária corresponde a uma "imitação maligna".

Embora qualquer infecção malárica possa ser fatal, a causada por *P. falciparum* é a que mais provavelmente resulta em morte se não for tratada. O aumento do número de eritrócitos infectados e destruídos resulta na produção de restos celulares tóxicos, aderência de hemácias ao endotélio vascular e a hemácias adjacentes, e obstrução de capilares por massas

contendo hemácias, plaquetas, leucócitos e pigmento malárico.

O envolvimento do cérebro (malária cerebral) é mais frequentemente observado na infecção por *P. falciparum*. A obstrução capilar causada pelo acúmulo de pigmento malárico e massas de células pode levar ao coma e à morte.

A lesão renal também está associada à malária por *P. falciparum*, resultando em uma doença chamada de **febre hemoglobinúrica (febre da urina negra)**. A hemólise intravascular com rápida destruição de hemácias produz uma hemoglobinúria marcante, resultando em falência renal aguda, necrose tubular, síndrome nefrótica e morte. O envolvimento do fígado é caracterizado por dor abdominal, vômito da bile, diarreia severa e rápida desidratação.

Diagnóstico Laboratorial

Realiza-se a pesquisa em esfregaços sanguíneos espessos e delgados dos trofozoítas jovens em forma de anel característicos de *P. falciparum*, que frequentemente são múltiplos em uma única célula, como na posição accolé (Fig. 82-3). Os característicos gametócitos em crescente também são estágios de diagnóstico (Fig. 82-4). Uma parasitemia de grau elevado (>10% das hemácias infectadas) consistindo apenas de trofozoítas jovens é indicativa da infecção por *P. falciparum*, mesmo na ausência de gametócitos.

A equipe do laboratório deve realizar uma pesquisa completa nos esfregaços sanguíneos, podendo ocorrer infecções mistas com uma combinação qualquer das quatro espécies, sendo mais frequente a combinação de *P. falciparum* e *P. vivax*. A detecção e o relato adequado de uma infecção mista afeta diretamente a escolha do tratamento.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da malária se baseia na história do paciente, com relação à realização de viagens para áreas endêmicas, revisão clínica e diagnóstico diferencial imediatos, trabalho laboratorial correto e rápido e utilização correta de fármacos antimaláricos.

Como existem cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina em todas as áreas endêmicas (África, sudeste da Ásia, América do Sul) com exceção da América Central e do Caribe, os médicos devem rever todos os atuais protocolos para o tratamento adequado das infecções por *P. falciparum*, atentando particularmente para as áreas onde há resistência à cloroquina. Se a história do paciente indica que a origem não corresponde a uma área de ocorrência da resistência à cloroquina, o fármaco de escolha é tanto a cloroquina como a quinina parenteral. Pacientes infectados com *P. falciparum* (ou *P. vivax*) resistente à cloroquina podem ser tratados com outros agentes, incluindo mefloquina ± artesunato, quinina, quinidina, sulfadoxina-pirimetamina (Fansidar®) e doxiciclina. Como a quinina e a sulfadoxina-pirimetamina são potencialmente tóxicas, são utilizadas com mais frequência para o tratamento do que para a profilaxia. A amodiaquina, um análogo da cloroquina, é efetiva contra *P. falciparum* resistente à cloroquina, mas seu uso é limitado devido ao grau de toxicidade. Entre os agentes mais novos com excelente atividade contra cepas de *P. falciparum* resistentes a múltiplos fármacos estão os fenantreno metanóis, halofantrina e lumefantrina, e as artemisininas, artemeter e artesunato, ambos derivados de sesquiterpenos (Cap. 80).

Combinações das artemisinas de ação rápida com compostos antimaláricos já existentes ou introduzidos recentemente têm apresentado grande eficácia tanto no tratamento como no controle da malária causada por *P. falciparum*. A redução rápida da biomassa do parasito (aproximadamente 10^8 vezes em 3 dias), promovida pelas artemisininas, deixa um número relativamente pequeno de organismos para o agente secundário (geralmente mefloquina ou lumefantrina) eliminar. Isto reduz consideravelmente a exposição da população de parasitos à mefloquina ou à lumefantrina, reduzindo assim as chances de escape de um mutante

resistente que possa surgir durante a infecção. Combinações de artesunato com mefloquina e de artemeter com lumefantrina têm sido bem toleradas e altamente eficientes no tratamento da malária falcípara resistente a vários fármacos em indivíduos semi ou não imunes.

Embora o argumento para uma transfusão de hemácias na malária severa seja convincente, não existem estudos clínicos prospectivos comparando esta terapia com outras. Entretanto, a troca de hemácias (ou a troca de sangue total), caso disponível, deva ser considerada em casos de malária severa complicada por sinais clínicos de malária cerebral, lesão pulmonar aguda, hemólise severa com acidemia, choque ou um nível de parasitemia alto ou em elevação mesmo diante de uma terapia antimicrobiana endovenosa adequada.

Quando há dúvidas sobre a resistência de *P. falciparum* à cloroquina, aconselha-se assumir que a cepa seja resistente e tratar o paciente adequadamente. Se os registros do laboratório apontam uma infecção mista envolvendo *P. falciparum* e *P. vivax*, o tratamento deve erradicar não apenas *P. falciparum* das hemácias mas também todos os estágios de *P. vivax* presentes no fígado para evitar recaídas. A falha laboratorial na detecção e no registro de tal infecção mista pode resultar em tratamento inadequado e atraso desnecessário na realização da cura completa.

A infecção por *P. falciparum* pode ser prevenida e controlada exatamente da mesma forma como a infecção causada por *P. vivax* e outras malárias humanas.

A resistência à cloroquina complica a supervisão destes pacientes, mas pode ser sobrepujada pela atenção do médico com relação à adequação dos regimes terapêuticos.

Espécies de *Babesia*

Babesia são esporozoários parasitas intracelulares, morfologicamente semelhantes aos plasmódios. A babesiose é uma zoonose que acomete vários animais, como os veados, gado e roedores; o homem é um hospedeiro acidental. A infecção é transmitida por carrapatos ixodídeos. *Babesia microti* é o causador usual da babesiose nos Estados Unidos.

Fisiologia e Estrutura

A infecção humana ocorre através do contato com um carrapato infectado (Fig. 82-5). Os corpos piriformes infectantes são introduzidos na corrente sanguínea e infectam os eritrócitos. Os trofozoítas intraeritrocíticos se multiplicam por fissão binária, formam tétrades e lisam o eritrócito, liberando os merozoítas. Estes podem reinfectar outras células para manter a infecção. As células infectadas também podem ser ingeridas por carrapatos que estejam se alimentando, ocorrendo mais uma replicação. A infecção da população de carrapatos também pode ser mantida através de transmissão transovariana. No homem, as células infectadas são semelhantes às formas trofozoíticas de *P. falciparum*, porém o pigmento malárico e os outros estágios do crescimento caracteristicamente observados nas infecções por plasmódios não são observados em um exame cuidadoso de esfregaços sanguíneos (Fig. 82-6).

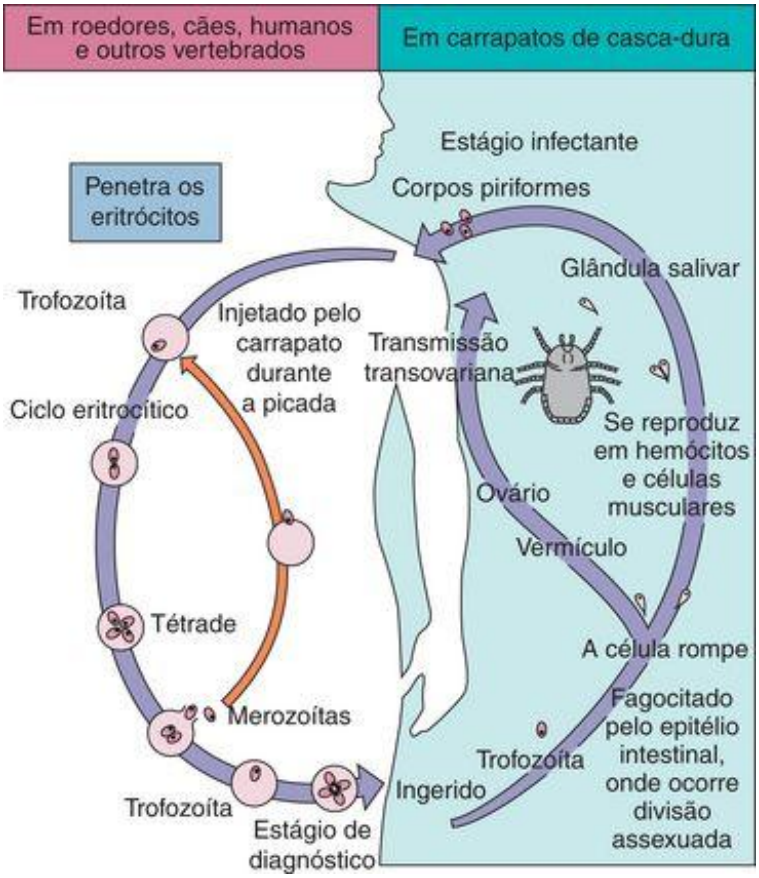


Figura 82-5 Ciclo de vida das espécies de *Babesia*.

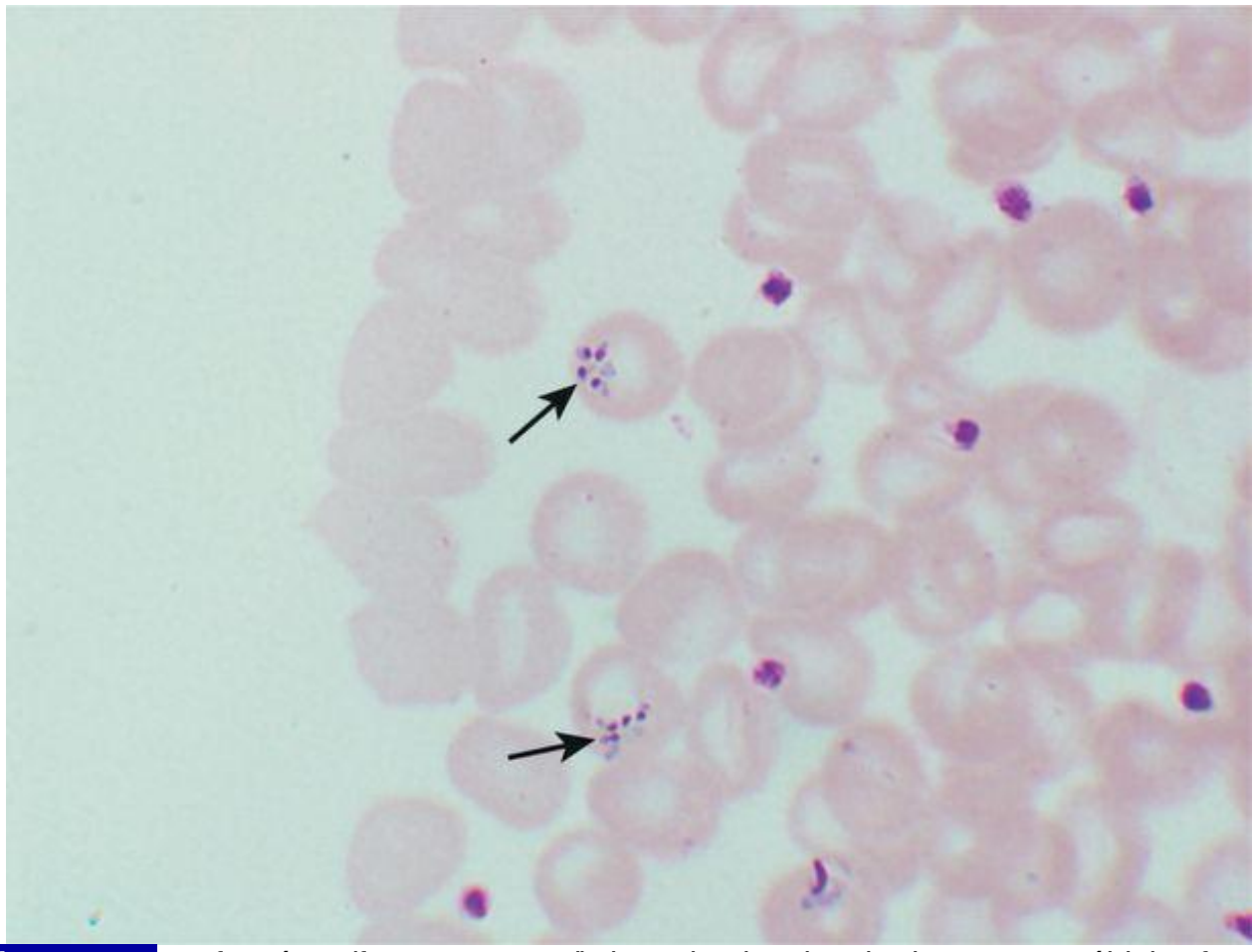


Figura 82-6 Trofozoítas (formas em anel) de *Babesia microti*. Observe as múltiplas formas anelares (setas) em eritrócitos individuais e a similaridade com as formas de *P. falciparum* da Figura 82-3.

Epidemiologia

Mais de 70 espécies diferentes de *Babesia* foram encontradas na África, Ásia, Europa e América do Norte, com *B. microti* sendo responsável pela doença ao longo da costa oceânica a nordeste dos Estados Unidos (p. ex., Ilhas Nantucket, Martha's Vineyard, Shelter). *Ixodes dammini* é o carrapato vetor responsável pelatransmissão da babesiose nesta área, e os hospedeiros que atuam como reservatórios naturais são camundongos, arganazes e outros pequenos roedores. Estudos sorológicos realizados em áreas endêmicas demonstraram uma elevada incidência de exposição anterior à *Babesia*. Presumivelmente, a maioria das infecções é assintomática ou moderada. *B. divergens*, que tem sido registrada com mais frequência na Europa, causa infecções severas e muitas vezes fatais na população de esplenectomizados. Tem sido observada uma parasitemia severa e persistente de *B. microti* em pacientes imunossuprimidos infectados com HIV que posssuem baço intacto. Embora a maioria das infecções ocorra através das picadas dos carrapatos, infecções associadas a transfusões também foram demonstradas.

Síndromes Clínicas

Após um período de incubação de 1 a 4 semanas, os pacientes sintomáticos passam por uma indisposição generalizada, febre sem periodicidade, dor de cabeça, calafrios, sudorese, fadiga e fraqueza. Conforme a infecção progride com aumento da destruição dos eritrócitos, há o desenvolvimento de uma anemia hemolítica e o paciente pode apresentar falência renal. Hepatomegalia e esplenomegalia podem se desenvolver na doença avançada. Pode haver persistência de uma parasitemia de baixo grau durante semanas. Esplenectomia ou asplenia funcional, imunossupressão, infecção por HIV e idade avançada são fatores que aumentam a suscetibilidade de uma pessoa à infecção, como a forma mais severa da doença.

Diagnóstico Laboratorial

O exame de esfregaços sanguíneos é o método diagnóstico de escolha. A equipe laboratorial deve ter experiência na diferenciação entre espécies de *Babesia* e *Plasmodium*. *Babesia* pode mimetizar *P. falciparum*, com multiplicação de hemácias infectadas com pequenos trofozoítas jovens (Fig. 82-6). Pacientes infectados podem apresentar esfregaços negativos devido ao baixo grau de parasitemia. Estas infecções podem ser diagnosticadas através da inoculação de amostras de sangue em hamsters, que são muito suscetíveis à infecção. Testes sorológicos também estão disponíveis para uso diagnóstico.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os fármacos de escolha são a clindamicina combinada à quinina. Outros regimes antiprotozoários, incluindo cloroquina e pentamidina, têm sido utilizados com resultados variáveis. Contudo, a maioria dos pacientes com doença moderada se recupera sem uma terapia específica. A transfusão sanguínea também tem sido bem-sucedida no tratamento de pacientes que sofreram esplenectomia e que apresentaram infecções severas causadas por *B. microti* ou *B. divergens*. O uso de roupas de proteção e repelentes de insetos pode minimizar a exposição ao carrapato em áreas endêmicas, o que é crítico para a prevenção da doença. Os carrapatos devem se alimentar no homem durante várias horas antes que os organismos sejam transmitidos, de forma que a remoção imediata dos carrapatos pode ser protetora.

Toxoplasma gondii (Caso Clínico 82-2)

O *T. gondii* é um coccídio parasita típico, relacionado a *Plasmodium, Isospora* e outros membros do filo Esporozoa. *T. gondii* é um parasito intracelular encontrado em uma grande variedade de animais, incluindo pássaros e humanos. Só existe uma espécie, parecendo apresentar pouca variação entre as cepas. O hospedeiro que atua como reservatório essencial de *T. gondii* é o gato doméstico comum e outros felinos.

Caso Clínico 82-2 Toxoplasmose

Vincent e colaboradores (Infect Med 23:390, 2006) descrevem uma mulher com 67 anos de idade que apresenta 3 anos de história de doença de Hodgkin e que recebeu quimioterapia seguida de transplante autólogo de células-tronco. Logo depois, se tornou febril e neutropênica, sendo iniciado um tratamento com antibióticos de amplo espectro. Os resultados das culturas de sangue e urina foram negativos. Seguindo-se à resolução da neutropenia (1 mês após o transplante), a paciente desenvolveu confusão e letargia. Estudos de imagens cerebrais revelaram microinfartos em ambos os hemisférios e no cérebro intermédio. Com base na suspeita de toxoplasmose, foi realizada a adição de pirimetamina e sulfadiazina ao regime terapêutico da paciente. Quando houve o desenvolvimento de uma necrólise epidérmica, a sulfadiazina foi descontinuada e substituída por clindamicina. Sobreveio uma falência múltipla de órgãos e a paciente morreu 1 semana depois. Na autópsia foi detectada a presença de formas císticas contendo bradizoítas no cérebro e no coração da paciente. Achados histopatológicos e colorações imunohistoquímicas confirmaram o diagnóstico de toxoplasmose disseminada.

A toxoplasmose disseminada é rara, principalmente após o transplante autólogo de células-tronco. A causa provável da reativação e disseminação do *Toxoplasma* nesta paciente foi a imunossupressão mediada por células associada à doença de Hodgkin e seu tratamento. Além do cérebro, o coração, o fígado e os pulmões são envolvidos com frequência nos casos de toxoplasmose disseminada.

Fisiologia e Estrutura

Os organismos se desenvolvem nas células intestinais do gato, bem como durante o ciclo extraintestinal com a passagem para os tecidos através da circulação sanguínea (Fig. 82-7). Os organismos do ciclo intestinal são transmitidos através das fezes do gato e amadurecem se transformando em cistos infectantes no meio ambiente dentro de 3 a 4 dias. Estes oocistos são semelhantes aos de *Isospora belli*, o protozoário parasita intestinal humano, podendo ser ingeridos por camundongos e outros animais (inclusive o homem) e produzir infecção aguda e crônica em vários tecidos, incluindo o cérebro. Nos gatos, a infecção se estabelece quando o animal ingere tecidos de roedores infectados.

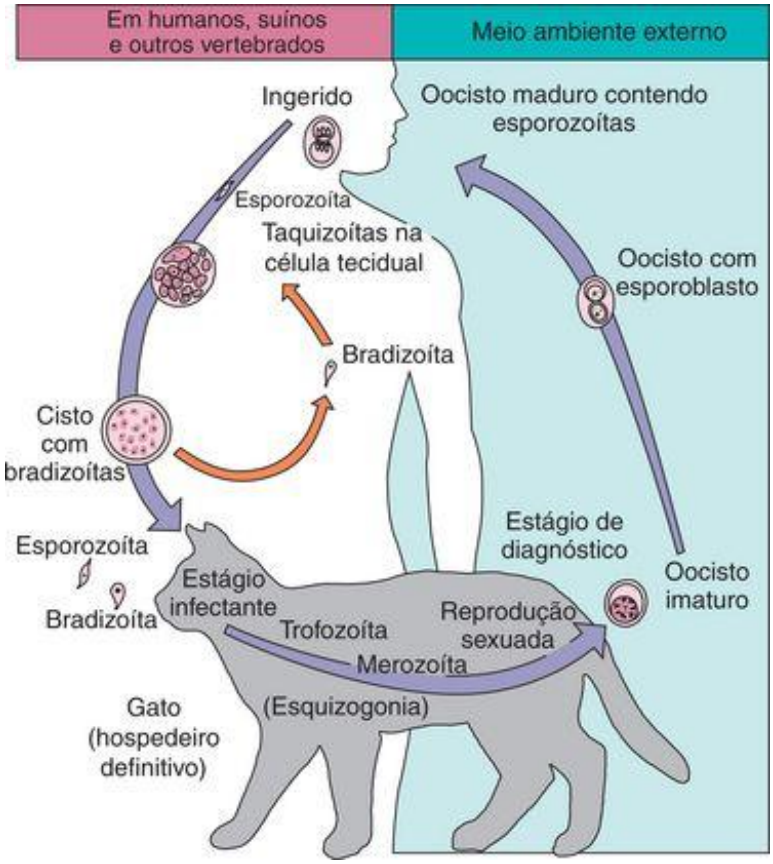


Figura 82-7 Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*.

Algumas formas infectantes (**trofozoítas**) do oocisto se desenvolvem como tipos delgados e em crescente, chamados de **taquizoítas**. Estas formas que se multiplicam rapidamente são responsáveis pela infecção inicial e pela lesão tecidual. Formas menores e de crescimento lento chamadas de **bradizoítas** também se desenvolvem e formam cistos nas infecções crônicas.

Epidemiologia

A infecção humana por *T. gondii* é ubíqua; porém tem se tornado mais aparente que certos indivíduos imunocomprometidos (pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]) são mais propícios ao desenvolvimento de manifestações severas. A grande variedade de animais que abrigam o organismo, carnívoros e herbívoros, bem como pássaros contribui para transmissão amplamente disseminada.

O homem pode ser infectado a partir de duas fontes: (1) ingestão de carne cozida de forma inadequada, obtida de animais que servem de hospedeiros intermediários; e (2) ingestão dos oocistos infectantes a partir das fezes de um gato contaminado. Estudos sorológicos mostram uma prevalência maior em populações humanas onde o consumo de carne crua ou de caldos de carne é popular. Destaca-se o fato de que testes sorológicos de populações humanas e de roedores são negativos nas poucas áreas geográficas onde não existem gatos. Surtos de toxoplasmose nos Estados Unidos geralmente são determinados por carne mal cozida (p. ex., hambúrguer), como pelo contato com fezes de gato.

A infecção transplacentária pode ocorrer na gravidez, tanto a partir da infecção adquirida por meio da ingestão de carne e de caldos de carne como por meio do contato com as fezes de gato. A infecção através da transfusão de sangue contaminado pode ocorrer, mas não é comum. A infecção transplacentária a partir de uma mãe infectada tem efeito devastador sobre o feto.

Embora a taxa de soroconversão seja similar entre os indivíduos em uma mesma localização geográfica, a taxa de infecção severa é afetada dramaticamente pelo status imunológico do indivíduo. Pacientes com defeitos de imunidade celular, principalmente aqueles que estão infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), ou que passaram por um transplante de órgão ou por uma terapia imunossupressiva, são mais propensos a ter uma doença disseminada ou uma doença do sistema nervoso central (SNC). Neste caso, geralmente se acredita que a enfermidade seja causada mais pela reativação de uma infecção prévia latente que por uma nova exposição ao organismo.

Síndromes Clínicas

A maioria das infecções por *T. gondii* são benignas e assintomáticas, com os sintomas ocorrendo à medida que o parasito se move do sangue para os tecidos, onde se torna um parasito intracelular. Quando ocorre uma doença sintomática, a infecção é caracterizada por destruição celular, reprodução de mais organismos e eventual formação de cistos. Muitos tecidos podem ser afetados, entretanto, o organismo tem uma predileção especial pelas células do pulmão, coração, órgãos linfoides e SNC, incluindo os olhos.

Os sintomas de doença aguda são calafrios, febre, dor de cabeça, mialgia, linfadenite e fadiga. Os sintomas ocasionalmente se assemelham aos da mononucleose infecciosa. Na doença crônica, os sinais e sintomas são linfadenite, ocasionalmente erupções, evidência de hepatite, encefalomielite e miocardite. Em alguns casos, há uma corioretinite que pode levar à cegueira.

A infecção congênita com *T. gondii* também ocorre em bebês nascidos de mães infectadas durante a gravidez. Se ocorrer uma infecção no primeiro trimestre, o resultado será um aborto espontâneo, natimorto ou doença severa. As manifestações que o bebê infectado após o primeiro trimestre apresenta são epilepsia, encefalite, microcefalia, calcificações intracraniais, hidrocefalia, retardo psicomotor ou mental, corioretinite, cegueira, anemia, icterícia, erupções, pneumonia, diarreia e hipotermia. Os bebês podem ser assintomáticos ao nascimento, somente desenvolvendo a doença meses ou anos mais tarde. Na maioria das vezes estas crianças desenvolvem corioretinite com ou sem cegueira ou outros problemas neurológicos, incluindo retardo, ataques epiléticos, microcefalia e perda auditiva.

Em pacientes imunocomprometidos e mais velhos, se observa um espectro diferente da doença. A reativação de toxoplasmose latente é um problema especial para estas pessoas. Os sintomas apresentados na infecção por *Toxoplasma* em pacientes imunocomprometidos geralmente são neurológicos, mais frequentemente consistentes com uma encefalopatia difusa, meningoencefalite ou lesões da massa cerebral. A reativação da toxoplasmose cerebral tem emergido como a principal causa de encefalite em pacientes com AIDS. A doença geralmente é multifocal, com mais de uma lesão aparecendo no cérebro ao mesmo tempo. Os sintomas estão relacionados à localização das lesões e podem ser hemiparesia, ataques epiléticos, comprometimento visual, confusão e letargia. Outros sítios de infecção relatados foram olho, pulmão e testículo. Apesar da doença ser predominante em pacientes aidéticos, também pode ocorrer com manifestações similares em outros pacientes imunocomprometidos, em particular naqueles que receberam transplante de órgão sólido.

Diagnóstico Laboratorial

É necessário realizar teste sorológico para diagnosticar a infecção aguda ativa. O diagnóstico é estabelecido pela detecção de títulos aumentados de anticorpos em amostras de sangue coletadas em série. Como o contato com o organismo é comum, realizar ensaios para identificação dos isotipos dos anticorpos e atentar para a elevação dos títulos é essencial para diferenciar a infecção aguda, ativa, de uma infecção prévia assintomática ou crônica. Um painel de testes citado como padrão sorológico de *T. gondii* (PST) é utilizado por laboratórios especializados de referência para determinar se a infecção é consistente com uma aquisição recente ou mais antiga. O PST consiste de: (1) teste de coloração Sabin-Feldman para medir anticorpos IgG; (2) *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISAs) para determinar anticorpos IgM, IgA e IgE; (3) ensaio de imunoaglutinação (ISAGA) para determinar os níveis de anticorpos IgE; e (4) teste de aglutinação diferencial para determinar os níveis de anticorpos IgG.

A avaliação inicial de um paciente imunocompetente envolve a realização de uma triagem para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*. Apesar de muitos estudos e diretrizes sugerirem a utilidade de se realizar um teste de IgM em paralelo, os anticorpos IgM anti-*T. gondii* podem persistir por mais de 12 meses após a infecção aguda, levando a um resultado falso-positivo. Se os títulos de IgG são equivocados, amostras de sangue devem ser coletadas em série em 3 semanas, e testadas paralelamente. Se o título de IgG for negativo (inferior a 1:16), a infecção por *T. gondii* é descartada. Um aumento de duas vezes no título de anticorpos indica uma infecção aguda, assim como a conversão de um resultado negativo em positivo. A detecção de um único título de anticorpo elevado não é suficiente para o diagnóstico da toxoplasmose, uma vez que os títulos de IgG podem permanecer elevados por muitos anos após a infecção.

Em pacientes com malignidades, transplantados ou aidéticos, geralmente se considera que a toxoplasmose surja a partir da reativação de uma infecção crônica assintomática (latente). Para estes pacientes, o diagnóstico pode ser bem difícil; usualmente não se detecta anticorpos do tipo IgM e a presença de IgG apenas confirma uma infecção anterior. Na ausência de evidências sorológicas de infecção aguda, o diagnóstico só pode ser confirmado através da detecção histológica de organismos nos tecidos ou através da detecção de ácidos nucleicos por PCR. Pacientes imunossuprimidos e negativos para anticorpos IgG correm risco de ter uma infecção aguda adquirida, enquanto pacientes soropositivos correm risco de uma reativação.

Os métodos usados para diagnosticar a toxoplasmose aguda em mulheres grávidas são os mesmos utilizados para adultos imunocompetentes. O FDA lançou alerta aos médicos contra o uso de *kits* comerciais para detecção de IgM anti-*T. gondii* como único método para diagnóstico durante a gravidez, devido à elevada frequência de resultados falso-positivos e falso-negativos nestas pacientes. É altamente recomendável a realização de testes de confirmação em um laboratório de referência em *Toxoplasma*. Se os anticorpos IgM e IgG não forem detectados, a possibilidade de uma infecção ativa pode ser excluída.

O diagnóstico pré-natal de toxoplasmose congênita pode ser realizado através de ultrassonografia e amniocentese. A análise do líquido amniótico por PCR para detecção de *T. gondii* é o teste de escolha, oferecendo excelentes valores preditivos positivos e negativos. Uma vez que anticorpos IgG maternos estão presentes em recém-nascidos, a detecção de IgA e IgM é fundamental para o sorodiagnóstico da toxoplasmose em neonatos.

A demonstração destes organismos, como trofozoítas e cistos, em tecidos e fluídos corporais é o método de diagnóstico definitivo (Fig. 82-8). Amostras de biópsia dos linfonodos, cérebro, miocárdio ou de outros tecidos sob suspeita, como de fluidos corporais, incluindo líquido cerebroespinhal, líquido amniótico ou lavado broncoalveolar, podem ser examinadas diretamente para a pesquisa dos organismos. Novas colorações de fluorescência baseadas em anticorpos monoclonais podem facilitar a detecção direta de *T. gondii* em tecidos. Métodos de cultura de *T. gondii* são utilizados amplamente para fins de experimentação e geralmente não estão disponíveis em laboratórios clínicos. Entre os métodos disponíveis está a

inoculação de material potencialmente infectado no peritôneo de camundongos ou em cultura de tecido. Avanços no desenvolvimento de métodos de detecção baseados na reação em cadeia da polimerase são promissores e podem possibilitar melhoras de rapidez e sensibilidade para detecção dos organismos no sangue, no líquido cerebroespinhal, no líquido amniótico e em outras amostras clínicas.

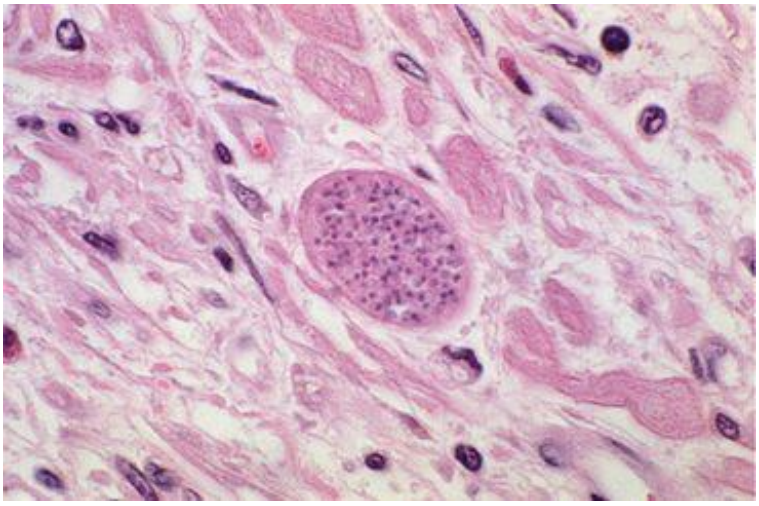


Figura 82-8 Cisto de *T. gondii* no tecido. Centenas de organismos podem estar presentes no cisto, que podem se tornar ativos e iniciar a doença com a diminuição da imunidade do hospedeiro (p. ex., imunossupressão em pacientes transplantados e em doenças como a AIDS).

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia para toxoplasmose depende da natureza do processo infeccioso e da imunocompetência do hospedeiro. Em hospedeiros normais a maioria das infecções do tipo mononucleose se resolve espontaneamente e não requer terapia específica. Ao contrário, em pessoas imunocomprometidas, a infecção disseminada ou do SNC deve ser tratada. Antes da associação entre *T. gondii* e infecção por HIV, pacientes com comprometimento imunológico apresentando toxoplasmose eram tratados durante 4 a 6 semanas. No cenário da infecção por HIV, a descontinuação da terapia após 4 a 6 semanas se associa a uma taxa de recaída de 25%. Atualmente estes pacientes estão sendo tratados com regime de uma dose inicial elevada de pirimetamina com sulfadiazina e doses menores de ambos os fármacos para continuação do tratamento por tempo indefinido. Apesar desta combinação de fármacos ser o regime de escolha, o grau de toxicidade (erupções e supressão da medula óssea) pode gerar a necessidade de modificações com agentes alternativos. A melhor alternativa estudada é a de clindamicina com pirimetamina. Atovaquona e azitromicina (cada uma de forma isolada ou associada à pirimetamina) também possuem alguma atividade, embora a eficácia e segurança em comparação à clindamicina-pirimetamina ainda precisem ser avaliadas. A combinação de trimetoprim e sulfametoxazol é outra alternativa à pirimetamina-sulfadiazina para tratamento de toxoplasmose disseminada ou do SNC. O uso de corticosteroides é indicado como parte da terapia para edema cerebral e para infecções oculares que envolvem ou prejudicam a mácula.

Infecções que ocorrem no primeiro trimestre de gravidez são difíceis de tratar devido à teratogenicidade da pirimetamina demonstrada em animais de laboratório. Ambas clindamicina e espiramicina têm sido substituídas com aparente sucesso. A espiramicina não parece ser efetiva no tratamento da toxoplasmose em pacientes imunocomprometidos.

À medida que são identificados mais pacientes imunocomprometidos correndo risco de infecção disseminada, maior ênfase é dada para medidas preventivas e profiláticas específicas. Atualmente está sendo realizada uma triagem de rotina dos pacientes antes do transplante de órgãos e precocemente durante o curso de uma infecção por HIV. Indivíduos com sorologia positiva apresentam risco muito maior de desenvolverem a doença e atualmente são considerados para profilaxia. A combinação trimetoprim-sulfametoxazol, que também é utilizada na profilaxia da infecção por *Pneumocystis jirovecii*, também parece ser efetiva na prevenção de infecções por *T. gondii*. Medidas preventivas adicionais para gestantes e hospedeiros imunocomprometidos devem incluir evitar o consumo e o manuseio de carne crua ou malcozida e evitar a exposição às fezes de gatos.

Sarcocystis lindemanni

O *S. lindemanni* é um coccídio típico muito próximo das formas intestinais de *S. suihominis, S. bovihominis* e *Isospora belli*, e do parasito do sangue e dos tecidos, *T. gondii*. *S. lindemanni* ocorre no mundo inteiro em vários animais, principalmente carneiro, gado e suínos. O homem pode ser infectado acidentalmente somente como consequência da ingestão da carne destes animais. A maioria das infecções é assintomática, porém ocasionalmente uma infecção pode causar miosite, inchaço muscular, dispneia e eosinofilia. A infecção do miocárdio já foi observada, embora seja rara. Não existe tratamento específico para a infecção muscular.

Amebas de Vida Livre

Espécies de *Naegleria, Acanthamoeba* e *Balamuthia* além de outras amebas de vida livre são encontradas no solo e em lagoas, riachos e outros ambientes aquáticos contaminados. A maioria das infecções humanas com estas amebas é adquirida durante os meses quentes de verão por pessoas que se expõem às amebas enquanto nadam em águas contaminadas. A inalação dos cistos presentes na poeira pode ser responsável por algumas infecções, enquanto as infecções oculares com espécies de *Acanthamoeba* se associam à contaminação de lentes de contato com soluções de limpeza não estéreis.

Os organismos de *Naegleria, Acanthamoeba* e *Balamuthia* são patógenos oportunistas. Embora a colonização das vias nasais geralmente seja assintomática, estas amebas podem invadir a mucosa e atingir o cérebro. A **meningoencefalite amebiana** primária aguda é mais comumente causada por *Naegleria fowleri*. A destruição do tecido cerebral é caracterizada por uma meningoencefalite fulminante e rapidamente fatal. Os sintomas incluem uma intensa dor de cabeça frontal, dor de garganta, febre, entupimento nasal com alteração do paladar e do olfato, rigidez do pescoço e sinal de Kernig. O líquido cerebroespinhal é purulento e pode conter muitos eritrócitos e amebas móveis. Clinicamente, o curso da doença é rápido e geralmente o paciente morre em 4 a 5 dias. Achados póstumos mostraram a presença de trofozoítas de *Naegleria fowleri* no cérebro, sem evidências da existência cistos (Fig. 82-9). Embora todos os casos registrados antes de 1970 tenham sido fatais, atualmente existem poucos registros de casos de sobrevivência nos quais a doença foi rapidamente diagnosticada e tratada.

Caso Clínico 82-3 Encefalite Amebiana

Rahimian & Kleinman (Infect Med 22:382-385, 2005) descreveram o caso de um homem com 43 anos de idade, originário da República Dominicana, que se apresentou após um ataque epilético. O paciente tinha uma história de diabetes e hipertensão mas negava qualquer história prévia de ataques epiléticos. O exame neurológico não revelou nada e o paciente foi mandado de volta para casa. Cerca de 2 semanas mais tarde, ele foi readmitido no hospital por causa de uma nova inclinação facial à esquerda. Um exame de TC sem contraste mostrou o aparecimento recente de um espessamento e de uma hipodensidade na massa cinzenta frontal à direita. Uma fraqueza generalizada progressiva passou a se desenvolver junto com a paralisia da extremidade superior esquerda. Uma repetição do exame de TC sem contraste revelou um aumento no tamanho da área frontal hipodensa à direita, com edema vasogênico e uma nova lesão parietal hipodensa esquerda. Naquele momento, o paciente também desenvolveu disartria e dor de cabeça bilateral occipital. Ele era um trabalhador de construção que negava o uso de droga injetável, a realização de trabalho dental recente e pertencer ao grupo de risco para infecção por HIV. A única importância de sua história de viagens era a realização de uma viagem para a República Dominicana de 2 anos atrás. O exame clínico foi significativo para a disartria, a inclinação facial esquerda e a paralisia da extremidade superior esquerda. Uma punção lombar revelou uma contagem de células sanguíneas brancas elevada, um nível de proteínas no líquido cerebroespinhal de 50mg/dL e glicose a 145mg/dL (a glicose sérica estava em 327mg/dL). A coloração Gram do líquido cerebroespinhal resultou negativa. Um exame de ressonância magnética da cabeça mostrou duas grandes lesões em forma de anel realçadas com possível necrose central. Os resultados de testes para HIV foram negativos. Uma biópsia cerebral mostrou infiltração linfocítica, predominantemente nas áreas perivasculares. Um exame mais acurado revelou a presença de trofozoítas e cistos amebianos consistentes com um diagnóstico de encefalite amebiana. Os resultados do ensaio de PCR foram consistentes com uma infecção por *Balamuthia mandrillaris*. Foi iniciada uma terapia com pentamidina, porém o paciente faleceu depois de 3 dias.

A encefalite causada por Balamuthia foi descrita tanto em pacientes imunossuprimidos como em indivíduos imunocompetentes. Muitos pacientes infectados não possuem uma história de terem nadado nem se exposto à água contaminada. Acredita-se que a porta de entrada seja o trato respiratório ou uma ulceração na pele, com disseminação para o cérebro. A maioria dos casos de encefalite amebiana tem sido diagnosticada depois da morte. Recentemente, um ensaio de PCR específico para *Balamuthia* tem sido utilizado para diagnóstico, como foi feito no caso deste paciente. A maioria dos pacientes morre semanas após o aparecimento dos sintomas neurológicos, apesar do tratamento com pentamidina.

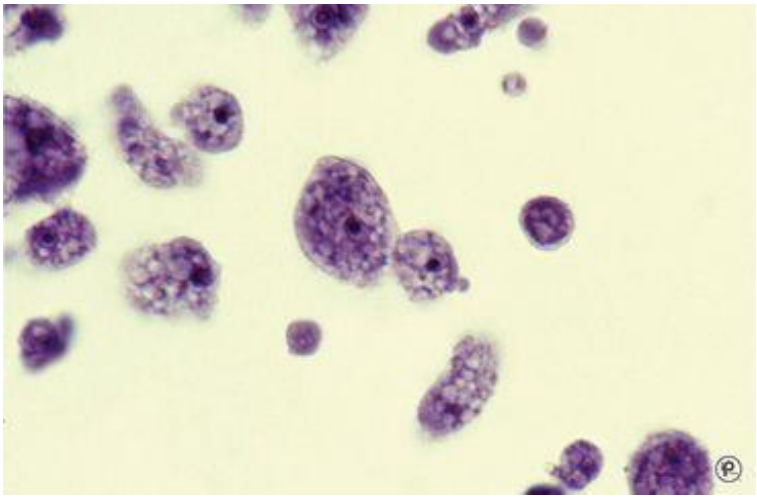


Figura 82-9 Inúmeros trofozoítas de *Naegleria* no tecido cerebral de um paciente com miningoencefalite amebiana.

(De Marler L.M. et al.: parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Contrastando com *Naegleria*, os oragnismos de *Acanthamoeba* e *Balamuthia* produzem uma encefalite amebiana granulomatosa e abscessos únicos ou múltiplos no cérebro, primariamente em indivíduos imunocomprometidos. O curso da doença é mais lento, com um período de incubação de pelo menos 10 dias. A doença resultante é uma encefalite crônica granulomatosa com edema no tecido cerebral.

Também pode ocorrer uma infecção dos olhos e da pele causada por organismos de *Acanthamoeba*. Geralmente a ceratite está associada a um trauma ocular que ocorreu antes do contato com o solo, poeira ou água contaminada. O uso de lentes de contato lavadas de modo inadequado também está associado a esta doença. A invasão das espécies de *Acanthamoeba* provoca ulceração da córnea e uma severa dor ocular. Casos de aparente infecção cutânea e subcutânea disseminada com organismos de *Acanthamoeba* e *Balamuthia* foram recentemente demonstrados em pacientes aidéticos. Estas infecções incluem múltiplos nódulos moles cujas biópsias mostram a presença de amebas. Também pode haver envolvimento do SNC ou de tecidos profundos nesta forma de infecção.

Diagnóstico Laboratorial

Para o diagnóstico de infecções causadas por *Naegleria, Acanthamoeba* e *Balamuthia*, deve ser realizada a coleta de secreção nasal, líquido cerebroespinhal e (em caso de infecção dos olhos) raspados da córnea. As amostras devem ser examinadas usando uma preparação fresca em salina e esfregaços corados com iodo. É difícil diferenciar as espécies de *Naegleria* e *Acanthamoeba* de modo que somente microscopistas experientes podem fazê-lo. Contudo, a observação de amebas em um tecido normalmente estéril é diagnóstico (Fig. 82-9). Na infecção por *Naegleria*, somente os **trofozoítas ameboides** são encontrados nos tecidos, enquanto na infecção por *Acanthamoeba* e *Balamuthia* ambos trofozoítas e cistos podem ser encontrados nos tecidos. As amostras clínicas podem ser cultivadas em placas de agar semeadas com bacilos entéricos Gram negativos. As amebas presentes na amostra usam as bactérias como fonte nutricional e podem ser detectadas em 1 a 2 dias pela presença de trilhas que se formam na superfície do agar quando as amebas se movem. *Balamuthia* não cresce em placas de agar utilizadas para *Naegleria* e *Acanthamoeba*, mas tem sido recuperada de culturas de tecido feitas com linhagens celulares de mamíferos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de infecções causadas por amebas de vida livre é bastante ineficiente. A meningoencefalite amebiana causada por *Naegleria, Acanthamoeba* e *Balamuthia* não responde à maioria dos agentes antimicrobianos. O tratamento de escolha para as infecções com *Naegleria* é a anfotericina B combinada com miconazol e rifampin. As infecções por *Acanthamoeba* podem ser tratadas com pentamidina, cetoconazol e flucitosina, enquanto as infecções por *Balamuthia* têm sido tratadas com claritromicina, fluconazol, sulfadiazina e flucitosina. A ceratite e as infecções cutâneas amebianas podem ser responsivas ao miconazol, gluconato de clorexidina ou ao isotionato de propamidina tópicos. O tratamento da ceratite amebiana pode requerer transplantes de córnea repetidos ou, raramente, a enucleação do olho. A ampla distribuição destes organismos em águas frescas e salobras dificulta a prevenção e o controle da infecção. Sugere-se manter as fontes de infecção fora dos limites das áreas de banho, mergulho e prática de esportes aquáticos, embora isso geralmente seja difícil de ser cumprido. Piscinas com rachaduras nas paredes, permitindo a infiltração do solo devem ser reparadas para evitar a criação de uma fonte de infecção.

Leishmania

Leishmania são parasitos intracelulares obrigatórios que são transmitidos de um animal para o homem ou de um homem a outro através da picada de uma fêmea do mosquito-pólvora. Dependendo da área geográfica, muitas espécies diferentes podem infectar o homem produzindo uma variedade de doenças que vão de formas cutâneas, cutâneas difusas e mucocutâneas a viscerais (Tab. 82-2). Novas espécies de *Leishmania* estão sendo frequentemente detectadas. Enquanto a literatura antiga focava três espécies principais, *L. donovani* (leishmaníase visceral), *L. tropica* (leishmaníase cutânea) e *L. braziliensis* (leishmaníase cutânea), a atual taxonomia da leishmaníase está em estado de fluxo dinâmico. Atualmente a diferenciação das espécies se baseia mais em técnicas moleculares do que na distribuição geográfica e na apresentação clínica.

Tabela 82-2 Leishmaníases Humanas

Parasito	Doença	Distribuição Geográfica
L. donovani	Leishmaníase visceral Leishmaníase mucocutânea Leishmaníase cutânea Leishmaníase dérmica	África, Ásia
L. infantum (L. chagasi)	Leishmaníase visceral	África, Europa, área do Mediterrâneo, Sudoeste Asiático, América Central e América do Sul
L. tropica	Leishmaníase cutânea Leishmaníase visceral (rara)	Afeganistão, Índia, Turquia, antiga União Soviética, Oriente Médio, África,
L. major	Leishmaníase cutânea	Oriente Médio, Afeganistão, África, antiga União Soviética
L. aethiopica	Leishmaníase cutânea Leishmaníase cutânea difusa Leishmaníase mucocutânea.	Etiópia, Quênia, Iêmen, antiga União Soviética

L. mexicana	Leishmaníase cutânea Leishmaníase cutânea difusa	Texas, Belize, Guatemala, México
L. braziliensis	Leishmaníase cutânea Leishmaníase mucocutânea	América Central e América do Sul
L. peruviana	Leishmaníase cutânea	Panamá, Colômbia, Costa Rica
L. garnhami	Leishmaníase cutânea	Venezuela
L. colombiensis	Leishmaníase cutânea	Colômbia, Panamá
L. venezuelensis	Leishmaníase cutânea	Venezuela
L. lainsoni, L. shawii	Leishmaníase cutânea	Brasil
L. amazonensis	Leishmaníase cutânea Leishmaníase cutânea difusa	Brasil, Venezuela
L. naiffi	Leishmaníase cutânea	Brasil, Ilhas Caribenhas
L. pifanoi	Leishmaníase cutânea Leishmaníase cutânea difusa	Brasil, Venezuela

Dados de Bruckner DA, Labarca JA: Leishmania e Trypanosoma. In Murray PR, et al. (eds): Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington, DC, American Society for Microbiology, 2007.

Fisiologia e Estrutura

Os ciclos de vida das leishmanias são muito semelhantes (Fig. 82-10), enquanto as infecções associadas diferem quanto à epidemiologia, tecidos afetados e manifestações clínicas. O estágio de **promastigota** (forma alongada, delgada, com um flagelo livre) está presente na saliva de mosquitos-pólvora infectados. A infecção humana tem início com a picada de um mosquito-pólvora infectado, que injeta os promastigotas na pele, onde perdem o flagelo e entram no estágio de **amastigotas**, invadindo as células reticuloendoteliais. A mudança de promastigota para amastigota ajuda a escapar da resposta imune do hospedeiro. Alterações nas moléculas de superfície dos organismos desempenham um papel importante na fixação ao macrófago e na evasão da resposta imunológica, inclusive na manipulação das vias de sinalização do macrófago. A reprodução ocorre no estágio amastigota e, conforme as células se rompem, tecidos específicos são destruídos (p. ex., tecidos cutâneos, órgãos viscerais como fígado e baço). O estágio amastigota (Fig. 82-11) é diagnóstico da leishmaniose, como também é o estágio infectante para o mosquito-pólvora. Neste as formas amastigotas ingeridas se transformam em promastigotas, que se multiplicam por fissão binária no intestino médio do mosquito. Após o desenvolvimento, as formas deste estágio migram para a probóscida do mosquito, de onde novas infecções humanas podem ser produzidas durante a alimentação do mosquito. Os ciclos de vida dos organismos de *Leishmania* são semelhantes nas leishmaníases cutânea, mucocutânea e visceral, exceto que as células reticuloendoteliais infectadas são encontradas distribuídas no corpo do hospedeiro na leishmaníase visceral.

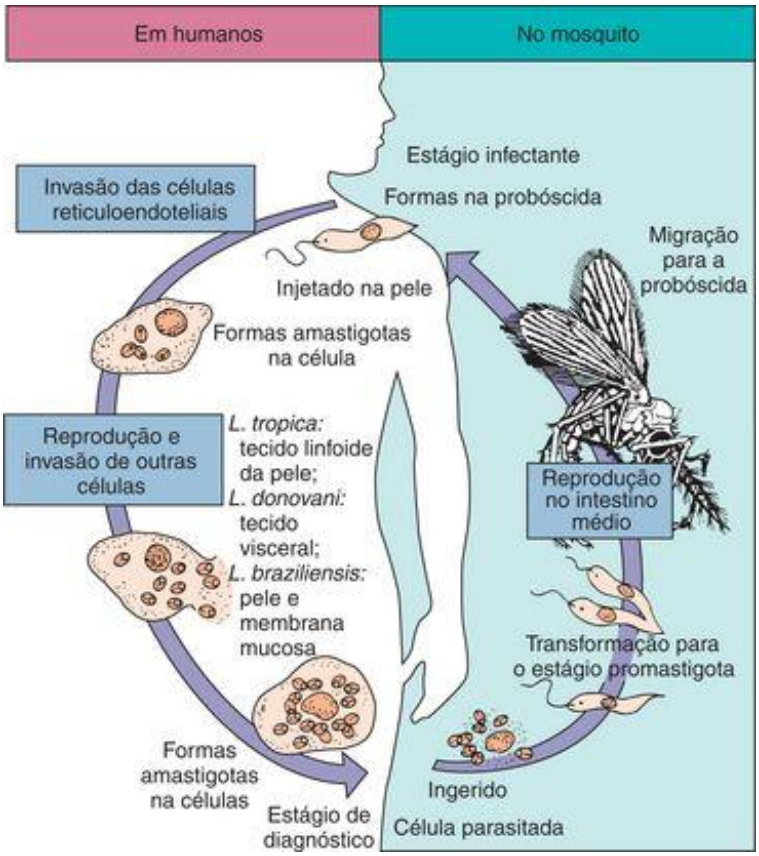


Figura 82-10 Ciclo de vida das espécies de *Leishmania*.

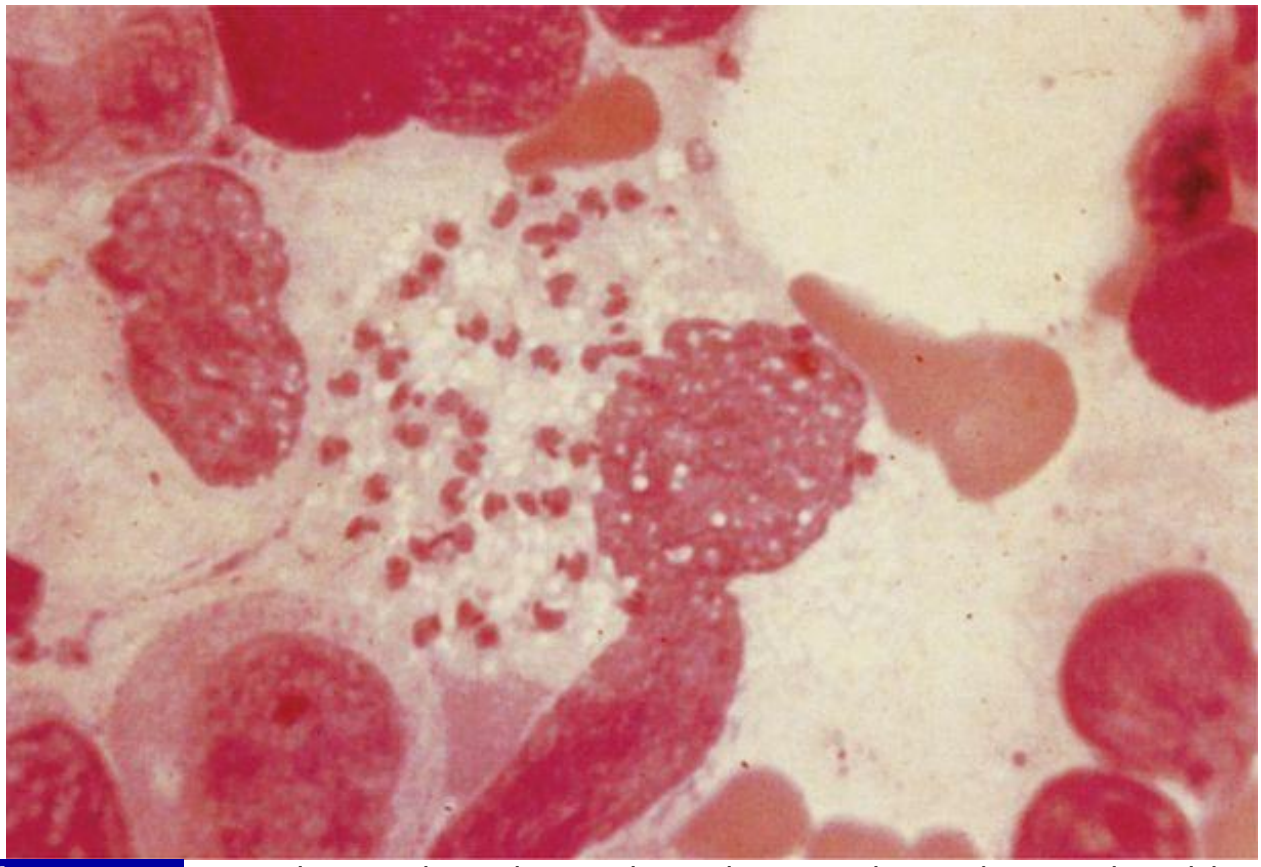


Figura 82-11 Amastigotas de *L. donovani* coradas por Giemsa (corpos de Leishman-Donovan) presentes em um esfregaço por aposição do baço. Um cinetoplasto pequeno e de cor escura pode ser visto próximo ao núcleo esférico de alguns parasitos.

(De Connor DH, et al.: Pathology of Infectious Diseases, vol. 2. Stamford, Conn, Appleton & Lange, 1997.)

Epidemiologia

A leishmaníase é uma zoonose transmitida por fêmeas do mosquito-pólvora, pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*. Os reservatórios naturais incluem roedores, gambás, tamanduás, bicho-preguiça, gatos e cachorros. Em áreas do mundo onde a leishmaníase é endêmica, a infecção pode ser transmitida através de um ciclo homem-vetor-homem. A infecção também pode ser transmitida por contato direto com uma lesão infecciosa ou mecanicamente por mosquitos de estábulo e por mosquitos de cachorro.

Na maioria das vezes a leishmaníase mucocutânea ocorre na Bolívia, Brasil e Peru, enquanto a forma cutânea é muito mais disseminada no Oriente Médio (Afeganistão, Algéria, Irã, Iraque, Arábia Saudita e Síria) e em áreas focais na América do Sul (Brasil, Peru). A leishmaníase cutânea tem sido diagnosticada entre militares dos Estados Unidos posicionados no Afeganistão, Iraque e Kuwait.

A taxa de ocorrência da **leishmaníase visceral (kalazar, febre dum-dum)** é de 500.000 casos novos ao ano, 90% dos quais em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão. Esta infecção pode existir como doença endêmica, epidêmica ou esporádica e é uma zoonose, exceto na Índia, onde o kalazar (“febre negra” em indú) é uma antroponose (homem-vetor-homem). Indivíduos com leishmaníase dérmica pós-kalazar podem constituir reservatórios muito importantes na manutenção da infecção entre a população, devido à elevada concentração de organismos na pele. Em contraste com as leishmaníases cutânea e mucocutânea, onde um grande número de espécies de *Leishmania* foi implicado, somente *L. donovani* e *L. infantum* (*L. chagasi*) comumente causam leishmaníase visceral. *L. infantum* está presente nos países ao longo da bacia do Mediterrâneo (Europa, Oriente Próximo e África) e é encontrada em partes da China, América do Sul e na antiga União Soviética, enquanto *L. donovani* se concentra na África e Ásia. Embora *L. tropica* geralmente cause leishmaníase cutânea, cepas viscerotrópicas raras foram registradas no Oriente Médio, África e Índia.

Síndromes Clínicas

Dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida, a infecção pode resultar em uma doença cutânea, cutânea difusa, mucocutânea ou visceral. Com a disseminação pandêmica do HIV, há um reconhecimento crescente da leishmaníase visceral HIV associada causada por *L. donovani* no sul da Ásia e na África, e por *L. infantum* (*L. chagasi*) na América do Sul. Nestes pacientes coinfectados, a leishmaníase se manifestará como uma infecção oportunista, com detecção de parasitos em sítios atípicos e uma elevada mortalidade associada.

O primeiro sinal de **leishmaníase cutânea**, uma pápula vermelha, surge no sítio da picada do mosquito entre 2 semanas e 2 meses após a exposição inicial. A lesão se torna irritada, intensamente pruriginosa, e começa a aumentar e ulcerar. A úlcera se torna gradualmente dura e encrostada e exsuda um material fino e seroso. Neste estágio, uma infecção bacteriana secundária pode complicar a doença. A lesão pode se curar sem tratamento em uma questão de meses, mas geralmente deixa uma cicatriz desfigurante. A espécie comumente associada à leishmaníase cutânea, *L. tropica*, também pode existir sob a forma viscerotrópica. Um tipo de leishmaníase cutânea nodular disseminada foi registrado na Etiópia, causada provavelmente por uma alergia aos antígenos de *L. aethiopica*.

A **leishmaníase mucocutânea** é produzida pelo complexo *L. braziliensis* na maioria das vezes. No caso de *L. braziliensis*, o período de incubação e o aparecimento de úlceras cutâneas primárias são semelhantes aos das outras formas de leishmaníase cutânea. A diferença essencial na doença clínica é o envolvimento e a destruição de membranas mucosas e de estruturas teciduais relacionadas. Lesões primárias não relacionadas podem se desenvolver na forma mucocutânea em até 80% dos casos. A disseminação para as mucosas nasal e oral pode se tornar aparente concomitantemente ao surgimento da lesão primária ou muitos anos após a cura desta lesão. As lesões mucosas não saram espontaneamente, sendo comum ocorrerem infecções bacterianas secundárias, causando mutilação facial grave e desfigurante e ocasionalmente morte.

A **forma visceral de leishmaníase** pode se apresentar como uma doença fulminante, rapidamente fatal, como um processo mais crônico e debilitante ou como uma infecção autolimitada e assintomática. O período de incubação pode ser de várias semanas a um ano, com surgimento gradativo de febre, diarreia e anemia. É comum o aparecimento de calafrios e sudorese, sintomas parecidos com os da malária, no início da infecção. Conforme os organismos proliferam e invadem as células do sistema reticuloendotelial, ocorre um aumento marcante do tamanho do fígado e do baço, perda de peso e emagrecimento. Também pode haver lesão renal conforme as células dos glomérulos são invadidas. Com a persistência da doença, surgem áreas granulomatosas e hiperpigmentadas na pele denominadas **leishmaníase dérmica pós-kalazar**. Nesta condição, as lesões dérmicas maculares ou hipopigmentadas estão associadas à presença de poucos parasitos, enquanto as lesões eritematosas e nodulares se associam à presença de muitos parasitos.

Diagnóstico Laboratorial

Embora em áreas endêmicas o diagnóstico de leishmaníase visceral, cutânea ou mucocutânea possa ser realizado com base clínica, o diagnóstico definitivo depende da detecção tanto de amastigotas em amostras clínicas, como de promastigotas em culturas. A demonstração de amastigotas em esfregaços adequadamente corados obtidos a partir de esfregaços por aposição ou amostras de biópsias de úlceras e culturas de tecido ulceroso determina o diagnóstico das leishmaníases cutânea e mucocutânea. Para o diagnóstico da leishmaníase visceral, as amostras são aspirados de punção esplênica e de linfonodos, biópsia de fígado, aspirados do esterno e da crista ilíaca da medula óssea, e preparações de plasma coagulado de sangue venoso. Estas amostras podem ser examinadas microscopicamente, cultivadas e submetidas a métodos de detecção molecular. As técnicas moleculares para detecção de DNA e RNA têm sido utilizadas para o diagnóstico, prognóstico e identificação de espécies, sendo mais sensíveis que a microscopia ou a cultura, principalmente para a detecção da leishmaníase mucocutânea. Apesar de existirem testes sorológicos disponíveis, não são especialmente úteis para o diagnóstico de leishmaníase mucocutânea ou visceral. A detecção de antígenos urinários tem sido utilizada para o diagnóstico de leishmaníase visceral.

Tratamento, Prevenção e Controle

No momento, o fármaco de escolha para todas as formas de leishmaníase é o composto antimonial pentavalente estibogluconato de sódio (Pentostam®). Nos últimos anos, o uso ubíquo deste agente tem sido ameaçado pelo desenvolvimento de resistência ao fármaco. Além disso, este tratamento pode ser complicado por uma variação da suscetibilidade das espécies de *Leishmania* aos fármacos, pela variação farmacocinética e pela variação na interação entre o fármaco e o sistema imunológico do hospedeiro. A toxicidade dos antimoniais também é considerável e, como resultado, várias abordagens alternativas para o tratamento da leishmaníase têm sido desenvolvidas.

A terapia-padrão para o tratamento da leishmaníase cutânea consiste de injeções de compostos antimoniais diretamente na lesão ou por via parenteral. Recentemente, o fluconazol e a miltefosina se mostraram eficazes. Entre outros agentes estão a anfotericina B, a pentamidina e várias formulações de paromomicina. Entre as alternativas ao tratamento quimioterápico da leishmaníase cutânea estão a crioterapia, o aquecimento e a excisão cirúrgica.

O estibogluconato permanece como fármaco de escolha para o tratamento da leishmaníase mucocutânea, tendo como alternativa a anfotericina B. De forma notável, pacientes clinicamente curados da infecção por *L. braziliensis*, que se destaca por sua cronicidade, latência e metástase com envolvimento de membranas mucosas, apresentaram resultado positivo de PCR até 11 anos após a terapia. É necessária a realização de acompanhamento com esfregaços, culturas e/ou PCR para garantir que o tratamento tenha sido eficiente.

O papel do estibogluconato no tratamento da leishmaníase visceral tem sofrido alterações ultimamente. Embora quase em todo o mundo mais de 95% dos pacientes com leishmaníase visceral sem tratamento prévio responderem aos antimoniais pentavalentes, registrou-se uma ampla falha primária destes agentes na região de Bihar, norte da Índia. A incidência da resposta primária foi de apenas 54%, enquanto 8% dos que responderam inicialmente ao tratamento tiveram recaída. Esta resistência emergente tem sido atribuída ao uso inadequado disseminado do fármaco. Felizmente em anos recentes, foram introduzidas quatro terapias novas para a leishmaníase visceral: formulações lipossômicas de anfotericina B, miltefosina oral, uma formulação parenteral de paromomicina e sitamaquina oral (uma 8-aminoquinolina). Na maioria das vezes estes agentes permanecem nas triagens clínicas, embora a miltefosina tenha apresentado eficácia (taxa de cura >95%) e tolerância excelentes. Infelizmente os dados preliminares da Índia sugerem um aumento na taxa de recaída em pacientes tratados com miltefosina, indicando que pode haver o desenvolvimento de resistência ao fármaco e que devem ser desenvolvidas estratégias para sua prevenção.

A prevenção das várias formas de leishmaníase envolve o tratamento imediato das infecções humanas e o controle dos hospedeiros-reservatório, juntamente com o controle do inseto vetor. Também é essencial se proteger contra o mosquito-pólvora através do uso de telas e de repelentes. Proteger as florestas e os trabalhadores de construção em áreas endêmicas é mais difícil já que nesses locais a doença pode ser controlada efetivamente somente através da vacinação. Esforços para a produção de uma vacina estão em andamento.

Tripanossomas

Trypanosoma, outro hemoflagelado, causa duas formas distintas de doença (Tab. 82-3). Uma delas é chamada de **tripanossomíase africana ou Doença do Sono**, sendo causada por *Trypanosoma brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense*. É transmitida por moscas tsé-tsé. A outra infecção é chamada de **tripanossomíase americana, ou doença de Chagas**, sendo causada pelo *T. cruzi*. É transmitida por insetos hemípteros (triatomídeos, reduvídeos, também chamados de barbeiros; Caso Clínico 82-4).

Tabela 82-3 Espécies de *Trypanosoma* Responsáveis por Doenças Humanas

Parasito	Vetor	Doença
Trypanosoma brucei gambiense e *T. b. rhodesiense*	Mosca tsé-tsé	Tripanossomíase Africana (Doença do Sono)
Trypanosoma cruzi	Reduvídeos	Tripanossomíase Americana (Doença de Chagas)

Caso Clínico 82-4 Tripanossomíase

Herwaldt e colaboradores (J Infect Dis 181:395-399, 2000) descrevem um caso no qual a mãe de um garoto de 18 meses no Tennessee encontrou um inseto triatomídeo no berço de seu filho, que ela guardou por se parecer com um inseto mostrado em um programa de televisão sobre insetos que se alimentam em mamíferos. Um entomologista identificou o inseto como *Triatoma sanguisuga*, um vetor da doença de Chagas. O inseto foi encontrado entupido de sangue e infectado com *Trypanosoma cruzi*. A criança tinha apresentado febre intermitente nas 2 ou 3 semanas anteriores mas estava saudável, exceto por apresentar um edema de faringe e várias picadas de inseto de tipo desconhecido em suas pernas. Amostras de sangue total obtidas da criança deram resultado negativo ao exame da camada leucoplaquetária e de hemocultura, porém foram positivas para *T. cruzi* nas análises de PCR e de hibridização do DNA, sugerindo que a criança apresentava um baixo nível de parasitemia. Amostras obtidas após o tratamento com benznidazol foram negativas. Ele não desenvolveu anticorpos *anti-T. cruzi*. 19 parentes e vizinhos também negativaram. Dois dos 3 guaxinins capturados nas proximidades apresentaram hemoculturas positivas para *T. cruzi*. O caso da criança infectada por *T. cruzi* — o quinto caso autóctone registrado nos Estados Unidos — teria sido perdido se a mãe da criança não tivesse sido atenta e se as sensíveis técnicas moleculares não estivessem disponíveis. Uma vez que triatomídeos infectados e hospedeiros mamíferos existem no sul dos Estados Unidos, não é supreendente que pessoas possam ser infectadas com *T. cruzi*. Além disso, dadas as manifestações clínicas não específicas desta infecção, é provável que outros casos tenham passado desapercebidos.

Trypanosoma brucei gambiense

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida das formas africanas da tripanossomíase é ilustrado na Figura 82-12. O estágio infectante destes organismos é o **tripomastigota**, que é encontrado nas glândulas salivares das moscas tsé-tsé transmissoras. Neste estágio, o organismo possui um **flagelo livre** e uma **membrana ondulante** que percorre toda a extensão de seu corpo (Fig. 82-13). Os tripomastigotas penetram na lesão criada pela picada da mosca e seguem para a circulação sanguínea e linfática, eventualmente invadindo o SNC. A reprodução das formas tripomastigotas no sangue, linfa e líquido espinhal ocorre por fissão binária ou longitudinal. No sangue estes tripomastigotas são infectantes para as moscas tsé-tsé através da picada e nelas se reproduzem novamente no intestino médio. Em seguida os organismos migram para as glândulas salivares, onde uma forma **epimastigota** (que possui um flagelo livre e apenas uma membrana ondulante parcial) continua a reprodução até o estágio infectante de tripomastigota. As moscas tsé-tsé se tornam infectantes 4 a 6 semanas após terem se alimentado do sangue de um paciente doente.

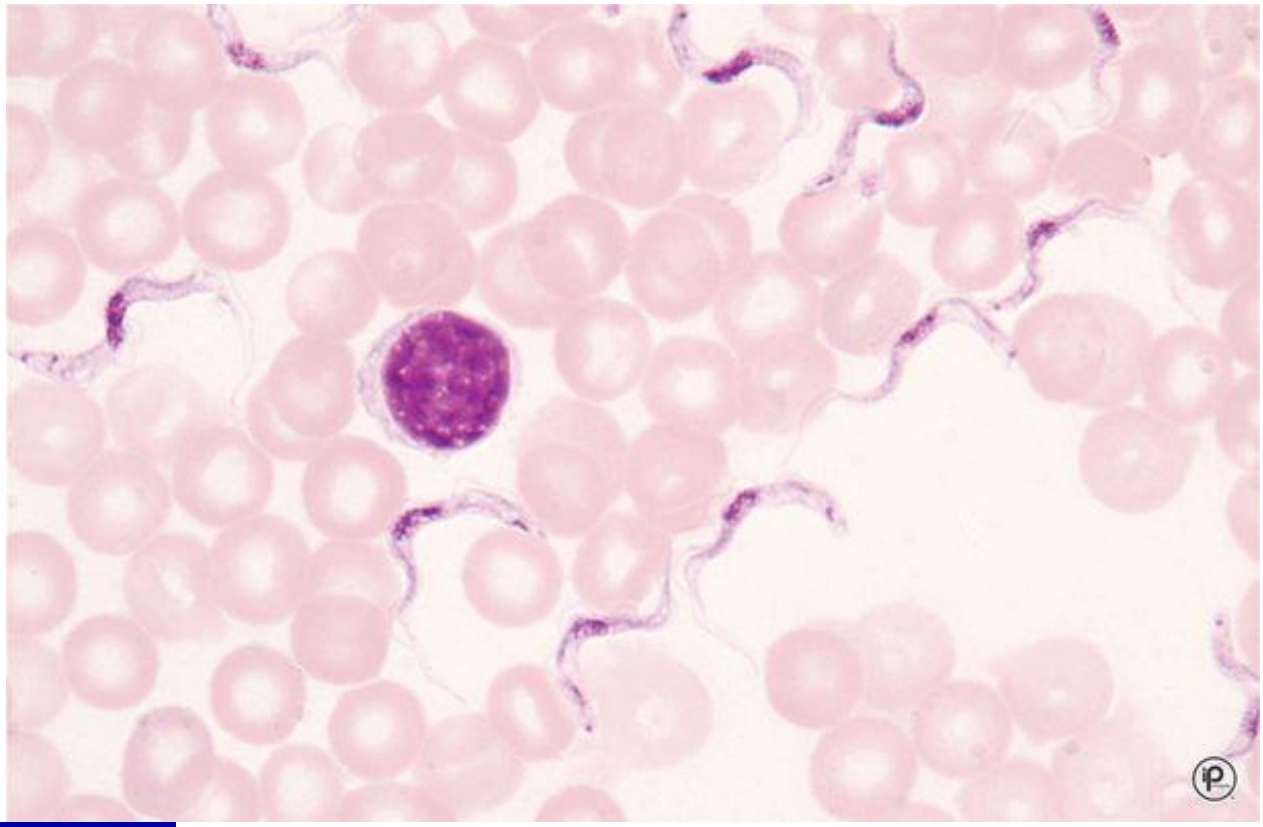


Figura 82-13 Estágio tripomastigota de *T. b. gambiense* em um esfregaço sanguíneo.

(De Marler L.M.et al.: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Epidemiologia

O *T. b. gambiense* ocorre apenas nas regiões tropicais oeste e central da África, de forma correlacionada à abrangência do vetor, a mosca tsé-tsé. As moscas tsé-tsé transmissoras de *T. b. gambiense* têm preferência por margens de riachos à sombra para reprodução e pela

proximidade com residências humanas. As pessoas que trabalham nestas áreas correm grande risco de infecção. A existência de um animal-reservatório não foi comprovada, embora várias espécies de animais tenham sido infectadas experimentalmente.

Síndromes Clínicas

O período de incubação da **doença do sono gambiense** varia de poucos dias a semanas. *T. b. gambiense* causa uma doença crônica que muitas vezes leva ao óbito, com envolvimento do SNC depois de anos de duração. Um dos primeiros sintomas da doença é o aparecimento ocasional de uma **úlcera** no local da picada da mosca. Conforme os organismos continuam se reproduzindo, há invasão dos linfonodos provocando febre, mialgia, artralgia e aumento dos linfonodos. O inchaço dos linfonodos posteriores cervicais é característico da doença gambiense, sendo chamado de **sinal de Winterbottom**. Pacientes nesta fase aguda frequentemente apresentam hiperatividade.

A doença crônica progride para o envolvimento do SNC, causando letargia, tremores, meningoencefalite, retardo mental e deterioração geral. Nos estágios finais da doença crônica, ocorrem convulsões, hemiplegia e incontinência, e se torna difícil acordar o paciente ou fazê-lo responder, ocorrendo eventualmente uma progressão para o estado comatoso. A morte resulta do dano ao SNC e da ocorrência de outras infecções, como malária ou pneumonia.

Diagnóstico Laboratorial

Os organismos podem ser demonstrados em esfregaços sanguíneos delgados e espessos, em preparações de sangue concentradas e tratadas com anticoagulante e em aspirados de linfonodos e de líquido espinhal concentrado (Fig. 82-13). Métodos de concentração de parasitos no sangue podem ser úteis. As abordagens utilizadas são a centrifugação de amostras heparinizadas e a cromatografia de troca iônica. Os níveis de parasitemia são muito variáveis, necessitando de várias tentativas de visualização dos organismos ao longo de alguns dias. As preparações devem ser fixadas e coradas imediatamente para evitar a desintegração dos tripomastigotas. Testes sorológicos também constituem técnicas diagnósticas úteis. Os métodos de imunofluorescência, ELISA, precipitina e aglutinação têm sido utilizados. A maioria dos reagentes não está comercialmente disponível. Os laboratórios de referência têm utilizado PCR para detectar infecções e para diferenciar as espécies (*T. b. gambiense* versus *T.b. rhodesiense*), porém este método não é utilizado rotineiramente em campo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha para o tratamento dos estágios agudos sanguíneo e linfático da doença é a suramina, com a pentamidina como alternativa. A suramina e a pentamidina não atravessam a barreira hematoencefálica e por isso o melarsoprol é o fármaco de escolha quando há suspeita de envolvimento do SNC. A difluorometilornitina (DFMO) é um fármaco citostático com atividade contra os estágios agudo e tardio (SNC) da doença. As medidas de controle mais eficientes incluem uma abordagem integrada para reduzir o reservatório humano da infecção e o uso de armadilhas e inseticidas contra as moscas, mas como os recursos econômicos são limitados se torna difícil sustentar programas efetivos.

Trypanosoma brucei rhodesiense

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida de *T.b. rhodesiense* é semelhante ao de *T.b. gambiense* (Fig. 82-12), com ambas as formas de tripomastigota e epimastigota e a transmissão por moscas tsé-tsé.

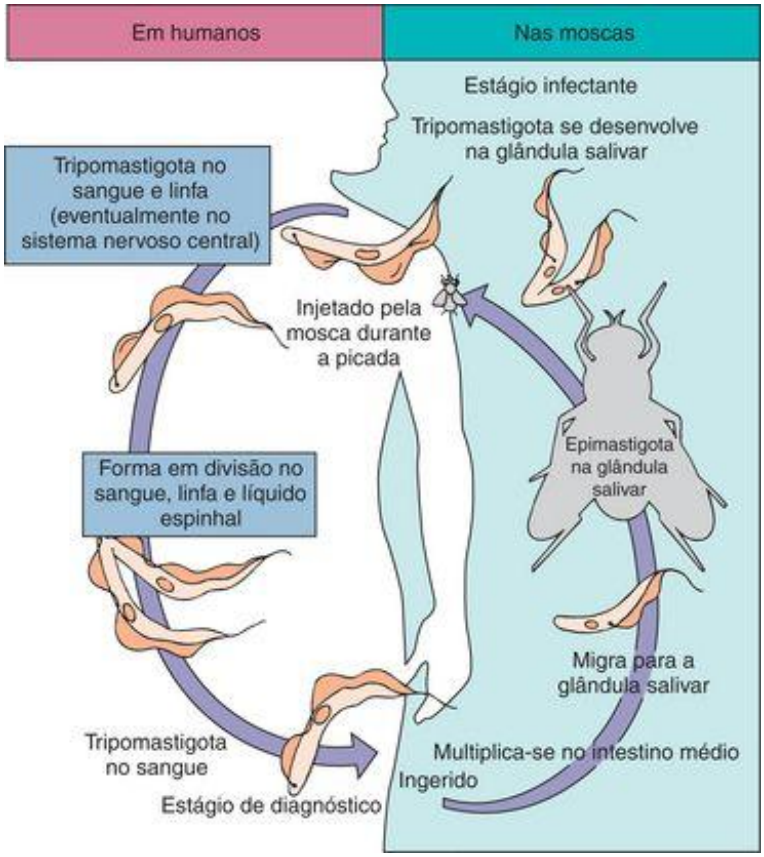


Figura 82-12 Ciclo de vida de *T. brucei*.

Epidemiologia

O organismo é encontrado primariamente no leste da África, especialmente em países onde a pecuária está crescendo, em que as moscas tsé-tsé se reproduzem mais no mato que nas margens de riachos. *T. b. rhodesiense* também difere de *T. b. gambiense* com relação aos reservatórios, incluindo animais domésticos hospedeiros (gado e carneiro) e animais selvagens de caça. Este ciclo de transmissão e vetor torna mais difícil seu controle que o de *T. b. gambiense*.

Síndromes Clínicas

O período de incubação de *T. b. rhodesiense* é menor que o de *T. b. gambiense*. A doença aguda (febre, rigidez e mialgia) ocorre mais depressa e progride para uma enfermidade fulminante e rapidamente fatal. Pessoas infectadas geralmente morrem em 9 a 12 meses se não forem tratadas.

Este organismo mais virulento também se desenvolve em números maiores no sangue. Não é comum haver linfadenopatia e a invasão do SNC ocorre no início da infecção, acompanhada de letargia, anorexia e distúrbio mental. Os estágios crônicos descritos para *T. b. gambiense* não são observados com frequência, pois além de afetar o SNC rapidamente, o organismo produz lesão renal e miocardite, levando à morte.

Diagnóstico Laboratorial

O exame do sangue e do líquido cerebroespinhal é conduzido da mesma forma que para *T. b. gambiense*. Embora existam testes sorológicos disponíveis, a grande variabilidade dos antígenos de superfície dos tripanossomas limita a utilidade diagnóstica desta abordagem.

Tratamento, Prevenção e Controle

Aplica-se o mesmo protocolo de tratamento utilizado para *T. b. gambiense*, com o tratamento precoce das manifestações neurológicas mais rápidas. São necessárias medidas de prevenção e controle semelhantes: controle da mosca tsé-tsé e uso de roupas protetoras, telas, redes e repelentes de insetos. Além disso, o tratamento precoce é essencial para controlar a transmissão, detectar a infecção e determinar o tratamento dos animais domésticos. O controle da infecção nos animais de caça é difícil, porém a infecção pode ser reduzida se forem tomadas medidas para o controle da população de moscas tsé-tsé, especificamente a erradicação dos sítios de reprodução no mato e em pastos.

Trypanosoma cruzi

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida de *T. cruzi* (Fig. 82-14) difere do ciclo de vida de *T. brucei*, com o desenvolvimento de uma forma adicional chamada de **amastigota** (Fig. 82-15). O amastigota é uma forma intracelular aflagelada e sem membrana ondulante. O tripomastigota infectante, que está presente nas fezes de um **inseto reduvídeo** (**"barbeiro"**;), penetra na ferida que se forma com a picada do inseto durante a hematofagia. Os insetos foram chamados de **barbeiros** porque frequentemente picam as pessoas na região ao redor da boca e em outras partes da face. São notáveis por darem uma picada, se alimentarem de sangue e de humores teciduais, e então defecarem na ferida produzida pela picada. Os organismos presentes nas fezes do inseto penetram na ferida, sendo esta penetração usualmente auxiliada quando o paciente coça ou esfrega o local que está irritado.

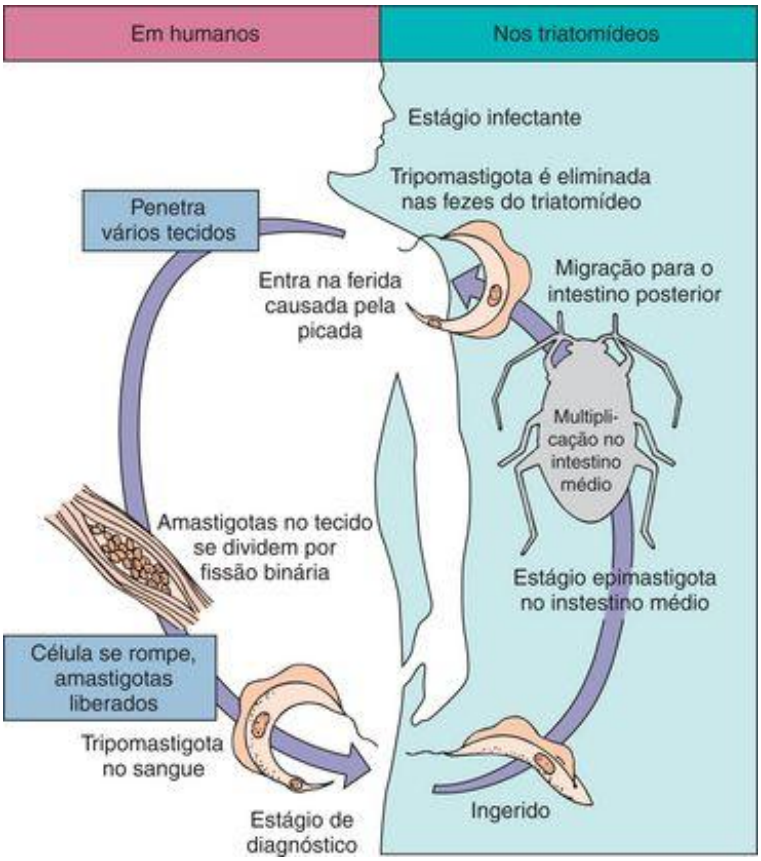


Figura 82-14 Ciclo de vida de *T. cruzi*.

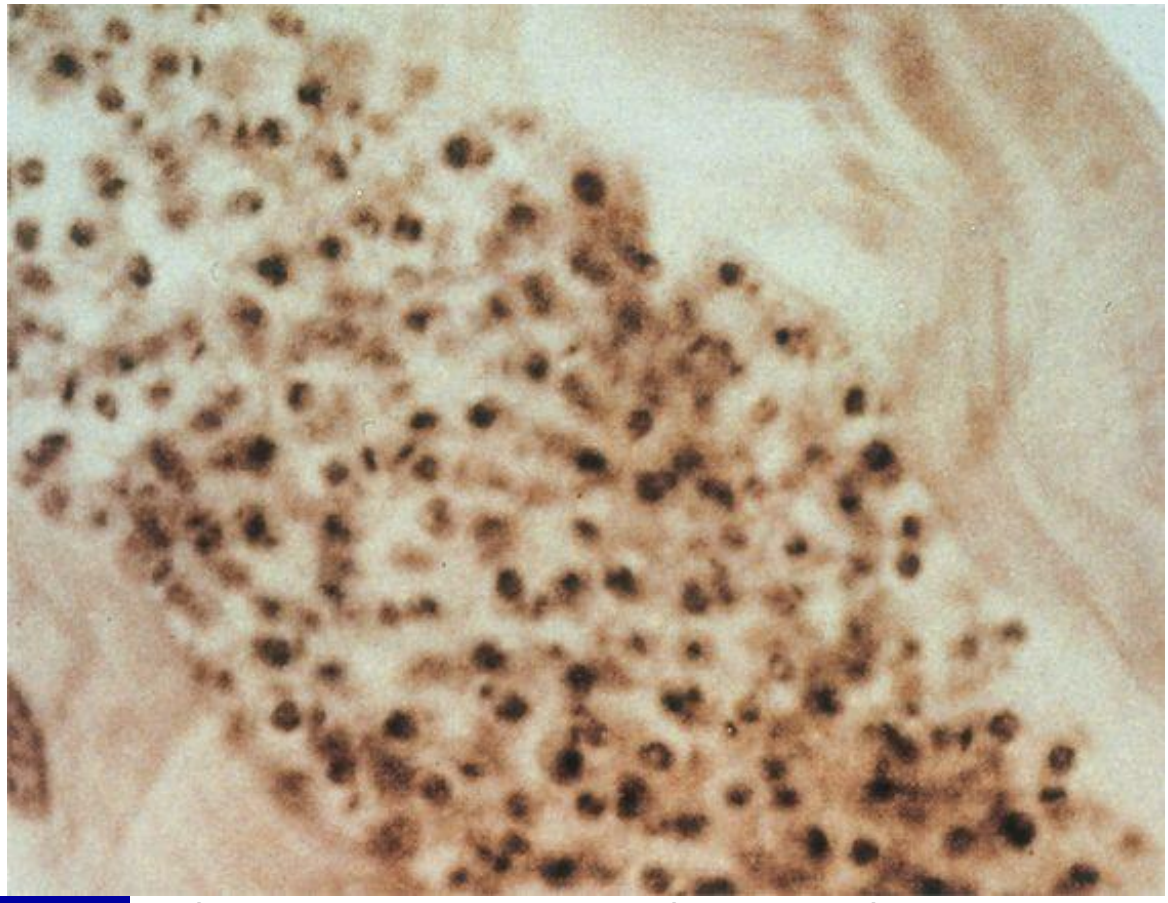


Figura 82-15 Estágio amastigota de *T. cruzi* no músculo esquelético.

(De Ash LR, Orihel TC: Atlas of Human Parasitology, 2nd ed. Chicago, American Society of Clinical Pathologists, 1984.)

Então, os tripomastigotas migram para outros tecidos (p. ex., músculo cardíaco, fígado e cérebro), perdem seu flagelo e a membrana ondulante, e se transformam em formas amastigotas menores, ovais e intracelulares. Estes amastigotas intracelulares se multiplicam por fissão binária e eventualmente destroem as células hospedeiras. Em seguida são liberados e penetram um novo tecido hospedeiro como amastigotas intracelulares, ou se transformam em tripomastigotas infectantes para os reduvídeos que se alimentarem neste paciente. Os tripomastigotas ingeridos se desenvolvem em epimastigotas no intestino médio do inseto e se reproduzem por fissão binária longitudinal. Os organismos migram para o intestino posterior do inseto, se desenvolvem em tripomastigotas metacíclicos e então deixam o vetor juntamente com as fezes eliminadas após a picada, alimentação e defecação do inseto, dando início a uma nova infecção humana.

Epidemiologia

O *T. cruzi* é amplamente encontrado em insetos reduvídeos e também em um grande espectro de animais-reservatório nas Américas do Norte, Central e do Sul. Na maioria das vezes a doença humana é encontrada entre crianças na América do Sul e na América Central, onde 16 a 18 milhões de pessoas estão infectadas. Existe uma correlação direta entre animais selvagens infectados atuando como reservatórios e a presença de insetos infectados, cujos ninhos são encontrados em residências humanas. Nos Estados Unidos os casos são raros, pois os insetos preferem construir seus ninhos em tocas de animais e também porque as casas não são tão abertas para a construção dos ninhos como na América Central e na América do Sul.

Síndromes Clínicas

A doença de Chagas pode ser assintomática, aguda ou crônica. Um dos primeiros sinais é o desenvolvimento de uma área eritematosa e endurecida no local da picada do inseto, chamada de **chagoma**. Muitas vezes se segue a isto o aparecimento de uma erupção e de edema ao redor dos olhos e da face (**sinal de Romaña**). A doença é mais grave em crianças com menos de 5 anos de idade e frequentemente é vista como um processo agudo que acomete o SNC. A infecção aguda também é caracterizada por febre, calafrios, mal-estar, mialgia e fadiga. Os parasitos podem estar presentes no sangue durante a fase aguda, entretanto se apresentam escassos em pacientes com mais de 1 ano de idade. O paciente pode morrer poucas semanas após um ataque agudo, pode se recuperar ou pode entrar na fase crônica, na qual os organismos proliferam e invadem o coração, fígado, baço, cérebro e linfonodos.

A doença de Chagas crônica caracteriza-se por hepatoesplenomegalia, miocardite e aumento do tamanho do esôfago e do cólon como resultado da destruição de células nervosas (p. ex., plexo de Auerbach) e de outros tecidos que controlam o crescimento destes órgãos.

Megacardia e alterações eletrocardiográficas são comumente observadas na doença crônica. O envolvimento do SNC produz granulomas no cérebro, com formação de cistos e meningoencefalite. A morte resultante da doença de Chagas crônica é uma consequência da destruição tecidual que ocorre em muitas áreas invadidas pelos organismos e a morte repentina resulta de um bloqueio cardíaco completo e de dano cerebral.

Diagnóstico Laboratorial

O *T. cruzi* pode ser demonstrado em esfregaços sanguíneos delgados e espessos ou no sangue concentrado e tratado com anticoagulante obtido precocemente no estágio agudo. Conforme a infecção progride, os organismos deixam a corrente sanguínea e se tornam difíceis de encontrar. Uma biópsia dos linfonodos, fígado, baço ou medula óssea pode mostrar os organismos no estágio amastigota. A cultura de sangue ou a inoculação em animais de laboratório pode ser útil quando a parasitemia está baixa. Testes sorológicos também estão disponíveis. Em áreas endêmicas, se utiliza amplamente o xenodiagnóstico. Técnicas de amplificação gênica, como a reação em cadeia da polimerase, têm sido utilizadas para detectar o organismo na circulação sanguínea. A disponibilidade destas abordagens não é grande e não foram adaptadas para o uso de campo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da doença de Chagas é limitado pela falta de agentes de confiança. O fármaco de escolha é o nifurtimox. Embora este fármaco tenha alguma atividade contra a fase aguda da doença, apresenta pouca atividade contra as formas amastigotas teciduais e provoca numerosos efeitos colaterais. Entre os agentes alternativos estão o alopurinol e o benznidazol. É fundamental educar sobre a doença, a transmissão por meio de insetos e a atuação de animais selvagens como reservatórios. O controle dos triatomídeos, a erradicação de seus ninhos e a construção de casas para prevenir o alojamento dos insetos também são essenciais. O uso de diclorodifeniltricloroetano (DDT) em casas infestadas por insetos tem demonstrado uma queda na transmissão da malária e da doença de Chagas. A triagem do sangue através da utilização de meios sorológicos ou da exclusão de doadores de sangue provenientes de áreas endêmicas previne algumas infecções que poderiam estar associadas à transfusão terapêutica.

O desenvolvimento de uma vacina é possível, uma vez que *T. cruzi* não apresenta a variação antigênica observada nos tripanossomas africanos.

Estudo de Caso e Questões

Uma paciente de transplante cardíaco com 44 anos de idade, reclamava de dores de cabeça, náusea e vômitos para seu médico aproximadamente 1 ano depois do transplante. Ela não apresentava lesões na pele. Um exame de tomografia computadorizada da cabeça mostrava lesões em forma de anel realçada. Foi realizada uma biópsia destas lesões. Todas as culturas (bacteriológicas, fúngicas, virais) foram negativas. Colorações especiais de tecidos revelaram a presença de múltiplas estruturas parecidas com cistos de tamanhos variados.

1. Qual foi o diagnóstico diferencial dos agentes infecciosos para esta paciente? Qual era o agente etiológico mais provável?

1. O diagnóstico diferencial para esta paciente incluiu linfoma do sistema nervoso central (SNC), um processo bacteriano, um processo fúngico ou toxoplasmose. O mais provável processo infeccioso é a toxoplasmose.

2. Que outros testes teriam sido realizados para confirmar o diagnóstico?

O teste mais apropriado foi realizado. Teste sorológico é também geralmente realizado. A PCR do fluido espinhal pode ser considerada quando a biópsia não pode ser realizada.

3. Quais aspectos da história médica poderiam sugerir o risco de uma infecção com tal agente?

Sintomas de cefaleia, náusea e vômito claramente sugerem um processo envolvendo o SNC. Esses sintomas em um paciente profundamente imunocomprometido, como, por exemplo, com coração transplantado, causariam suspeitas de linfoma do SNC ou de um processo infeccioso. A toxoplasmose seria a primeira consideração.

4. Quais eram as opções terapêuticas e as chances de que a terapia seria bem-sucedida?

Nesta paciente, reduzir a terapia imunossupressora realmente não é uma opção. O tratamento prolongado com pirimetamina e sulfadiazina ou sulfametoxazol-trimetoprim será necessário com a administração de corticosteroides, se indicados para controlar o edema cerebral. É pouco provável que essa terapia seja curativa, considerando o estado imunocomprometido persistente. A supressão por longos períodos (ex., indefinidos) será necessária.

Bibliografia

Baird JK. Effectiveness of antimicrobial drugs. *N Engl J Med*. 2005;352:1565-1577.

Bruckner DA, Labarca JA, et al. Leishmania and Trypanosoma. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases, vol 2. Stamford: Conn, Appleton & Lange, 1997.

Conway DJ. Molecular epidemiology of malaria. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:188-204.

Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev*.

2006;19:111-126.
Hotez PJ, et al. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*. 2007;357:1018-1027.
Jones JL, et al. Toxoplasma gondii infection in the United States, 1999–2004, decline from the prior decade. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77:405-410.
Karp CL, Auwaerter PG. Coinfection with HIV and tropical infectious diseases. I. Protozoal pathogens. *Clin Infect Dis*. 2007;45:1214-1220.
Marciano-Cabral F, Cabral G. Acanthamoeba spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:273-307.
Rogers WO, et al. Plasmodium and Babesia. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Shiff C. Integrated approach to malaria control. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:278-293.
Talisuna AO, Bloland P, D'Alessandro U. History, dynamics, and public health importance of malaria parasite resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:235-254.
Visvesvara GS, et al. Pathogenic and opportunistic free-living amebae. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Zintl A, et al. Babesia divergens, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:622-636.

83 Nematoides

Os helmintos mais comuns reconhecidos nos Estados Unidos são primariamente nematoides intestinais, apesar de em outros países as infecções por nematoides no sangue e tecidos poderem causar doenças devastadoras. Os nematoides são a forma de parasitos intestinais mais facilmente reconhecida devido ao seu grande tamanho e corpos cilíndricos não segmentados; portanto o nome comum de **vermes cilíndricos**. Estes parasitos vivem primariamente como vermes adultos no trato intestinal e as infecções por nematoides são mais comumente confirmadas através da detecção dos ovos característicos nas fezes. A identificação dos ovos deve ser realizada de maneira sistemática, levando-se em consideração o tamanho e formato do ovo, a espessura da casca e a presença ou ausência de estruturas especializadas como espessamentos polares, protuberâncias, espinhos e opérculos. A presença e as características da larva no interior dos ovos também podem ser úteis. Os nematoides mais comuns de importância médica estão listados na Tabela 83-1.

Tabela 83-1 Nematoides de Importância Médica

Parasito	Nome Comum	Doença

Enterobius vermicularis	Oxiúro	Enterobíase
Ascaris lumbricoides	Verme cilíndrico	Ascaríase
Toxocara canis	Ascaris do cão	Larva migrans visceral
Toxocara cati	Ascaris do gato	Larva migrans visceral
Baylisascaris procyonis	Ascaris do guaxinim	Larva migrans neural
Trichuris trichiura	Verme em forma de chicote	Tricuríase
Ancylostoma duodenale	Ancilostomídeo do velho mundo	Ancilostomose
Necator americanus	Ancilostomídeo do novo mundo	Ancilostomose
Ancylostoma braziliense	Ancilostomídeo do cão ou gato	Larva migrans cutânea
Strongyloides stercoralis	Verme fusiforme	Estrongiloidíase
Trichinella spiralis		Triquinose
Wuchereria bancrofti	Filária bancroftiana	Filaríase
Brugia malayi	Filária malaiana	Filaríase
Loa loa	Verme do olho africano	Loíase
Espécies de *Mansonella*		Filaríase
Onchocerca volvulus		Oncocercíase
Dirofilaria immitis	Verme do coração do cão	Dirofilaríase
Dracunculus medinensis	Verme da Guiné	Dracunculose

Os **filarídeos** são nematoides alongados, delgados e que são parasitos do sangue, linfa, tecidos subcutâneo e conjuntivo. Todos estes nematoides são transmitidos por mosquitos ou moscas hematófagas. A maioria produz formas larvares denominadas de **microfilárias**, que são observadas em amostras de sangue ou no tecido subcutâneo e biópsias de pele.

Enterobius vermicularis

Fisiologia e Estrutura

E. vermicularis, **oxiúro** ou **verme em forma de alfinete** (do inglês ***pinworm***), é um verme pequeno e esbranquiçado reconhecido pelos pais que os encontram nas dobras perianais ou vagina de uma criança infectada. A infecção se inicia através da ingestão de ovos embrionados (Fig. 83-1). As larvas eclodem no intestino delgado e migram para o intestino grosso, onde sofrem maturação para adultos em 2 a 6 semanas. A fecundação da fêmea pelo macho produz os ovos assimétricos característicos. Estes ovos são depositados nas dobras perianais através da migração da fêmea. Em torno de 20 mil ovos são depositados na pele perianal. Os ovos rapidamente maturam e se tornam infectantes dentro de horas.

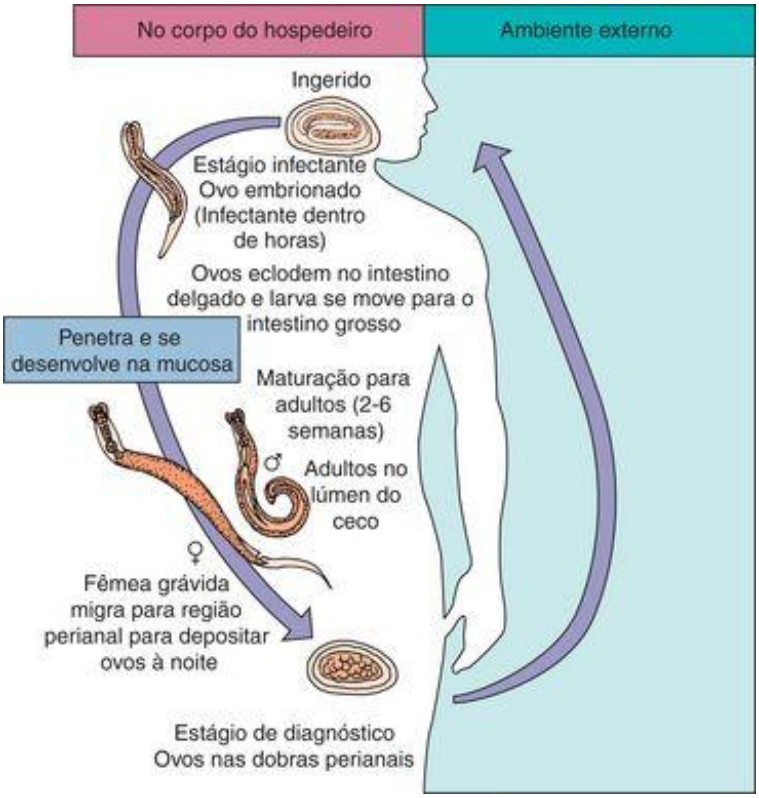


Figura 83-1 Ciclo de vida do *E. vermicularis*.

Epidemiologia

E. vermicularis é cosmopolita, mas é mais comum nas regiões temperadas, onde a dispersão pessoa a pessoa é grande em condições de aglomeração, como em creches, escolas e instituições para doentes mentais. Estima-se que 500 milhões de casos de infecção por *Enterobius* sejam reportados mundialmente e esta é a infecção helmíntica mais comum na América do Norte.

A infecção ocorre quando os ovos são ingeridos e a larva é liberada para se desenvolver na mucosa intestinal. Estes ovos podem ser transmitidos das mãos para a boca, quando crianças coçam as dobras perianais, em resposta à irritação causada pela migração da fêmea para deposição dos ovos, ou os ovos podem contaminar roupas e brinquedos em creches. Eles também podem sobreviver por longos períodos na poeira que se acumula sobre portas, parapeitos de janelas e embaixo das camas nos quartos de indivíduos infectados. O ovos carreados pela poeira podem ser inalados e deglutidos, produzindo a infecção. Também pode ocorrer a **autoinfecção ("retroinfecção")**, quando ovos eclodem nas dobras perianais e as larvas migram para o reto e intestino grosso. Os indivíduos infectados que manipulam alimentos também podem ser uma fonte de infecção. Não é conhecido nenhum reservatório animal para *Enterobius*. Os médicos devem estar cientes da epidemiologia relacionada de *Dientamoeba fragilis*; este organismo se correlaciona bem com a presença de *E. vermicularis*, sendo a *D. fragilis* transportada na casca do ovo do verme.

Síndromes Clínicas

Muitas crianças e adultos não demonstram sintomas e servem apenas como portadores. Pacientes que são alérgicos às secreções dos vermes em migração sentem prurido severo, insônia e fadiga. O prurido pode causar escarificações repetidas da área irritada e levar a infecções bacterianas secundárias. Vermes que migram para o interior da vagina podem produzir problemas geniturinários e granulomas.

Os vermes fixados à mucosa do intestino podem produzir inflamação e formação de granuloma ao redor dos ovos. Apesar dos vermes adultos poderem ocasionalmente invadir o apêndice, não existe nenhuma relação comprovada entre invasão pelo *Enterobius* e apendicite. Já foi relatada, de forma não frequente, a penetração na cavidade peritoneal, fígado e pulmões através da passagem pela parede intestinal.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da **enterobíase** é normalmente sugerido através das manifestações clínicas e confirmado pela detecção de ovos característicos na mucosa anal. Ocasionalmente, os vermes adultos são visualizados por laboratoristas em amostras de fezes, mas o método de escolha para o diagnóstico envolve a utilização de um *swab* anal com uma superfície adesiva que captura os ovos (Fig. 83-2) para exame microscópico. A coleta da amostra pode ser realizada com fita de celofane adesiva e transparente ou *swabs* disponíveis comercialmente. A amostra deve ser coletada quando a criança acorda pela manhã e antes do banho ou defecação, para que sejam capturados os ovos depositados através da migração da fêmea durante a noite. Os pais podem coletar a amostra e entregá-la ao médico para exame microscópico imediato. Três *swabs*, 1 por dia durante 3 dias consecutivos, podem ser necessários para detectar os ovos no diagnóstico. Os ovos são raramente visualizados nas amostras fecais. Sinais sistêmicos da infecção como eosinofilia são raros.

Figura 83-2 Ovos de *E. vermicularis*. Os ovos de parede fina medem de 50 a 60 × 20 a 30µm, ovoides e achatados em um dos lados (não porque as crianças sentam neles, mas esta é uma forma fácil de correlacionar a morfologia do ovo com a epidemiologia da doença).

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol. O pamoato de pirantel e a piperazina são eficazes, mas a reinfecção é comum. Para evitar a reintrodução do organismo e reinfecção no ambiente familiar, é costumeiro que se trate toda a família simultaneamente. Apesar das taxas de cura serem altas, a reinfecção é comum. A repetição do tratamento após 2 semanas pode ser útil na prevenção de reinfecções.

Higiene pessoal, corte das unhas, lavagem cuidadosa das roupas de cama e tratamento imediato dos indivíduos infectados contribuem para o controle. Quando a limpeza é realizada na casa de uma família infectada, a retirada da poeira embaixo das camas, nos parapeitos das janelas e sobre as portas deve ser realizada com um pano molhado para evitar a inalação de ovos infectantes.

Ascaris lumbricoides

Fisiologia e Estrutura

O s *A. lumbricoides* são vermes grandes (20 a 35cm de comprimento), rosados, que possuem um ciclo de vida mais complexo do que o de *E. vermicularis* (Fig. 83-3), mas são típicos de um nematoide intestinal.

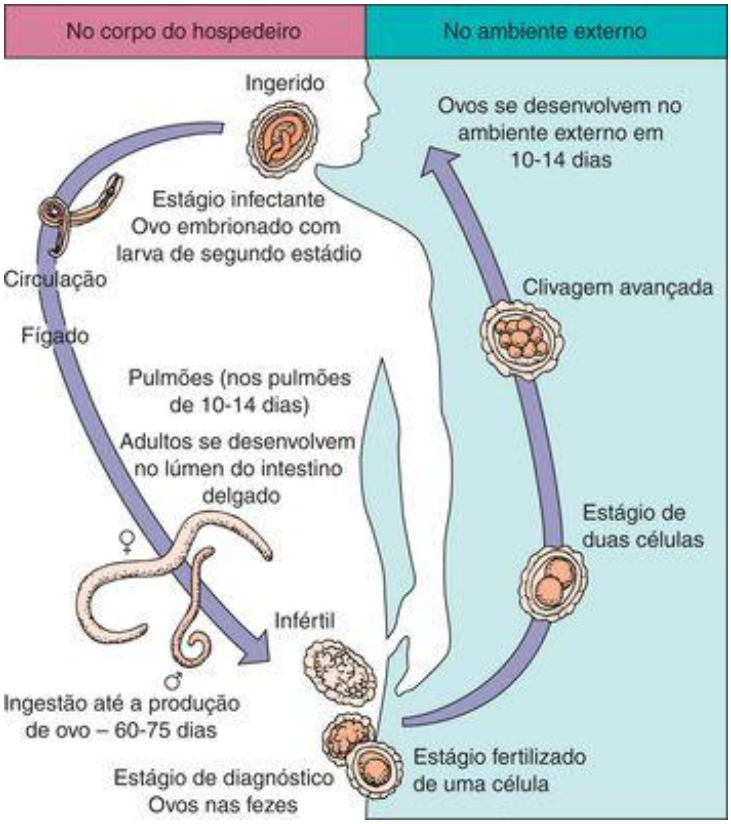


Figura 83-3 Ciclo de vida do *A. lumbricoides*.

O ovo infectante ingerido libera uma larva que penetra na parede duodenal, entra na corrente sanguínea, é carreada ao fígado e coração e então penetra na circulação pulmonar. A larva penetra então nos alvéolos dos pulmões, onde elas crescem e sofrem muda. Em cerca de 3 semanas, a larva migra pelo sistema respiratório e é tossida, deglutida e retorna ao intestino delgado.

À medida que os vermes machos e fêmeas sofrem maturação no intestino delgado (principalmente jejuno), a fecundação da fêmea pelo macho inicia a produção de ovos, que pode somar até 200 mil ovos por dia por até um ano. As fêmeas também podem produzir ovos inférteis na ausência de machos. Os ovos são encontrados nas fezes de 60 a 75 dias após a infecção inicial. Os ovos fertilizados se tornam infectantes após aproximadamente duas semanas no solo.

Epidemiologia

O *A. lumbricoides* é prevalente em áreas onde o saneamento é precário e onde as fezes humanas são utilizadas como fertilizantes. Devido à contaminação de alimentos e água por ovos de *Ascaris*, este parasito, mais do que qualquer outro, afeta a população mundial. Apesar de não ser conhecido nenhum reservatório animal para o *A. lumbricoides*, uma espécie quase idêntica que acomete suínos, o *A. suum*, pode infectar humanos. Esta espécie é encontrada em criadores de suínos e está associada ao uso de estrume de suíno para jardinagem. Os ovos de *Ascaris* são bastante resistentes e podem sobreviver a temperaturas extremas e persistirem por vários meses nas fezes e detritos. A ascaríase é a infecção helmíntica mais comum em todo o mundo, com uma estimativa de um bilhão de pessoas infectadas.

As infecções causadas pela ingestão de apenas poucos ovos podem não produzir sintomas; entretanto, mesmo um único adulto de *Ascaris* pode ser perigoso, pois ele pode migrar para o ducto biliar e fígado e causar danos teciduais. Além disso, como o verme possui um corpo resistente e flexível, ele pode ocasionalmente perfurar o intestino, gerando peritonite com infecção secundária bacteriana. Os vermes adultos não se fixam à mucosa intestinal, mas dependem de movimentação constante para manter sua posição no lúmen intestinal.

Caso Clínico 83-1 Ascaríase Hepática

Hurtado e colaboradores (N Engl J Med 354:1295-1303, 2006) descrevem o caso de uma mulher de 36 anos que apresentava dor abdominal recorrente no quadrante superior direito (QSD). Um ano antes, ela também apresentava dor abdominal no QSD, testes de função hepática anormais e sorologia positiva para hepatite C. O exame ultrassonográfico abdominal demonstrou dilatação biliar e uma colangiopancreatografia endoscópica retrógrada (CCER) demonstrou múltiplas pedras no ducto biliar comum, no ducto hepático esquerdo e no ducto intra-hepático esquerdo. A maioria das pedras foi removida. O exame do aspirado do ducto biliar foi negativo para ovos e parasitos. Um mês antes da internação atual, a paciente apresentou dor recorrente no QSD e icterícia. A repetição do CCER demonstrou novamente múltiplas pedras nos ductos hepáticos principais comum e esquerdo; a remoção parcial foi conseguida.

Um mês depois, a paciente foi internada com dor epigástrica severa e febre. A paciente nasceu no Vietnam e imigrou para os Estados Unidos no início de sua segunda década de vida. Ela não possuía história de viagem recente. Uma TC abdominal com contraste demonstrou perfusão anormal do lobo hepático esquerdo e dilatação das radículas biliares esquerdas com múltiplos defeitos de preenchimento. A CCER demonstrou obstrução parcial do ducto principal hepático esquerdo, poucas pedras de tamanho pequeno e bile purulenta. O exame de imagem por ressonância magnética (IRM) demonstrou aumento difuso do lobo esquerdo e da veia portal esquerda, sugestivo de inflamação. As culturas do sangue apresentaram crescimento de *Klebsiella pneumoniae* e o exame de uma amostra fecal revelou poucas larvas rabditoides de *Strongyloides stercoralis*. *Stents* biliares foram colocados e a paciente foi tratada com levofloxacina. Duas semanas depois, a paciente foi internada no hospital, onde uma hepatectomia parcial foi realizada para o tratamento da colangite piogênica recorrente. O exame macroscópico do lobo hepático esquerdo demonstrou ductos biliares ectásicos contendo cálculos corados por bile. O exame microscópico do material do cálculo revelou coleções de ovos de parasitos e um nematoide degenerado e fragmentado. Espécies de *Klebsiella* foram identificadas nas culturas pelo laboratório de microbiologia. Os achados foram consistentes com colangiohepatite piogênica recorrente com infecção por *Ascaris lumbricoides* e espécies de *Klebsiella*. Além dos antibióticos para a infecção bacteriana, a paciente foi tratada com ivermectina para a infecção por *Strongyloides* e albendazol para o *Ascaris*.

A migração errática do *A. lumbricoides* para a árvore pancreatobiliar com subsequente deposição de ovos, seguida de morte e degeneração de ambos verme e ovos, se tornou um ninho para a formação de cálculos e infecção bacteriana secundária. Apesar de não usual nos Estados Unidos, estima-se que a ascaríase hepática contribua com mais de 35% dos casos de doença biliar e pancreática no subcontinente Indiano e em partes do Sudeste da Ásia.

Após a infecção com muitas larvas, a migração dos vermes para os pulmões pode produzir pneumonite que se assemelha a um ataque asmático. O envolvimento pulmonar está relacionado ao grau de hipersensibilidade induzido por infecções prévias e à intensidade da exposição atual, podendo estar acompanhada de eosinofilia e dessaturação de oxigênio. Também, um emaranhado de vermes maduros no intestino, formando uma espécie de bolo, pode resultar em obstrução, perfuração e oclusão do apêndice. Como mencionado anteriormente, a migração para o ducto biliar, vesícula biliar e fígado pode produzir dano tecidual severo. Esta migração pode ocorrer em resposta à febre, fármacos diferentes

daqueles utilizados para tratar ascaríase e alguns anestésicos. Pacientes com muitas larvas podem também apresentar sensibilidade abdominal, febre, distensão e vômito.

Diagnóstico Laboratorial

O exame do sedimento obtido mediante concentração da amostra fecal revela ovos de casca mamilonada, corados por bile, férteis ou inférteis. Os ovos são ovais, de 55 a 75 µm de comprimento por 50µm de largura. A casca espessa mais externa pode estar parcialmente removida **(ovo descorticado)**. Ocasionalmente, vermes adultos são eliminados nas fezes, o que pode ser bastante dramático devido ao seu grande tamanho (20 a 35cm de comprimento). Os radiologistas também podem visualizar os vermes no intestino e colangiogramas frequentemente revelam sua presença no trato biliar do fígado. A fase pulmonar da doença pode ser diagnosticada através do encontro de larvas e eosinófilos no escarro.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da infecção sintomática é altamente eficaz. O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol; o pamoato de pirantel e a piperazina são alternativas. Pacientes com infecções parasitárias mistas (*A. lumbricoides*, outros helmintos, *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica*) nas fezes devem ser tratados primeiramente para a ascaríase a fim de se evitar a indução de migração dos vermes e possível perfuração intestinal. Educação, melhora no saneamento e a não utilização de fezes humanas como fertilizantes são críticas. Um programa de tratamento em massa em áreas altamente endêmicas tem sido sugerido, mas isto pode não ser economicamente viável. Além disso, os ovos podem persistir em solos contaminados por 3 anos ou mais. Certamente, a melhora na higiene pessoal entre as pessoas que manipulam alimentos é um aspecto importante do controle.

Toxocara e *Baylisascaris*

Fisiologia e Estrutura

Toxocara canis, Toxocara cati e *Baylisascaris procyonis* são vermes ascarídeos que são naturalmente parasitos do intestino de cães, gatos e guaxinim, respectivamente. Estes organismos podem acidentalmente infectar humanos, produzindo estados de doença conhecidos como **larva migrans visceral (LMV), larva migrans neural (LMN)** e **larva migrans ocular (LMO)**. Quando ingeridos por humanos, os ovos destes vermes podem eclodir liberando formas larvares, que não conseguem seguir o desenvolvimento normal de seu ciclo de vida, como ocorre nos hospedeiros naturais. Elas podem penetrar no intestino humano e atingir a corrente sanguínea e migrar como larva para vários tecidos humanos. As espécies de *Toxocara* são as causas mais comuns de LMV e LMO, enquanto *B. procyonis* tem sido altamente reconhecido como causa de LMN fatal. Apesar das espécies de *Toxocara* não se desenvolverem além da forma larvar migratória, a larva de *B. procyonis* continua a crescer para um tamanho maior no hospedeiro humano.

Epidemiologia

Em qualquer lugar onde estejam presentes cães e gatos infectados, os ovos são uma ameaça aos humanos. Desta forma, o contato com guaxinins ou suas fezes representam um risco significativo de infecção por *B. procyonis*. Isto é especialmente verdadeiro para crianças que estão expostas mais facilmente ao solo contaminado e que tendem a colocar objetos na boca.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 83-2)

As manifestações clínicas da LMV, LMN e LMO em humanos estão relacionadas à migração da larva pelos tecidos. As larvas podem invadir qualquer tecido do corpo, onde podem induzir sangramento, a formação de granulomas eosinofílicos e necrose. Pacientes podem ser assintomáticos e apresentarem apenas eosinofilia, mas também podem apresentar doenças sérias diretamente relacionadas ao número e localização das lesões causadas pela migração da larva, assim como ao grau de sensibilização do hospedeiro aos antígenos das larvas. Os órgãos mais frequentemente envolvidos são os pulmões, coração, rins, fígado, músculos esqueléticos, olhos e sistema nervoso central. A LMN é uma sequela comum da infecção por *B. procyonis* e é atribuída à extensa migração somática da larva desta espécie. O crescimento continuado e migração no SNC produzem dano tecidual mecânico extenso. Sinais e sintomas devido à migração da larva incluem tosse, sibilos, febre, exantema, anorexia, convulsões, fadiga e desconforto abdominal. Ao exame, os pacientes podem apresentar hepatoesplenomegalia e lesões nodulares pruriginosas na pele. A morte pode resultar de insuficiência respiratória, arritmia cardíaca ou dano cerebral. A doença ocular também pode ocorrer com a movimentação da larva através do olho e pode ser confundida com retinoblastoma maligno. O diagnóstico imediato é necessário para se evitar uma enucleação desnecessária.

Caso Clínico 83-2 Baylisascaríase

Gavin e colaboradores (Pediatr Infect Dis J 21:971-975, 2002) descrevem o caso de um garoto de 2,5 anos de idade, anteriormente normal, que foi internado no hospital apresentando febre e recente início de encefalopatia. A história pregressa era significativa para pica e geofagia e ele estava recebendo sulfato ferroso para anemia por deficiência de ferro. Estava em bom estado de saúde até 8 dias antes da internação, quando se desenvolveram temperatura de 38,5°C e tosse branda. Três dias antes da internação, desenvolveu crescente letargia e marcada sonolência. Estava irritável, confuso e atáxico. A família morava no subúrbio de Chicago e não houve contato com indivíduos doentes ou animais em casa. Não existia história de viagem. Na internação, ele estava febril e letárgico, mas irritável e agitado quando perturbado. Estavam presentes enrijecimento do pescoço com hipertonicidade generalizada, hiperreflexia e respostas plantares extensoras bilaterais. A contagem de leucócitos estava elevada e a eosinofilia estava presente. O exame do LCR revelou níveis elevados de proteína e leucócitos, com 32% de eosinófilos. Colorações de Gram, acidorresistente e nanquim e testes para antígenos bacterianos e criptocócicos foram todos negativos. Terapias antibacteriana e antiviral de amplo espectro foram iniciadas empiricamente; entretanto, o paciente se tornou comatoso, com opistótono, postura descerebrada, hipertonicidade e tremores. Uma IRM craniana demonstrou áreas de aumento de sinal envolvendo ambos hemisférios cerebelares. Culturas bacterianas, fúngicas, micobacterianas e virais de sangue e LCR foram negativas. Sorologias virais foram negativas, assim como testes para anticorpos contra *Toxocara*, cisticercose, coccidioidomicose, blastomicose e histoplasmose. Uma história epidemiológica detalhada revelou que 18 dias antes da hospitalização, a família participou de um piquenique em um subúrbio próximo. Diversos guaxinins foram regularmente observados nas proximidades e o paciente foi avistado brincando e comendo sujeira embaixo das árvores. Anticorpos séricos e no LCR contra larvas de terceiro estádio de *Baylisascaris procyonis* foram demonstradas por teste de imunofluorescência indireta (IFA), com títulos aumentando de 1/4 a 1/1024 em um período de 2 semanas. O paciente foi tratado com albendazol e corticosteroides por 4 semanas, mas permaneceu severamente afetado, com marcada espasticidade generalizada e cegueira cortical. Exame subsequente do solo e detritos do local de brincadeiras das crianças revelou milhares de ovos infectantes de *B. procyonis*. Este caso enfatiza os efeitos devastadores da LMN. Em muitas regiões da América do Norte, grandes populações de guaxinins com altas taxas de infecções endêmicas por *B. procyonis* (p. ex., 60% a 80%) vivem próximos a humanos, o que sugere que o risco da infecção humana é provavelmente substancial.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de LMV, LMN e LMO se baseia nos achados clínicos, na presença de eosinofilia, na exposição a cães, gatos, ou guaxinins, e na confirmação sorológica. Ensaios imunossorventes ligados à enzima estão disponíveis e parecem oferecer o melhor marcador sorológico para a doença. O exame das fezes de pacientes infectados não é útil, pois os adultos capazes de depositar ovos não estão presentes. Entretanto, o exame de material fecal de animais infectados frequentemente apoia o diagnóstico. O exame de tecido em busca de larvas pode proporcionar um diagnóstico definitivo, mas pode ser negativo devido a erros de coleta de amostra.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é primariamente sintomático, já que agentes antiparasitários não são comprovadamente benéficos. A terapia com agentes anti-helmínticos como albendazol, mebendazol, dietilcarbamazina ou tiabendazol é frequentemente utilizada. A terapia com corticosteroides pode salvar vidas se o paciente apresentar sérios envolvimentos pulmonares, miocárdicos, ou do sistema nervoso central, já que um dos principais componentes da infecção é uma resposta inflamatória ao organismo. Até o momento, apesar do tratamento anti-helmíntico de casos de LMN por *B. procyonis*, não existem sobreviventes neurologicamente intactos. Esta zoonose pode ser grandemente reduzida se proprietários de animais de estimação conscientemente erradicarem vermes de seus animais e limparem o material fecal dos animais de jardins e parques de escolas. As áreas para brincadeiras de crianças e caixas de areia devem ser cuidadosamente monitoradas. Os guaxinins não devem ser encorajados a visitar casas ou jardins em busca de alimentos e a manutenção de guaxinins como animais de estimação deve ser fortemente desencorajada.

Trichuris trichiura

Fisiologia e Estrutura

Comumente denominado de **verme em forma de chicote** devido a sua semelhança ao cabo e o açoite de um chicote, o *T. trichiura* apresenta um ciclo de vida simples (Fig. 83-4). Os ovos ingeridos eclodem liberando larvas no intestino delgado, que migram para o ceco, onde penetram na mucosa e sofrem maturação para adultos. Em torno de 3 meses após a infecção inicial, a fêmea fecundada inicia a postura dos ovos e pode produzir 3 mil a 10 mil ovos por dia. As fêmeas dos vermes podem viver por até 8 anos. Os ovos liberados no solo sofrem maturação e se tornam infectantes em 3 semanas. Os ovos de *T. trichiura* são distintos, com coloração escura pela bile, forma de barril e a presença de espessamentos polares na casca do ovo (Fig. 83-5).

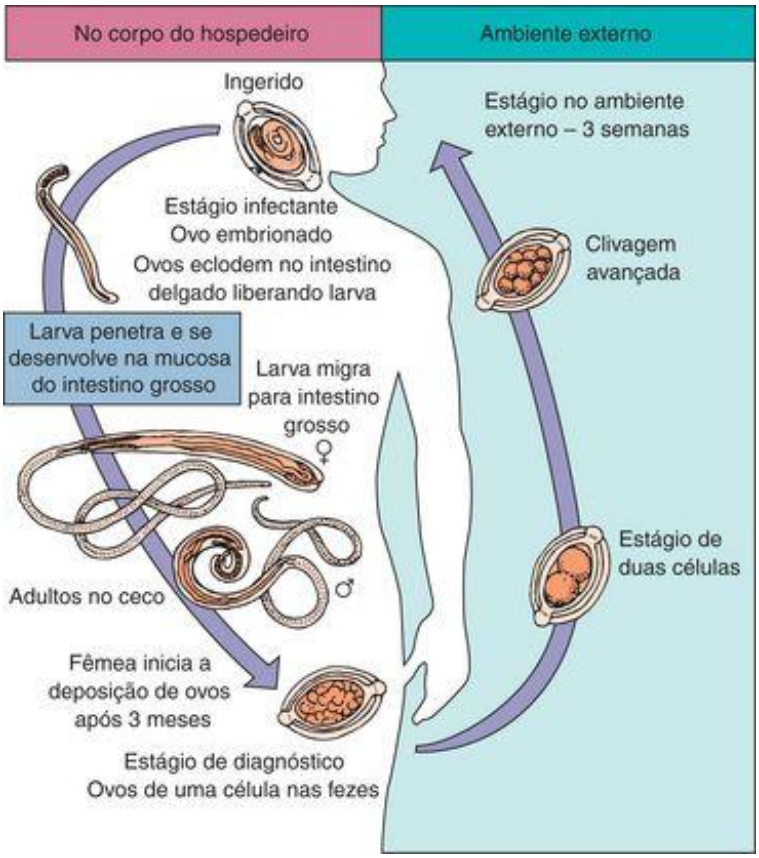


Figura 83-4 Ciclo de vida do *T. trichiura*.

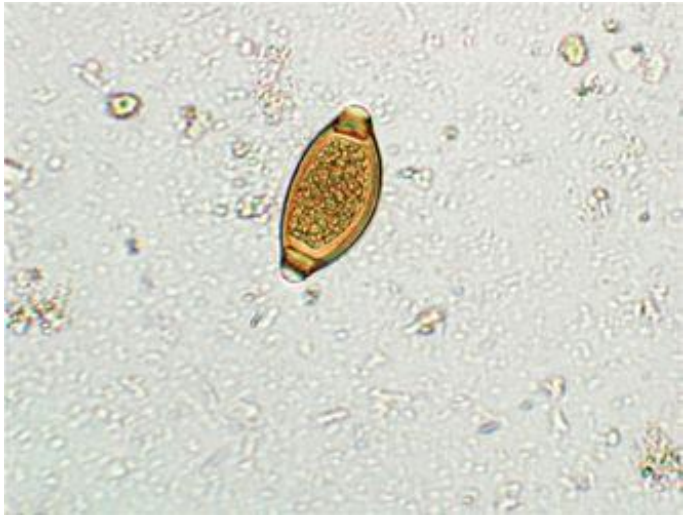


Figura 83-5 Ovo de *T. trichiura*. Os ovos possuem formato de barril, medindo 50 × 24µm, com uma parede espessa e dois espessamentos proeminentes nos pólos. Internamente, está presente um óvulo não segmentado.

Epidemiologia

Da mesma forma que o *A. lumbricoides*, o *T. trichiura* apresenta uma distribuição cosmopolita e sua prevalência está diretamente relacionada ao saneamento precário e ao uso de fezes humanas como fertilizante. Nenhum animal é reconhecido como reservatório.

Síndromes Clínicas

As manifestações clínicas da **tricuríase** estão geralmente relacionadas à intensidade da carga parasitária. A maioria das infecções ocorre com pequenos números de *Trichuris* e são normalmente assintomáticas, apesar de infecções bacterianas secundárias poderem ocorrer devido à cabeça dos vermes penetrarem profundamente na mucosa intestinal. Infecções com muitas larvas podem produzir dor e distensão abdominal, diarreia sanguinolenta, fraqueza e perda de peso. A apendicite pode ocorrer à medida que os vermes preencham o lúmen e o prolapso retal é observado em crianças devido à irritação e esforço durante a defecação. A anemia e a eosinofilia também são encontradas em infecções severas.

Diagnóstico Laboratorial

O exame da amostra fecal revela os ovos característicos, corados por bile e apresentando espessamentos polares. Infecções leves podem ser difíceis de serem detectadas devido à escassez dos ovos nas amostras fecais.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol. Assim como para a infecção por *A. lumbricoides*, a prevenção do *T. trichiura* depende da educação, boa higiene pessoal, saneamento adequado e a não utilização de fezes humanas como fertilizantes.

Ancilostomídeos

Ancylostoma duodenale e *Necator americanus*

Fisiologia e Estrutura

Os dois ancilostomídeos dos humanos são *A. duodenale* (**ancilostomídeo do Velho Mundo**) e *N. americanus* **(ancilostomídeo do Novo Mundo)**. Diferindo apenas na distribuição geográfica, estrutura das partes da cápsula bucal e tamanho relativo, estas duas espécies são discutidas em conjunto como sendo agentes de infecção por ancilostomídeos. A fase humana do ciclo de vida do ancilostomídeo é iniciada quando a larva filarióide (forma infectante) penetra através de pele intacta (Fig. 83-6). A larva então penetra na circulação; é carreada aos pulmões; e da mesma forma que o *A. lumbricoides*, é tossida, deglutida e se desenvolve em parasito adulto no intestino delgado. O adulto de *N. americanus* apresenta uma cabeça em forma de gancho, que dá o nome comumente utilizado em inglês (*hookworm*). Os vermes adultos depositam de 10 mil a 20 mil ovos por dia, que são liberados nas fezes. A deposição de ovos é iniciada de 4 a 8 semanas após a exposição inicial e pode persistir por até 5 anos. Em contato com o solo, as larvas **rabditoides** (não infectantes) são liberadas dos ovos e dentro de 2 semanas se desenvolvem em larvas **filarioides**. As larvas filarioides podem então penetrar na pele exposta (p. ex., pés descalços) e iniciar um novo ciclo de infecção humana.

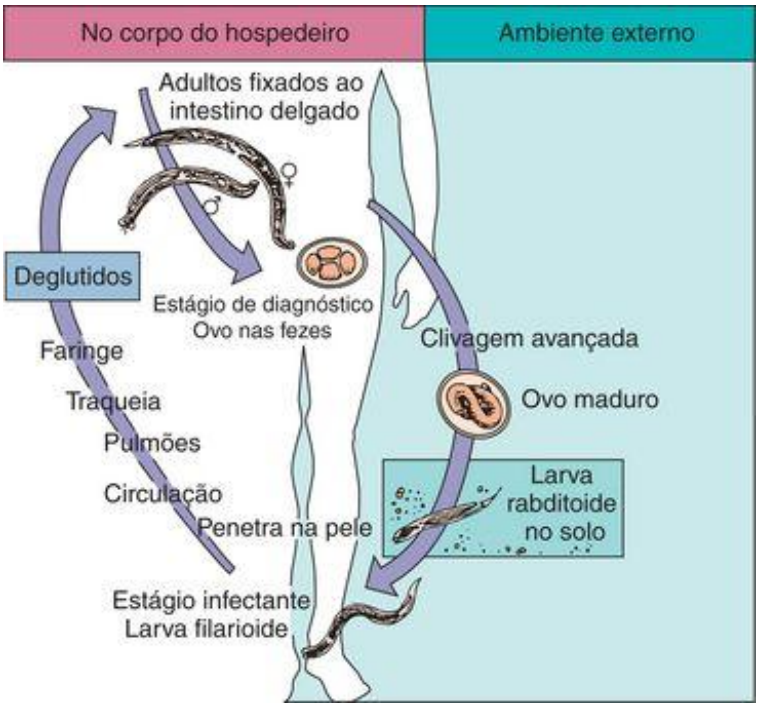


Figura 83-6 Ciclo de vida dos ancilostomídeos humanos.

Ambas as espécies apresentam cápsula bucal designada para hematofagia no tecido intestinal lesionado. *A. duodenale* apresenta dentes quitinosos e *N. americanus* apresenta placas quitinosas cortantes.

Epidemiologia

A transmissão da infecção por ancilostomídeos requer a deposição de fezes contendo ovos em solos sombreados e bem drenados e é favorecida por condições quentes e úmidas (tropicais). As infecções por ancilostomídeos são relatadas mundialmente em locais onde o contato direto com o solo contaminado pode levar à doença humana, mas elas ocorrem

principalmente em regiões quentes tropicais e subtropicais e nas partes do sul dos Estados Unidos. Estima-se que mais de 900 milhões de indivíduos estejam infectados com ancilostomídeos ao redor do mundo, incluindo 700 mil nos Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A penetração de larvas na pele pode produzir uma reação alérgica e exantema nos locais de entrada e a migração da larva nos pulmões pode causar pneumonite e eosinofilia. Os vermes adultos produzem os sintomas gastrintestinais de náusea, vômito e diarreia. À medida que o sangue é perdido pela alimentação dos vermes, se desenvolve uma anemia microcítica hipocrômica. A perda de sangue diária é estimada em 0,15 a 0,25mL para cada adulto de *A. duodenale* e 0,03mL para cada adulto de *N. americanus*. Em infecções crônicas severas, emaciação e retardo mental e físico podem ocorrer, estando relacionados à anemia devido à perda de sangue e deficiências nutricionais. Os sítios intestinais também podem ser secundariamente infectados por bactérias quando os vermes migram ao longo da mucosa intestinal.

Diagnóstico Laboratorial

O exame das fezes revela os ovos característicos, segmentados não corados por bile, como demonstrado na Figura 83-7. As larvas não são encontradas em amostras de fezes a menos que seja deixada à temperatura ambiente por 1 dia ou mais. Os ovos de *A. duodenale* e *N. americanus* não podem ser diferenciados. A larva deve ser examinada para poder identificar estes ancilostomídeos especificamente, apesar de ser clinicamente desnecessário.

Figura 83-7 Ovo de ancilostomídeo humano. Os ovos possuem de 60 a 75µm de comprimento e 35 a 40µm de largura, com casca fina, e no interior existe uma larva em desenvolvimento.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol; o pamoato de pirantel é uma alternativa. Além da erradicação dos vermes para se interromper a perda sanguínea, a terapia com ferro é indicada para elevar os níveis de hemoglobina ao normal. A transfusão de sangue pode ser necessária em casos severos de anemia. Educação, melhora das condições sanitárias e controle dos dejetos fecais humanos são medidas preventivas críticas. O uso de calçados em áreas endêmicas ajuda a reduzir a prevalência da infecção.

Ancylostoma braziliense

Fisiologia e Estrutura

A. braziliense, uma espécie de ancilostomídeo, é naturalmente parasito do intestino de cães e gatos e acidentalmente infecta humanos. Ele produz uma doença denominada de **larva migrans cutânea**, mas também denominada de **bicho geográfico** e **dermatite serpiginosa**. A larva filarioide deste ancilostomídeo penetra na pele intacta, mas não consegue continuar seu ciclo de vida nos humanos. A larva permanece presa na pele do hospedeiro errado por semanas ou meses, vagando pelo tecido subcutâneo e criando túneis serpentiformes.

Epidemiologia

Semelhante à situação do *Ascaris*, a ameaça de infecção pelo *A. braziliense* é maior entre crianças, que entram em contato com solo ou caixas de areia contaminadas por fezes de animais contendo ovos de ancilostomídeos. As infecções são prevalentes por todo o ano nas praias de regiões tropicais e subtropicais; no verão, a infecção é relatada ao norte, na região de fronteira entre Canadá e Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A migração das larvas pode provocar uma reação eritematosa e vesicular severa. O prurido e a escarificação da pele irritada podem levar a infecções bacterianas secundárias. Cerca de metade dos pacientes desenvolvem infiltrados pulmonares transitórios com eosinofilia periférica **(síndrome de Löffler)**, presumivelmente resultante de uma migração pulmonar das larvas.

Diagnóstico Laboratorial

Ocasionalmente, as larvas são recuperadas em biópsias de pele ou após o congelamento da pele, mas a maioria dos diagnósticos se baseia na aparência clínica dos túneis e no histórico de contato com fezes de cão e gato. As larvas são raramente encontradas no escarro.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol; ivermectina e tiabendazol são alternativas. Anti-histamínicos podem ser úteis no controle do prurido. Esta zoonose, como a infecção por *Ascaris* de animais, pode ser reduzida através da educação de proprietários de animais de estimação a tratá-los contra infecções por vermes e recolher as fezes dos animais de jardins, praias e caixas de areia. Em áreas endêmicas, sapatos ou sandálias devem ser utilizados para prevenir a infecção.

Strongyloides stercoralis

Fisiologia e Estrutura

Apesar da morfologia destes vermes e da epidemiologia de suas infecções serem similares às dos ancilostomídeos, o ciclo de vida do *S. stercoralis* (Fig. 83-8) difere em três aspectos: (1) os ovos eclodem liberando larvas no intestino antes de serem eliminadas nas fezes; (2) as larvas podem maturar para a forma filarioide no intestino e causar autoinfecção; e (3) um ciclo de vida livre, não parasitário, pode se estabelecer fora do hospedeiro humano.

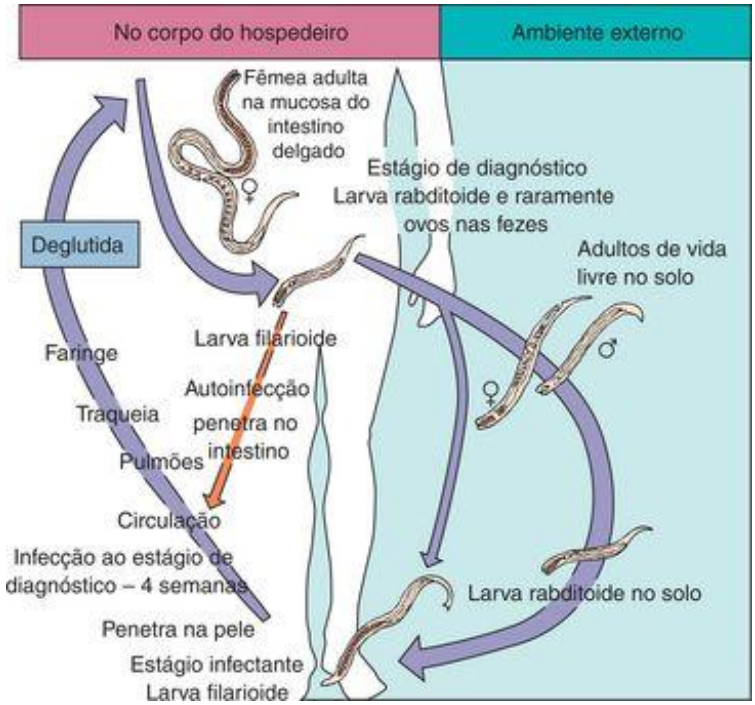


Figura 83-8 Ciclo de vida do *S. stercoralis*.

No desenvolvimento direto, como nos ancilostomídeos, uma larva de *S. stercoralis* penetra na pele e entra na circulação, seguindo o curso pulmonar. Ela é tossida e deglutida, e adultos se desenvolvem no intestino delgado. Fêmeas adultas penetram no interior da mucosa do duodeno e se reproduzem por partenogênese. Cada fêmea produz cerca de uma dúzia de ovos por dia, que eclodem na mucosa e liberam larvas **rabditoides** no lúmen do intestino. As larvas rabditoides são distinguidas das larvas de ancilostomídeos pela sua cápsula bucal curta e um grande primórdio genital. As larvas rabditoides são eliminadas nas fezes e podem continuar o ciclo direto, através da transformação em larvas **filarioides** infectantes, ou se desenvolverem em vermes adultos de vida livre e iniciarem o ciclo indireto.

No desenvolvimento indireto, as larvas no solo se desenvolvem em adultos de vida livre que produzem ovos e larvas. Diversas gerações desta existência não parasitária podem ocorrer antes de uma nova larva se tornar um parasito capaz de penetrar em tecido.

Finalmente, na **autoinfecção**, as larvas rabditoides no intestino não são eliminadas nas fezes e se tornam larvas filarioides. Estas penetram na pele intestinal ou perianal e seguem o curso através da circulação e estruturas pulmonares, são tossidas e então deglutidas; neste ponto, se tornam adultas, produzindo mais larvas no intestino. Este ciclo pode persistir por anos e levar à **hiperinfecção** e infecção massiva ou disseminada, frequentemente fatal.

Epidemiologia

Semelhante aos ancilostomídeos que necessita de temperaturas quentes e umidade, o *S. stercoralis* demonstra baixa prevalência, mas de certa forma uma ampla distribuição geográfica, incluindo partes do norte dos Estados Unidos e Canadá. A transmissão sexual também ocorre. São reconhecidos reservatórios animais, como animais de estimação.

Indivíduos com **estrongiloidíase** são frequentemente acometidos por pneumonite devido à migração das larvas, semelhante a encontrada na ascaríase e ancilostomose. A infecção intestinal é normalmente assintomática. Entretanto, cargas parasitárias altas podem envolver os ductos biliares e pancreáticos, todo o intestino delgado e o cólon, causando inflamação e ulceração levando à dor e sensibilidade epigástrica, vômito, diarreia (ocasionalmente sanguinolenta) e má-absorção. Sintomas que imitam a doença da úlcera péptica, em conjunto com eosinofilia periférica, devem sugerir fortemente o diagnóstico de estrongiloidíase.

A autoinfecção pode levar à estrongiloidíase crônica, que pode durar anos, mesmo em áreas não endêmicas. Apesar de muitas destas infecções crônicas poderem ser assintomáticas, em torno de 2/3 dos pacientes apresentam sintomas episódicos recorrentes referentes ao envolvimento da pele, pulmões e trato intestinal. Indivíduos com estrongiloidíase crônica estão sob risco de desenvolver síndrome de hiperinfecção severa e ameaçadora à vida, se o equilíbrio hospedeiro-parasito for quebrado por qualquer fármaco ou doença que comprometa o estado imune do hospedeiro (Caso Clínico 83-3). A **síndrome da hiperinfecção** é observada mais comumente em indivíduos imunocomprometidos por malignidades (especialmente malignidades hematológicas), terapia com corticosteroides, ou ambos. A síndrome da hiperinfecção também já foi observada em pacientes que foram submetidos ao transplante de órgãos sólidos e em pessoas desnutridas. A perda da função imunecelular pode estar associada à conversão de larvas rabditoides em filarioides, seguida da disseminação da larva via circulação para virtualmente qualquer órgão. Mais comumente, a infecção extraintestinal envolve o pulmão e inclui broncoespasmo, infiltrados difusos e ocasionalmente cavitação. A disseminação que envolve os linfonodos abdominais, fígado, baço, rins, pâncreas, tireoide, coração, cérebro e meninges é comum. Os sintomas intestinais da síndrome de hiperinfecção incluem diarreia intensa, má-absorção e anormalidades eletrolíticas. Notavelmente, a síndrome de hiperinfecção está associada à taxa de mortalidade de aproximadamente 86%. Sepse bacteriana, meningite, peritonite e endocardite secundárias à dispersão das larvas a partir do intestino são complicações frequentes e usualmente fatais da síndrome de hiperinfecção.

Caso Clínico 83-3 Hiperinfecção por *Strongyloides*

Gorman e colaboradores (Infect Med 23:480, 2006) descrevem o caso de miosite necrosante complicado por hemorragia alveolar difusa e sepse, que seguiu terapia com corticosteroides. O paciente era um homem de 46 anos proveniente do Camboja com história de fenômeno de Raynaud. Ele compareceu a uma clínica reumatológica com agravamento dos sintomas da síndrome de Raynaud e dores musculares difusas. Era empregado como motorista de caminhão e havia imigrado do Camboja 30 anos antes. Estudos laboratoriais pertinentes incluíram níveis de creatininoquinase e aldolase marcadamente elevados. Estudos da função pulmonar demonstraram redução da capacidade vital forçada, volume expiratório forçado e capacidade de difusão do monóxido de carbono. Uma TC de alta resolução do tórax demonstrou opacidade em vidro fosco branda em ambas as bases pulmonares e espessamento dos septos interlobulares. A biópsia muscular demonstrou necrose de miócitos e atrofia aleatória, mas sem a presença de células inflamatórias. A broncoscopia não apresentou nada importante e todas as culturas foram negativas. O paciente iniciou a terapia com prednisona para uma suposta miopatia necrosante secundária a doença do tecido conjuntivo não diferenciado.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da estrongiloidíase pode ser difícil devido à eliminação intermitente de pequenas quantidades de larvas de primeiro estádio nas fezes. O exame do sedimento proveniente da concentração de amostra fecal revela as larvas (Fig. 83-9), mas em contraste com a infecção por ancilostomídeos, na infecção por *S. stercoralis*, os ovos geralmente não são visualizados. Recomenda-se a coleta de três amostras de fezes, 1 por dia por 3 dias (assim como para *G. lamblia*), pois as larvas de *S. stercoralis* podem apresentar intermitência, com muitas presentes em um dia e poucas ou nenhuma no dia seguinte. Diversos autores indicam o **método de Baermann e Moraes** para concentração de larvas vivas de *S. stercoralis* de amostras fecais. Este método utiliza um funil com uma válvula reguladora e uma gaze inserida. O funil é preenchido com água morna para um nível que recobre a gaze e uma amostra de fezes é colocada na gaze, parcialmente em contato com a água. As larvas presentes nas fezes migram através da gaze em direção à água e então sedimentam no pescoço do funil, onde elas podem ser detectadas por microscopia de pequeno aumento. Quando ausentes nas fezes, as larvas podem ser detectadas em aspirados duodenais ou em escarro no caso de infecção maciça. Finalmente, podem ser utilizadas culturas de larvas a partir da amostra fecal, utilizando culturas de carvão ou o método da placa de agar, apesar de não serem realizados na rotina na maioria dos laboratórios. A demonstração de anticorpos anti-*Strongyloides* no sangue pode ser útil como teste de triagem ou como um auxiliar para o diagnóstico.

Figura 83-9 Larva de *S. stercoralis*. As larvas têm de 180 a 380µm de comprimento e 14 a 24µm de largura. Elas são diferenciadas das larvas de ancilostomídeos pelo tamanho da cavidade bucal e esôfago e pela estrutura do primórdio genital.

Tratamento, Prevenção e Controle

Todos os pacientes infectados devem ser tratados para prevenir a autoinfecção e uma potencial disseminação (hiperinfecção) do parasito. A droga de escolha é a ivermectina, com albendazol ou mebendazol como alternativa. Pacientes em áreas endêmicas, que estejam se preparando para se submeterem à terapia imunossupressora, devem realizar ao menos três exames de fezes para excluir a infecção por *S. stercoralis* e, portanto, evitar riscos de autoinfecção. Medidas rígidas de controle da infecção devem ser reforçadas quando os médicos cuidam de pacientes com síndrome de hiperinfecção, pois as fezes, saliva, vômito e fluidos corpóreos podem conter larvas filarioides infectantes. Assim como para os ancilostomídeos, o controle das espécies de *Strongyloides* requer educação, saneamento adequado e tratamento imediato de infecções existentes.

Trichinella spiralis

Fisiologia e Estrutura

T. spiralis é a mais importante causa de doença humana, mas outras espécies, como *T. pseudospiralis* e *T. britovi*, também podem causar **triquinose**. A forma adulta deste organismo vive na mucosa duodenal e jejunal de mamíferos que se alimentam de carne ao redor do mundo. A forma larvar infectante está presente nos músculos estriados de mamíferos carnívoros e onívoros. Dentre os animais domésticos, os suínos são os mais frequentemente envolvidos. A Figura 83-10 ilustra o ciclo de vida direto e simples, que termina na musculatura de humanos, onde a larva eventualmente morre e calcifica.

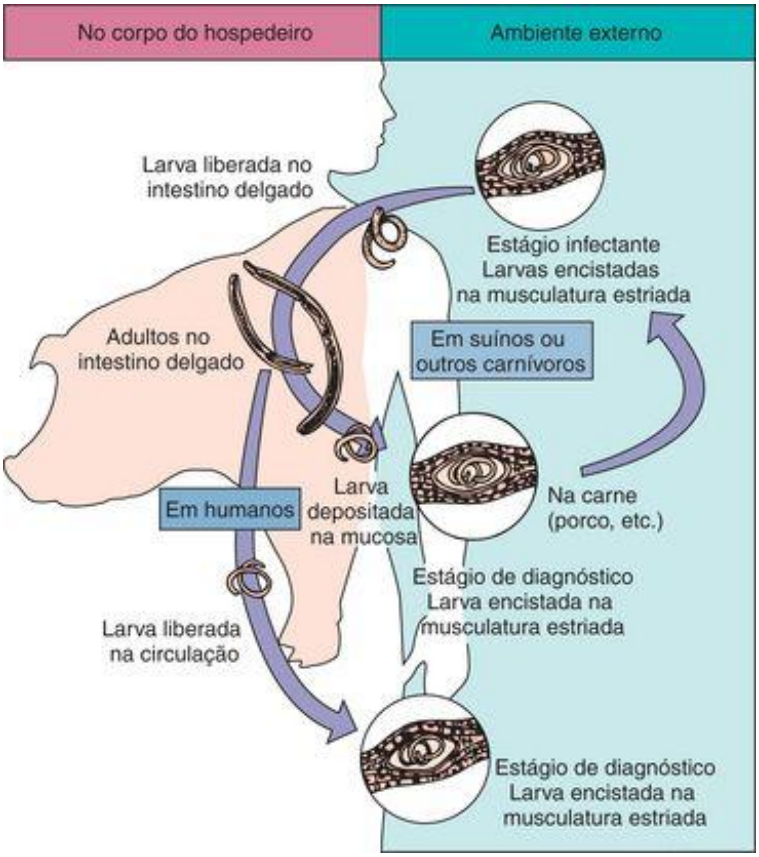


Figura 83-10 Ciclo de vida de *T. spiralis*.

A infecção tem início quando a carne que contém larvas encistadas é digerida. As larvas deixam a carne no intestino delgado e, em 2 dias, se desenvolvem em vermes adultos. Uma única fêmea fecundada produz mais de 1.500 larvas em 1 a 3 meses. Estas larvas se mudam da mucosa intestinal para a corrente sanguínea e são carreadas na circulação para vários locais da musculatura ao longo do corpo, onde se enrolam em fibras musculares estriadas e se tornam encistadas (Fig. 83-11). Os músculos invadidos incluem, mais frequentemente, os músculos extraoculares do olho; a língua; os músculos deltoide, peitoral e intercostal; o diafragma; e o músculo gastrocnêmio. As larvas encistadas permanecem viáveis por muitos anos e são infectantes se ingeridas por um novo hospedeiro animal. A larva de *T. pseudospiralis* na musculatura não induz a formação de um cisto e gera menos inflamação do que a de *T. spiralis*.

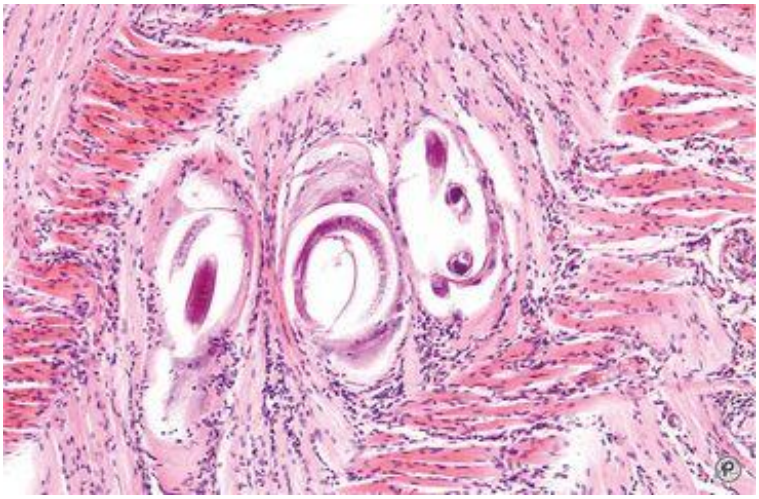


Figura 83-11 Larvas encistadas de *T. spiralis* em uma amostra de biópsia muscular.

(De Marler LM, et al: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Epidemiologia

A triquinose ocorre mundialmente em humanos e sua maior prevalência está associada ao consumo de produtos suínos. Além de sua transmissão a partir de suínos, muitos animais carnívoros e onívoros albergam o organismo e são potenciais fontes de infecção humana. Notavelmente, os ursos polares e morsas no Ártico são responsáveis por epidemias em populações humanas, especialmente com uma cepa de *T. spiralis* (*T*. *natira*), que é mais resistente ao congelamento do que as cepas de *T. spiralis* encontradas nos Estados Unidos e em outras regiões temperadas. Estima-se que mais de 1,5 milhão de americanos carreiam cistos vivos de *Trichinella* em sua musculatura e que 150 mil a 300 mil adquirem novas infecções anualmente.

Síndromes Clínicas

A triquinose é uma das poucas doenças parasitárias teciduais ainda encontradas nos Estados Unidos. Como em outras infecções parasitárias, a maioria dos pacientes apresenta sintomas mínimos ou ausentes. A apresentação clínica depende largamente da carga parasitária tecidual e da localização da larva em migração. Pacientes nos quais são depositadas não mais que 10 larvas por grama de tecido são normalmente assintomáticos; aqueles com pelo menos 100 larvas geralmente apresentam doença significativa; e aqueles com 1.000 a 5.000, apresentam um curso bastante sério que ocasionalmente termina em morte. Em infecções brandas com poucas larvas realizando migração, pacientes podem apresentar apenas uma síndrome semelhante a uma gripe, com febre leve e diarreia branda. Com uma migração larvar mais extensa, ocorrem febre persistente, distúrbios gastrintestinais, marcada eosinofilia, dor muscular e edema periorbital. Hemorragias “em estilhaço” subungueais, um achado comum, são provavelmente causadas por vasculite resultante de secreções tóxicas da larva em migração. Em infecções maciças, sintomas neurológicos severos, incluindo psicose, meningoencefalite e acidente cerebrovascular, podem ocorrer.

Pacientes que sobrevivem à migração, destruição muscular e encistamento da larva em infecções moderadas experimentam um declínio dos sintomas clínicos em 5 ou 6 semanas. A triquinose letal resulta quando miocardite, encefalite e pneumonite se combinam; o paciente morre 4 a 6 semanas após a infecção. A parada respiratória frequentemente segue uma invasão maciça e destruição muscular no diafragma.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico normalmente é estabelecido através de observações clínicas, especialmente quando uma epidemia pode ser rastreada ao consumo de carne de porco ou urso malcozida. O laboratório pode confirmar o diagnóstico se larvas encistadas forem detectadas na carne implicada no caso, ou em uma biópsia muscular do paciente. Uma marcada eosinofilia está caracteristicamente presente em pacientes com triquinose. Procedimentos sorológicos também estão disponíveis para confirmação do diagnóstico. Títulos significativos de anticorpos estão normalmente ausentes antes da terceira semana de doença, mas podem persistir por anos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da triquinose é principalmente sintomático, já que não existem bons agentes antiparasitários para larvas teciduais. O tratamento utilizando mebendazol contra vermes adultos presentes no intestino pode parar a produção de novas larvas. Esteroides, juntamente com tiabendazol ou mebendazol, são recomendados para os sintomas severos. Em infecções causadas por *T. pseudospiralis*, o albendazol pode ser eficaz. A educação com relação à transmissão da doença a partir da carne do suíno e urso é essencial, especialmente a recomendação de que a carne de suíno e urso sejam cozidas até que o seu interior esteja cinza. O cozimento com uso do microondas e a defumação ou secagem da carne não matam todas as larvas.

Leis regulamentando a alimentação de suínos com lixo ajudam a controlar a transmissão, como as regulamentações que controlam a procura de alimentos por ursos em latas de lixo e parques públicos. O congelamento da carne suína, como conduzido em abatedouros de inspeção federal, tem reduzido a transmissão. O congelamento rápido da carne suína a −40°C efetivamente destroi os organismos, como uma baixa temperatura de estocagem a −15°C por 20 dias ou mais.

Wuchereria bancrofti e *Brugia malayi*

Fisiologia e Estrutura

Devido as suas muitas similaridades, *W. bancrofti* e *B. malayi* serão discutidas juntas. A infecção humana se inicia pela introdução de larvas infectantes, presentes na saliva de um mosquito hematófago, em um ferimento de picada (Fig. 83-12). Várias espécies de mosquitos dos gêneros *Anopheles, Aedes* e *Culex* são vetores das **filaríases bancroftiana e malaiana**. A larva migra do local da picada para o sistema linfático, principalmente nos braços, pernas, ou virilha, onde o crescimento larvar para verme adulto ocorre. De 3 a 12 meses após o início da infecção, o verme adulto macho fecunda a fêmea, que então produz microfilárias larvais embainhadas, que encontram o caminho para a circulação. A presença de **microfilárias** no sangue é diagnóstica para a doença humana e é infectante para os mosquitos hematófagos. No mosquito, a larva se move através do estômago e músculos torácicos em estágios do desenvolvimento e finalmente migra para a probóscida. Neste local, elas se tornam larvas de terceiro estádio infectantes e são transmitidas através da picada do mosquito durante seu repasto sanguíneo. A forma adulta em humanos pode persistir por até 10 anos.

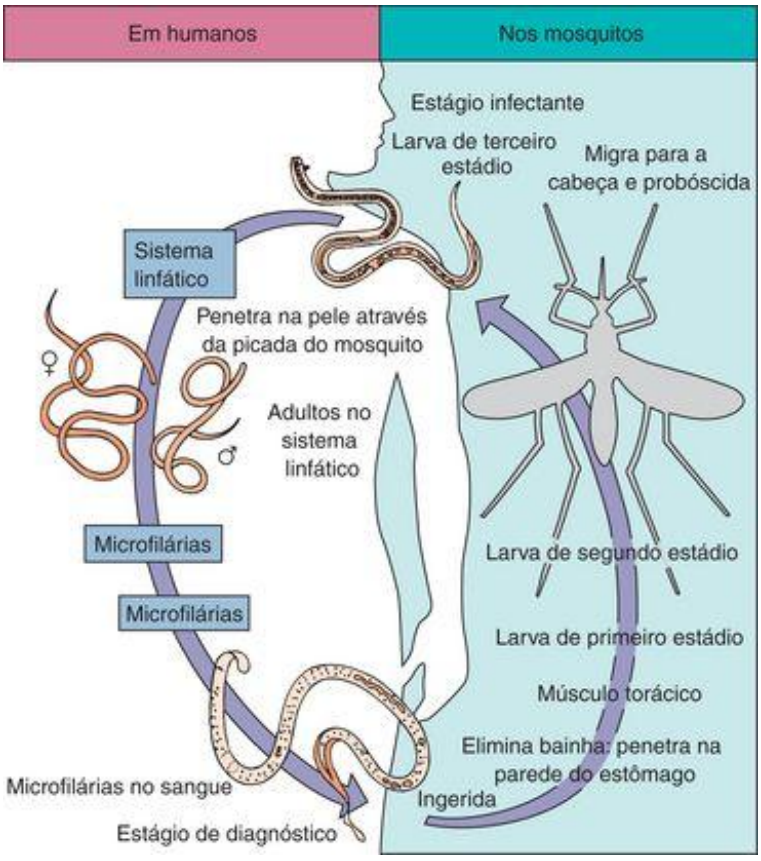


Figura 83-12 Ciclo de vida de *W. bancrofti*.

Epidemiologia

Infecções por *W. bancrofti* ocorrem em áreas tropicais e subtropicais e são endêmicas na África central, ao longo da costa Mediterrânea, e em muitas partes da Ásia, incluindo China, Coreia, Japão e Filipinas. Ela também está presente no Haiti, Trinidad, Suriname, Panamá, Costa Rica e Brasil. Nenhum reservatório animal foi identificado. A *B. malayi* é encontrada principalmente na Malásia, Índia, Tailândia, Vietnam, e partes da China, Coreia, Japão e muitas ilhas do Pacífico. São reconhecidos reservatórios animais como gatos e macacos.

Síndromes Clínicas

Em alguns pacientes, não existe nenhum sinal de doença, mesmo que algumas amostras de sangue demonstrem a presença de muitas microfilárias. Em outros pacientes, os sintomas agudos iniciais são febre, linfangite e linfadenite com calafrios, e ataques febris recorrentes. A apresentação aguda parece resultar da resposta inflamatória à presença de vermes juvenis sofrendo muda e de adultos mortos ou em processo de morte no interior de vasos linfáticos. À medida que a infecção progride, ocorre aumento dos linfonodos, possivelmente envolvendo muitas partes do corpo, incluindo as extremidades, o escroto e os testículos, com ocasional formação de abscesso. Isto resulta da obstrução física da linfa nos vasos, causada pela presença dos vermes adultos e da reação do hospedeiro no sistema linfático. Este processo pode ser complicado por infecções bacterianas recorrentes, que contribuem para o dano tecidual. O espessamento e a hipertrofia dos tecidos infectados pelos vermes podem levar ao aumento dos tecidos, especialmente as extremidades, progredindo para **elefantíase** filariana. A filaríase deste tipo é uma doença crônica, debilitante e desfigurante necessitando de diagnóstico e tratamento imediatos. Ocasionalmente, podem ser observadas ascites e efusões pleurais secundárias à ruptura de vasos linfáticos aumentados na cavidade peritoneal e pleural.

Diagnóstico Laboratorial

A eosinofilia está normalmente presente durante os episódios inflamatórios agudos; entretanto, a demonstração de microfilárias no sangue é necessária para o diagnóstico definitivo. Assim como na malária, as microfilárias podem ser demonstradas em esfregaços sanguíneos corados pelo Giemsa em infecções por *W. bancrofti* e *B. malayi* (Figs. 83-13 e 83-14). A concentração de amostras de sangue contendo anticoagulante e amostras de urina também são procedimentos válidos. Esfregaços da camada leuco-plaquetária concentram as células brancas e são úteis para a detecção de microfilárias. A presença de pequenas quantidades de microfilárias no sangue pode ser detectada por uma técnica de filtração através de membrana, na qual o sangue contendo anticoagulante é misturado à solução salina e filtrado em uma membrana de 5µm de porosidade. Após várias lavagens com água destilada ou solução salina, o filtro é examinado microscopicamente em busca de microfilárias vivas, ou este é seco, fixado e corado como o esfregaço delgado de sangue.

Figura 83-13 Coloração de Giemsa de microfilária embainhada de *W. bancrofti* em esfregaço sanguíneo; 245 a 295µm de comprimento × 7 a 10µm de largura.

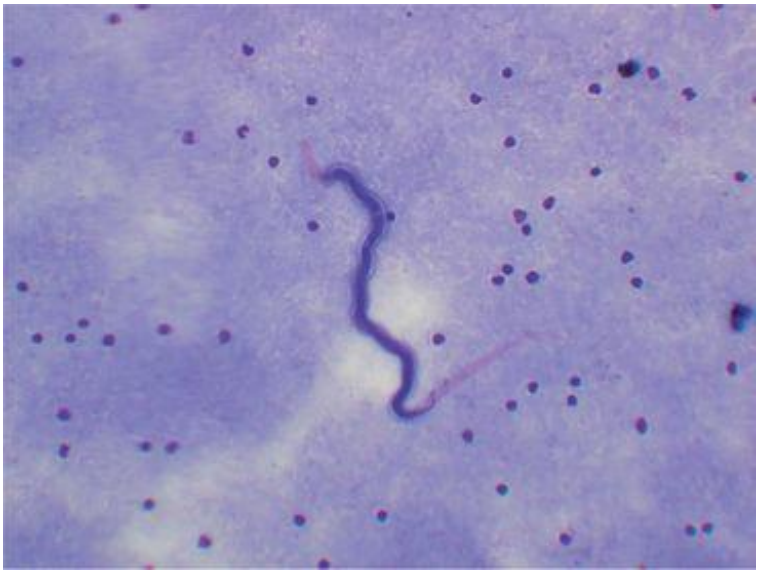


Figura 83-14 Coloração de Giemsa de microfilária embainhada de *B. malayi* em esfregaço sanguíneo; 180 a 230µm de comprimento × 5 a 6µm de largura.

Ambas *W. bancrofti* e *B. malayi* apresentam tanto periodicidade noturna como subperiódica na produção de microfilárias. A periodicidade noturna resulta em grandes números de microfilárias no sangue à noite, enquanto que na forma subperiódica, as microfilárias estão presentes a todo o momento, com um pico à tarde.

A *W. bancrofti*, assim como a *B. malayi* e *Loa loa*, apresenta uma bainha em sua microfilária. Isto pode ser o primeiro passo na identificação dos tipos específicos de filaríase. Uma posterior identificação se baseia no estudo de estruturas da cabeça e cauda (Fig. 83-15). Clinicamente, a identificação exata de espécie não é crítica, pois o tratamento para todas as infecções por filárias, exceto *Onchocerca volvulus*, é idêntico.

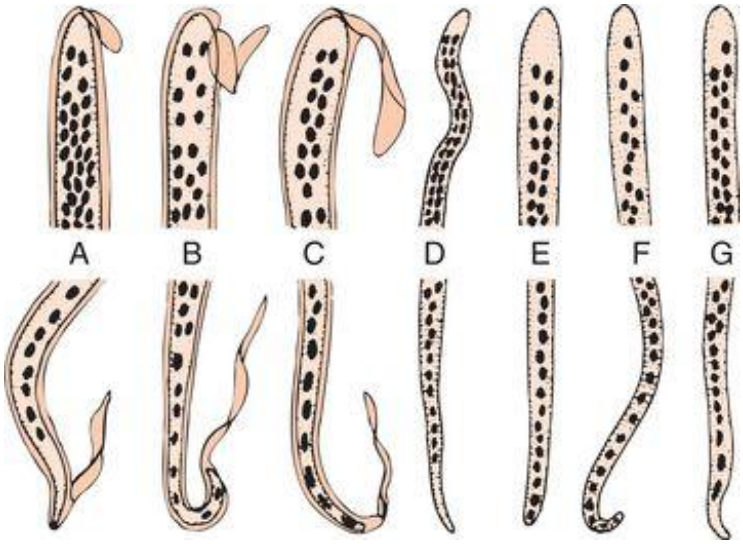


Figura 83-15 Diferenciação das microfilárias. A identificação das microfilárias é baseada na presença de uma bainha que recobre a larva, como na distribuição dos núcleos na região da cauda. **A**, *W. bancrofti*. **B**, *B. malayi*. **C**, *L. loa*. **D**, *O. volvulus*. **E**, *Mansonella perstans*. **F**, *Mansonella streptocerca*. **G**, *Mansonella ozzardi*.

O teste sorológico também está disponível em laboratórios de referência, de forma que o diagnóstico pode ser alcançado. A detecção de antígenos circulantes de filárias é promissora, mas não está largamente disponível como teste diagnóstico.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é de pequeno benefício na maioria dos casos crônicos de filaríase linfática. O fármaco de escolha para o tratamento de infecções por *W. bancrofti* e *B. malayi* é a dietilcarbamazina (DEC). A ivermectina e o albendazol também podem ser utilizados, frequentemente em combinação com a DEC. As terapias de suporte e cirúrgica para a obstrução linfática podem ser de alguma ajuda cosmética. Educação com relação às infecções por filárias, controle dos mosquitos, uso de roupas protetoras e repelentes para insetos, e o tratamento das infecções para evitar transmissões posteriores é essencial. O controle das infecções por *B. malayi* é mais difícil devido à presença da doença em reservatórios animais.

Loa loa

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida da *Loa loa* é semelhante ao ilustrado na Figura 83-12, exceto que o vetor é uma mosca hematófaga denominada *Chrysops*, a mosca da manga. Aproximadamente 6 meses após a infecção, se inicia a produção de microfilárias, que pode persistir por 17 anos ou mais. Vermes adultos podem migrar através dos tecidos subcutâneos, musculatura e na frente do globo ocular.

Epidemiologia

L. loa está confinada às florestas tropicais equatoriais da África e é endêmica na África tropical ocidental, na bacia do Congo e em partes da Nigéria. Macacos destas áreas funcionam como hospedeiros reservatórios no ciclo de vida, com as moscas da manga como vetores.

Síndromes Clínicas

Os sintomas normalmente não aparecem até 1 ano ou mais após a picada da mosca, pois os vermes atingem a fase adulta lentamente. Um dos primeiros sinais de infecção é o quadro denominado de **tumores fugitivos** ou **de Calabar**. Estes edemas são transitórios e normalmente aparecem nas extremidades, produzidos à medida que os vermes migram através dos tecidos subcutâneos, criando áreas grandes, nodulares e que são dolorosas e pruriginosas. Devido à observação de eosinofilia (50% a 70%), acredita-se que os tumores de Calabar resultem de reações alérgicas aos vermes ou aos seus produtos metabólicos.

Vermes adultos de *L. loa* também podem migrar sob a conjuntiva, produzindo irritação, congestão dolorosa, edema das pálpebras e visão debilitada. A presença de um verme no olho pode obviamente causar ansiedade no paciente. A infecção pode ser longa e em alguns casos assintomática.

Diagnóstico Laboratorial

A observação clínica dos tumores de Calabar ou da migração dos vermes no olho, combinada à eosinofilia, deve alertar o médico a considerar a infecção por *L. loa*. As microfilárias podem ser encontradas no sangue (Fig. 83-16). Contrastando com as outras filárias, *L. loa* está primariamente presente durante o período diurno. Testes sorológicos também podem ser úteis para a confirmação do diagnóstico, mas não estão prontamente disponíveis.

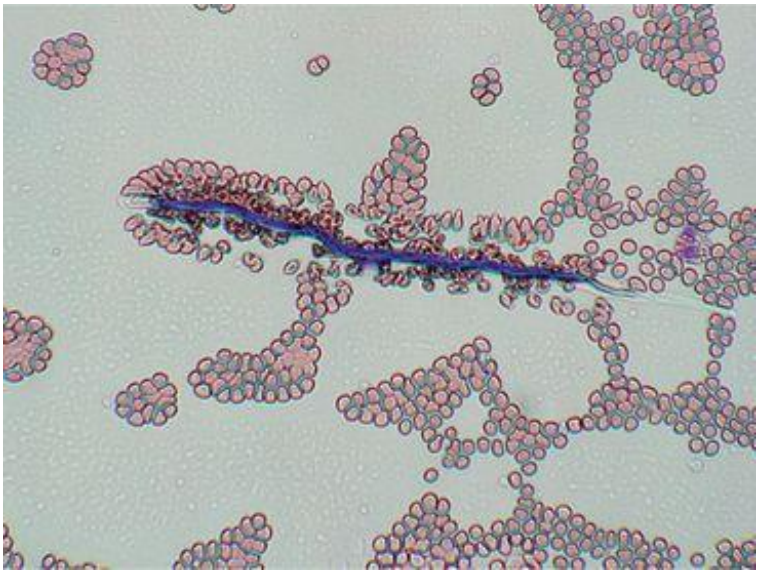


Figura 83-16 Coloração de Giemsa de microfilária embainhada de *L. loa* em esfregaço sanguíneo; 230 a 250µm de comprimento × 6 a 9µm de largura.

Tratamento, Prevenção e Controle

A dietilcarbamazina é eficaz contra vermes adultos e microfilárias; entretanto, a destruição dos parasitos pode induzir reações alérgicas severas, que requerem o tratamento com corticosteroides. Albendazol ou ivermectina (não aprovado pelo FDA) demonstraram ser eficazes na redução das cargas de microfilária. A remoção cirúrgica de vermes migrando pelo olho ou ponte nasal pode ser realizada através da imobilização do verme, com instilação de algumas gotas de cocaína a 10%. A educação acerca da infecção e seu vetor, especialmente para pessoas que irão adentrar uma área conhecidamente endêmica, é essencial. A proteção contra picadas de mosca através do uso de telas, roupas apropriadas e repelentes contra insetos, juntamente com o tratamento de casos, também é crítico na redução da incidência da infecção. Entretanto, a presença da doença em reservatórios animais (p. ex., macacos) limita a viabilidade do controle desta doença.

Espécies de *Mansonella*

Infecções por filárias causadas por espécies de *Mansonella* são menos importantes do que as anteriormente discutidas, mas os médicos devem estar atentos aos seus nomes, pois eles podem encontrar pacientes com estas infecções. As infecções causadas por estes organismos são geralmente assintomáticas, mas podem causar dermatite, linfadenite, hidrocele e, raramente, obstrução linfática resultando em elefantíase.

Todas as espécies de *Mansonella* produzem microfilárias não embainhadas no sangue e tecidos subcutâneos e todas são transmitidas por dípteros hematófagos (espécies de *Culicoides*) ou simulídeos (espécies de *Simulium*). A ivermectina é o tratamento de escolha para *M. ozzardi* e *M. streptocerca*, enquanto a DEC é utilizada para *M. perstans*. A identificação das espécies, se desejada, pode ser realizada através de esfregaços delgados de sangue, notando-se a estrutura da microfilária. Testes sorológicos também estão disponíveis.

A prevenção e o controle requerem medidas envolvendo repelentes para insetos, telas e outras precauções, assim como para outras doenças transmitidas por insetos.

Mansonella perstans

M. perstans ocorre principalmente nas partes da África tropical e na América Central e do Sul. Ela pode produzir reações alérgicas na pele, edema e tumores de Calabar semelhantes aos da infecção por *L. loa*. Hospedeiros reservatórios são chimpanzés e gorilas.

Mansonella ozzardi

M. ozzardi é encontrada principalmente na América Central e do Sul e nas Antilhas. Ela pode produzir edemas dos linfonodos e ocasional hidrocele. Não existem hospedeiros reservatórios conhecidos.

Mansonella streptocerca

M. streptocerca ocorre principalmente na África, especialmente na bacia do Congo. Ela pode produzir edema na pele e, raramente, uma forma de elefantíase. Macacos servem como hospedeiros reservatórios.

Onchocerca volvulus

Fisiologia e Estrutura

A infecção ocorre após a introdução de larvas de *O. volvulus* através da pele durante a picada e alimentação do vetor *Simulium* ou borrachudo (Fig. 83-17). As larvas migram da pele para o tecido subcutâneo e se desenvolvem em vermes adultos machos e fêmeas. Os adultos se tornam encapsulados em nódulos subcutâneos fibrosos, no interior dos quais permanecem viáveis por até 15 anos. A fêmea, após fecundação pelo macho, inicia a produção de até 2.000 microfilárias não embainhadas a cada dia. As microfilárias deixam o nódulo e migram para a pele, olhos e outros tecidos do corpo. Estas microfilárias não embainhadas presentes no tecido cutâneo são infectantes para os simulídeos.

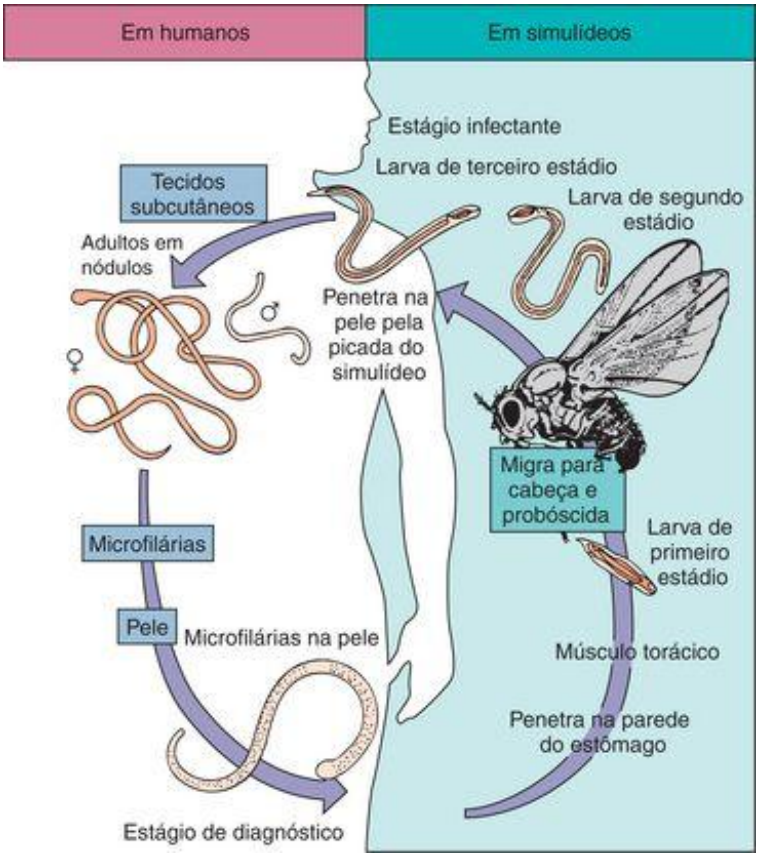


Figura 83-17 Ciclo de vida de *O. volvulus*.

Epidemiologia

A *O. volvulus* é endêmica em muitas partes da África, especialmente na bacia do Congo e na bacia do Rio Volta. No hemisfério ocidental, ocorre em muitos países da América Central e do Sul. A **oncocercíase** afeta mais de 18 milhões de pessoas ao redor do mundo e causa cegueira em aproximadamente 5% das pessoas infectadas.

Diversas espécies de borrachudos do gênero *Simulium* servem como vetores, mas nenhum é tão apropriadamente denominado como o principal vetor, o *Simulium damnosum* ("o borrachudo danoso"). Estes simulídeos, ou borrachudos, se reproduzem em riachos de fluxo rápido, o que torna o controle ou erradicação através do uso de inseticidas quase impossível, pois os químicos são rapidamente lavados para longe dos ovos e larvas.

Existe uma maior prevalência da infecção em homens do que em mulheres em áreas endêmicas, pois trabalham próximos ou nos riachos onde os simulídeos se reproduzem. Estudos em áreas endêmicas na África demonstraram que 50% dos homens são totalmente cegos antes de alcançarem 50 anos de idade. Isto é responsável pelo termo comum de **cegueira dos rios**, que é dado à doença oncocercíase. Este medo da cegueira criou um problema adicional em muitas partes da África, pois vilas inteiras deixam a área próxima a riachos e terras cultiváveis que poderiam produzir alimentos. As populações em migração então se encontram em áreas onde há falta de alimentos.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 83-4)

A oncocercíase clínica é caracterizada pela infecção envolvendo a pele, tecido subcutâneo, linfonodos e olhos. As manifestações clínicas da infecção se devem à reação inflamatória aguda e crônica aos antígenos liberados pela microfilária, à medida que estas migram pelos tecidos. O período de incubação entre a larva infectante e a formação do verme adulto é de vários meses a um ano. Os sinais iniciais da doença são febre, eosinofilia e urticária. À medida que os vermes sofrem maturação, copulam e produzem microfilárias, começam a aparecer nódulos subcutâneos em qualquer parte do corpo. Estes nódulos são mais perigosos quando estão presentes na cabeça e pescoço, pois as microfilárias podem migrar para os olhos e causar danos teciduais severos, levando à cegueira. Acredita-se que os mecanismos para o desenvolvimento da doença ocular sejam uma combinação da invasão direta pela microfilária e da deposição de complexos antígeno-anticorpo nos tecidos oculares. Os pacientes progridem de uma conjuntivite com fotofobia para ceratite puntiforme e esclerosante. A doença ocular interna com uveíte anterior, corioretinite e neurite óptica também pode ocorrer.

Caso Clínico 83-4 Oncocercíase

Imtiaz e colaboradores (Infect Med 22:187-189, 2005) descrevem o caso de um homem de 21 anos, que imigrou do Sudão para os Estados Unidos 1 ano antes de apresentar um exantema maculopapular que estava associado a intenso prurido. O exantema e o prurido estiveram presentes nos últimos 3 a 4 anos. No passado, o paciente foi submetido a diversos tratamentos para esta condição, incluindo corticosteroides, sem que houvesse alívio dos sintomas. O paciente negou qualquer sintoma sistêmico, mas reclamou de visão embaçada. Ao exame físico, sua pele estava de alguma forma espessada em diferentes partes do corpo e ele apresentava lesões maculopapulares dispersas e com aumento da pigmentação; algumas lesões apresentavam nódulos queloides, como enrugamento. Não existia linfadenopatia. Não havia nada digno de nota no restante de sua avaliação.

Na pele, o processo inflamatório resulta em perda da elasticidade e áreas de despigmentação, espessamento e atrofia. Uma grande variedade de condições de pele, incluindo prurido, hiperceratose e espessamento mixedematoso, está relacionada à presença deste parasito. Uma forma de elefantíase denominada de **virilha pendente** também ocorre quando os nódulos estão localizados próximos à genitália.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de oncocercíase é realizado através da demonstração de microfilárias em preparações de biópsias de pele a partir da região infraescapular ou glútea. Uma amostra é obtida através da elevação da pele com uma agulha e da raspagem da camada epidérmica com uma lâmina cortante. A amostra é incubada em salina por várias horas e é então inspecionada com o uso de um microscópio de dissecção, em busca de microfilárias não embainhadas (Fig. 83-18). Em pacientes com doença ocular, o organismo também pode ser visualizado na câmara anterior com a ajuda de uma lâmpada de fenda. Métodos sorológicos utilizando antígenos recombinantes têm sido úteis, assim como ensaios utilizando PCR para detectar DNA de oncocercas em amostras de biópsia de pele.

Figura 83-18 Microfilária não embainhada de *O. volvulus* corada por Giemsa; 300 a 315µm de comprimento × 5 a 9µm de largura.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção cirúrgica do nódulo encapsulado é frequentemente realizada para eliminar os vermes adultos e cessar a produção de microfilárias (Fig. 83-19). Além disso, o tratamento com ivermectina é recomendado. Uma única dose oral de ivermectina (150mg/kg) reduz grandemente o número de microfilárias na pele e olhos, portanto diminuindo a probabilidade do desenvolvimento de uma oncocercíase incapacitante. Em áreas endêmicas, a dose de ivermectina pode ser repetida a cada 6 a 12 meses para manter a supressão de microfilárias dérmicas e oculares. A supressão de microfilárias dérmicas reduz a transmissão desta doença, que é de caráter vetorial e, portanto, a quimioterapia em massa pode ser uma estratégia de sucesso para a prevenção da oncocercíase. No momento, não há evidência concreta de que *O. volvulus* esteja se tornando resistente à ivermectina; entretanto, toda vez que um único agente é utilizado para o controle de uma doença, com doses variadas e durante um longo período de tempo, é prudente estar atento para a possibilidade de desenvolvimento de resistência.

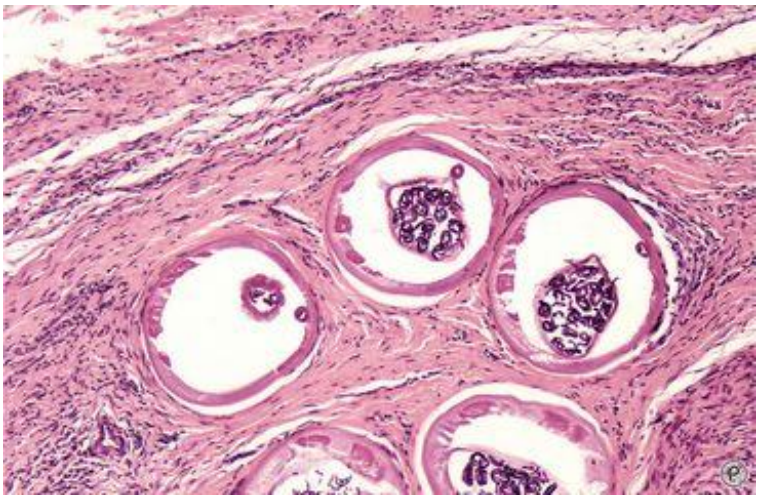


Figura 83-19 Corte transversal de uma fêmea adulta de *O. volvulus* em um nódulo seccionado demonstrando numerosas microfilárias.

A educação em relação à doença e sua transmissão é essencial. A proteção contra picadas de simulídeos através do uso de roupas protetoras, telas e repelentes contra insetos, assim como o diagnóstico e tratamento imediato de infecções para evitar futuras transmissões, são críticos.

Apesar do controle da reprodução dos simulídeos ser difícil devido os inseticidas serem lavados nos riachos, alguma forma de controle biológico deste vetor pode reduzir a reprodução dos simulídeos e a transmissão da doença.

Dirofilaria immitis

Diversas filárias transmitidas por mosquitos infectam cães, gatos, guaxinins e linces na natureza e ocasionalmente são encontradas em humanos. A *D. immitis*, o **verme do coração dos cães** é notória por formar um bolo letal de vermes no coração dos cães. Este nematoide também pode infectar humanos, produzindo um nódulo denominado de **lesão em moeda** no pulmão. Muito raramente estes vermes foram encontrados em corações humanos.

A lesão em moeda no pulmão representa um problema para o radiologista e o cirurgião, pois se assemelha a uma malignidade que requer remoção cirúrgica. Infelizmente, nenhum teste laboratorial pode proporcionar um diagnóstico preciso da **dirofilaríase**. A eosinofilia periférica é rara e as características radiográficas são insuficientes para permitir que o clínico distingua a dirofilaríase pulmonar de um carcinoma broncogênico. Testes sorológicos não são suficientemente sensíveis ou específicos para impedir a intervenção cirúrgica. Um diagnóstico definitivo é feito quando uma amostra proveniente de toracotomia é examinada microscopicamente, revelando os cortes transversais típicos do parasito.

A transmissão das infecções por filárias pode ser controlada através do controle dos mosquitos e o uso profilático de ivermectina em cães.

Dracunculus medinensis

O nome *D. medinensis* significa “pequeno dragão de Medina”. Esta é uma infecção por vermes bastante antiga e alguns estudiosos acreditam que esta seja a “serpente de fogo” notada por Moisés com os Israelitas no Mar Vermelho.

Fisiologia e Estrutura

O *D. medinensis* não é um filarídeo, mas sim um nematoide com capacidade de invadir tecidos e que possui importância médica em muitas partes do mundo. Os vermes possuem um ciclo de vida bastante simples, dependendo de água doce e microcrustáceos **(copépodes)** do gênero *Cyclops* (Fig. 83-20). Quando as espécies de *Cyclops* abrigando larvas de *D. medinensis* são ingeridas em água de beber, a infecção é iniciada com a liberação das larvas no estômago. Estas larvas penetram na parede do trato digestivo e migram para o espaço retroperitoneal, onde sofrem maturação. Estas larvas não são microfilárias e não aparecem no sangue ou outros tecidos. Vermes machos e fêmeas copulam no retroperitônio e a fêmea fecundada então migra para os tecidos subcutâneos, normalmente nas extremidades. Quando a fêmea fecundada se torna gravídica, uma vesícula é formada no tecido do hospedeiro, que irá ulcerar. Quando a úlcera estiver completamente formada, o verme projeta uma alça do útero através da úlcera. Em contato com a água, as formas larvares do verme são liberadas. As larvas são então ingeridas por espécies de *Cyclops* em água doce, onde são então infectantes para o humanos ou animais que irão ingerir a água contendo as espécies de *Cyclops*.

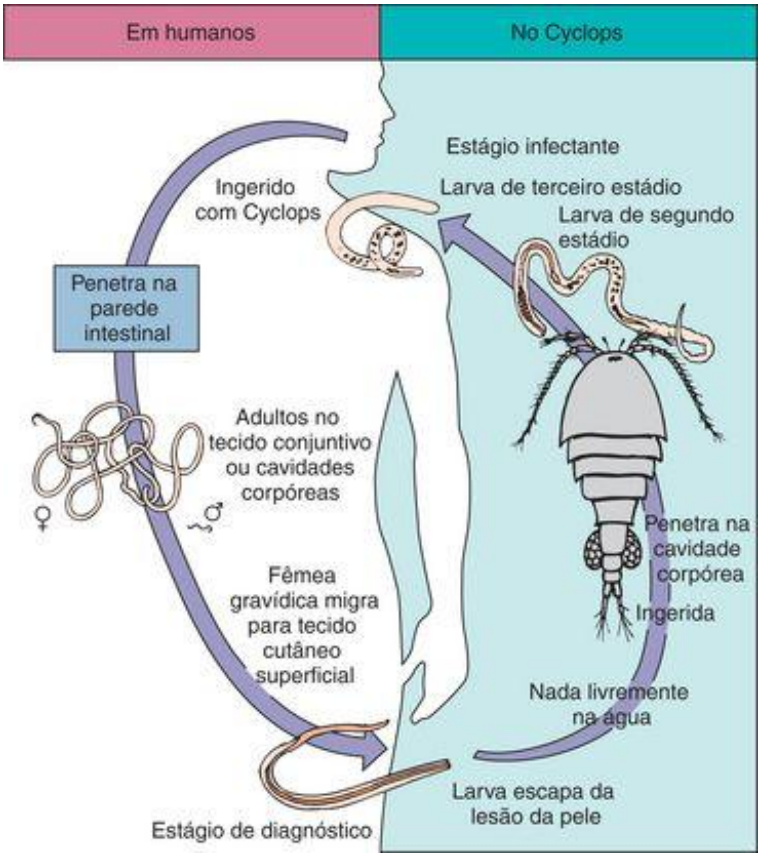


Figura 83-20 Ciclo de vida de *D. medinensis*.

Epidemiologia

D. medinensis ocorre em muitas partes da Ásia e África equatorial, infectando uma estimativa de 10 milhões de pessoas. Hospedeiros reservatórios incluem cães e muitos animais peludos, que entram em contato com água contendo espécies infectantes de *Cyclops*.

As infecções humanas normalmente resultam da ingestão de água dos denominados “poços em degraus” onde pessoas ficam em pé ou se banham, na qual a fêmea gravídica libera larvas, a partir das lesões nos braços, pernas, pés e tornozelos, para infectar espécies de *Cyclops* presentes na água. Águas de poços e paradas são ocasionalmente a fonte de infecção quando humanos as utilizam como água para ingestão.

Síndromes Clínicas

Os sintomas da infecção normalmente não aparecem até que a fêmea gravídica cria a vesícula e a úlcera na pele para a liberação das formas larvares. Isto ocorre normalmente um ano após a exposição inicial. No local da úlcera, existe eritema e dor, assim como uma reação alérgica ao verme. Também existe a possibilidade de formação de abscesso e infecção bacteriana secundária, levando à posterior destruição tecidual e reação inflamatória com dor intensa e descamação da pele.

Se o verme for rompido na tentativa de remoção, podem ocorrer reações tóxicas, e se o verme morrer e calcificar, pode haver formação de nódulos e alguma reação alérgica. Uma vez tendo liberado todas as larvas, a fêmea do verme pode se retrair para tecidos mais profundos, onde é gradualmente absorvida, ou ela pode simplesmente ser expelida do local.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é estabelecido através da observação da úlcera típica e da lavagem da úlcera com água para recuperar as larvas do verme quando são liberadas. Ocasionalmente, o exame por raios X revela vermes em várias partes do corpo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O método antigo de enrolar lentamente o verme em um palito ainda é utilizado em muitas áreas endêmicas (Fig. 83-21). A remoção cirúrgica também é um procedimento prático e confiável para o paciente. Não existe evidências de que qualquer agente quimioterápico tenha efeito direto no *D. medinensis*, apesar de vários benzimidazóis poderem ter efeito anti-inflamatório e poderem ou eliminar o verme, ou tornar a remoção cirúrgica fácil. O tratamento com mebendazol tem sido associado à migração aberrante dos vermes, tendo como resultado uma maior propensão dos vermes a emergirem em locais anatômicos diferentes dos membros inferiores.

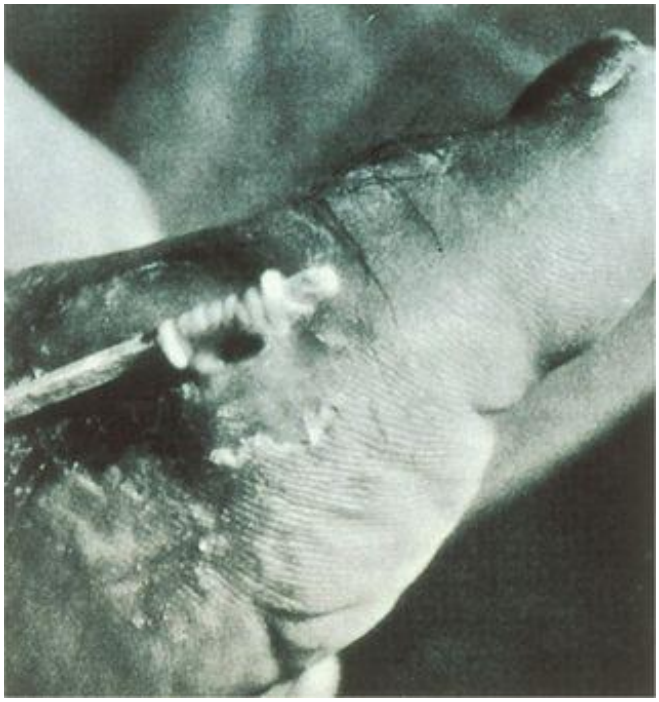


Figura 83-21 Remoção de um adulto de *D. medinensis* de uma úlcera exposta através do enrolamento do verme lentamente em volta de um palito.

(De Binford CH, Conner DH: Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases. Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1976.)

A educação acerca do ciclo de vida do verme e de se evitar água contaminada por espécies de *Cyclops* são críticas. Proteção da água para ingestão através da proibição de banhos e lavagem de roupas em poços é essencial. Pessoas que vivem ou viajam para áreas endêmicas devem ferver a água antes de ingeri-la. O tratamento da água com químicos e o uso de peixes que consomem espécies de *Cyclops* como alimento também ajuda a controlar a transmissão. O diagnóstico e tratamento imediato dos casos também limita posteriores transmissões. Estas medidas preventivas foram incorporadas em um esforço global em andamento para eliminar a dracunculíase, obtendo sucesso expressivo. A incidência anual mundial da doença foi reduzida em 98%, com completa erradicação em 7 países.

Estudo de Caso e Questões

Um menino de 10 anos foi trazido por seu pai para avaliação de dor abdominal espasmódica, náusea e diarreia branda que persistia por aproximadamente 2 semanas. No dia anterior à avaliação, o garoto relatou aos seus pais que havia eliminado um grande verme no vaso sanitário durante um movimento intestinal. Ele deu descarga antes que os pais pudessem visualizar o verme. O exame físico não apresentava nada digno de nota. O garoto não apresentava febre, tosse, ou exantema e não reclamava de prurido anal. Em seu histórico

de viagem não havia nada digno de nota. O exame de uma amostra de fezes revelou o diagnóstico.

1. Quais parasitos intestinais de humanos são nematoides?

1. Os nematoides, que podem infectar o trato intestinal de humanos, incluem Ascaris, Enterobius vermicularis, Trichuris trichiura, Ancylostoma duodenale, Necator americanus e Strongyloides stercoralis (Tabela 84.1)

2. Qual nematoide era o mais provável neste caso? Que organismos podem ser encontrados nas fezes?

2. O nematoide mais provável neste caso é *Ascaris lumbricoides*. Entre os nematoides intestinais, aqueles que podem aparecer como vermes nas fezes, incluem *E. vermicularis, A. lumbricoides* e *S. stercoralis* (forma larvária). Os ovos de *A. duodenale, N. americanus, T. trichiuris, E. vermicularis* e *A. lumbricoides* também podem ser encontrados nas fezes.

3. Qual foi a forma mais provável de aquisição deste parasito?

3. A via mais provável de aquisição é a via fecal-oral.

4. Este paciente estava sob risco de autoinfecção?

4. Pacientes infectados com *A. lumbricoides* não estão sob risco de autoinfecção.

5. Descreva o ciclo de vida deste parasito.

5. O ciclo de vida do *Ascaris* inclui eliminação dos ovos férteis nas fezes seguida por um período de maturação no solo. Esse último é necessário para o ovo tornar-se infectante. O estágio de infecção é então ingerido e a forma larvária é liberada e migra via corrente sanguínea até o fígado, coração e circulação pulmonar. Nos alvéolos pulmonares as larvas crescem, sofrem mudas e finalmente são tossidas e deglutidas, e retornam ao intestino delgado. Os vermes adultos machos e fêmeas maturam no intestino delgado, copulam e iniciam a produção de ovos.

6. Este parasito pode causar sintomas extraintestinais? Quais outros órgãos podem ser invadidos e o que pode estimular uma invasão extraintestinal?

6. O *Ascaris* pode produzir uma variedade de sintomas extraintestinais, variando de uma pneumonite à obstrução intestinal e perfuração. A migração dos vermes adultos ao trato biliar e fígado pode produzir severo dano tecidual e sintomatologia adjacente. A invasão extraintestinal pode ser estimulada em resposta à febre, por fármacos não indicados para tratar a ascaríase e por anestésicos.

Bibliografia

Barry M. The tail end of guinea worm - Global eradication without a drug or a vaccine. *N Engl J Med*. 2007;356:2561-2564.
Bruschi F, Murrell KD. New aspects of human trichinellosis: The impact of new Trichinella species. *Postgrad Med J*. 2002;78:15-22.
Cairncross S, Muller R, Zagaria N. Dracunculiasis (Guinea worm disease) and the eradication initiative. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:223-246.
Despommier D. Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:265-272.
Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology, 4th ed., Washington DC: ASM Press, 2001.
Keiser PB, Nutman TB. Strongyloides stercoralis in the immunocompromised population. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:208-217.
Gavin PJ, Kazacos KR, Shulman ST. Baylisascariasis. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:703-718.
Hotez PJ, et al. Hookworm infection. *N Engl J Med*. 2004;351:799-807.
Hotez PJ, et al. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*. 2007;357:1018-1027.
McPherson T, Nutman TB, et al. Filarial nematodes. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed., Washington DC: ASM Press, 2007.
Procop GW, Neafie RC, et al. Less common helminths. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Sheorey H, Biggs BA, Traynor P, et al. Nematodes. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Strickland GT. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Philadelphia: WB Saunders, 2000.

84 Trematódeos

Os trematódeos **(trematoda)** são membros do filo *Platyhelminthes* e são geralmente vermes achatados, carnudos e em forma de folha. Em geral, são equipados com duas ventosas musculares: um tipo oral, que é o início de um sistema digestivo incompleto, uma ventosa ventral, que é simplesmente um órgão de fixação. O sistema digestivo consiste de tubos laterais que não se unem para formar uma abertura excretória. A maioria dos trematódeos é **hermafrodita**, com ambos os órgãos reprodutivos femininos e masculinos em um único corpo. Os esquistossomos são a única exceção; eles possuem corpos cilíndricos (como os nematoides), e existem vermes machos e fêmeas.

Todos os trematódeos requerem hospedeiros intermediários para completar seu ciclo de vida e, sem exceção, os primeiros hospedeiros intermediários são moluscos (caramujos e mariscos). Nestes hospedeiros, o ciclo de reprodução assexuada é um tipo de propagação por célula germinativa. Alguns trematódeos necessitam de diversos segundos hospedeiros intermediários antes de alcançar o hospedeiro final e se desenvolverem em vermes adultos. Esta variação é discutida nas seções individuais sobre cada espécie.

Os ovos dos trematódeos são equipados com uma "tampa" no topo da casca. Denominada de **opérculo**, a tampa se abre para permitir que a forma larvar do verme encontre seu hospedeiro molusco apropriado. Os esquistossomos não possuem opérculo; ao contrário, a casca do ovo se parte para liberar a larva. Os trematódeos de importância médica estão resumidos na Tabela 84-1.

Tabela 84-1 Trematódeos de Importância Médica

Tabela 84-1. Trematódeos de Importância Médica

Trematódeo	Nome Comum	Hospedeiro Intermediário	Vetor Biológico	Hospedeiro Reservatório
Fasciolopsis buski	Trematódeo intestinal gigante	Caramujo	Plantas aquáticas (p. ex., castanha aquática)	Suínos, cães, coelhos, humanos
Fasciola hepatica	Trematódeo hepático de ovinos	Caramujo	Plantas aquáticas (p. ex., agrião)	Ovinos, bovinos, humanos
Opisthorchis (Clonorchis) sinensis	Trematódeo hepático chinês	Caramujo, peixes de água doce	Peixe cru	Cães, gatos, humanos
Paragonimus westermani	Trematódeo pulmonar	Caramujo, caranguejos e lagostim de água doce	Caranguejos e lagostins crus	Suínos, macacos, humanos
Espécies de Schistosoma	Trematódeo sanguíneo	Caramujo	Nenhum	Primatas, roedores, animais domésticos, gado, humanos

Fasciolopsis buski

Um grande número de trematódeos intestinais são reconhecidos, incluindo *F. buski, Heterophyes heterophyes, Metagonimus yokogawai, Echinostoma ilocanum* e *Gastrodiscoides hominis*. O *F. buski* é o maior, mais prevalente e mais importante trematódeo intestinal. Os outros trematódeos são semelhantes a *F. buski* em muitos aspectos (epidemiologia, síndromes clínicas, tratamento) e não serão discutidos posteriormente. É importante apenas que os médicos reconheçam a relação entre estes diferentes trematódeos.

Fisiologia e Estrutura

Este grande trematódeo intestinal apresenta um ciclo de vida típico (Fig. 84-1). Humanos ingerem o estádio larvário encistado **(metacercária)** quando descascam a vegetação aquática (p. ex., castanha aquática) com os dentes. As metacercárias são removidas da casca, deglutidas e se desenvolvem em trematódeos imaturos no duodeno. O trematódeo se fixa à mucosa do intestino delgado através de duas ventosas musculares, se desenvolve para a forma adulta e sofre autofecundação. A produção de ovos é iniciada 3 meses após a infecção inicial com metacercárias. Os ovos operculados são eliminados nas fezes para a água, onde o opérculo no topo da casca do ovo se abre, liberando um estádio larvário que nada livremente **(miracídio)**. Glândulas localizadas na porção pontiaguda anterior do miracídio produzem substâncias líticas que permitem a penetração nos tecidos moles dos caramujos. No tecido do molusco, o miracídio se desenvolve através de uma série de estádios, por meio de reprodução assexuada do tipo propagação por célula germinativa. O estádio final **(cercária)** no caramujo é uma forma capaz de nadar livremente que, após a liberação a partir do caramujo, se encista na vegetação aquática, tornando-se a metacercária, ou estágio infectante.

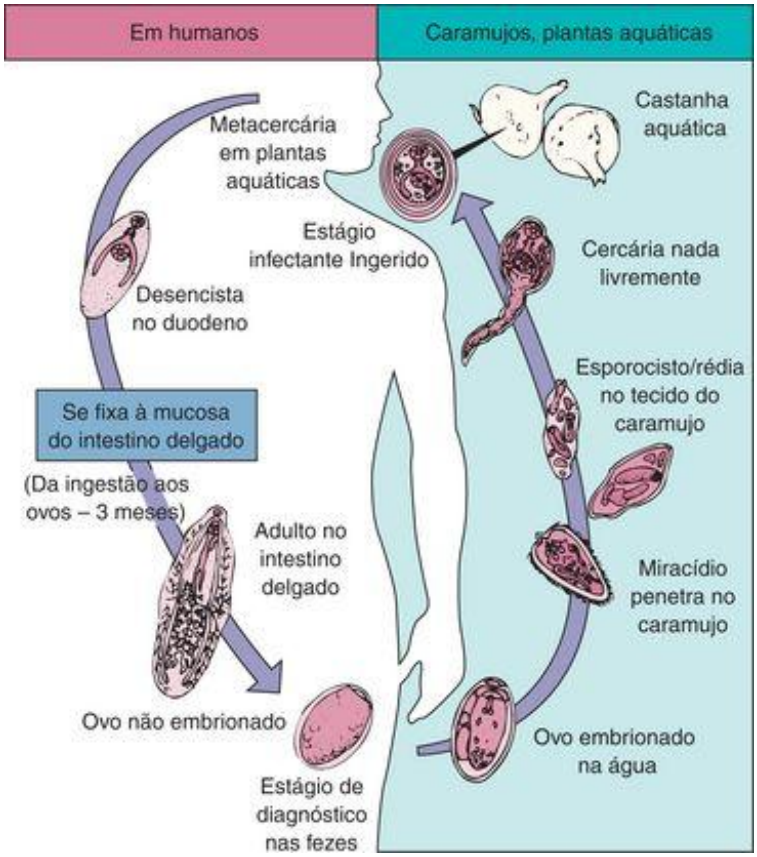


Figura 84-1 Ciclo de vida de *Fasciolopsis buski* (trematódeo intestinal gigante).

Epidemiologia

Devido ao fato de depender da distribuição de seu hospedeiro caramujo apropriado, *F. buski* é encontrado apenas na China, Vietnã, Tailândia, partes da Indonésia, Malásia e Índia. Suínos, cães e coelhos servem como hospedeiros reservatórios nestas áreas endêmicas.

Síndromes Clínicas

A sintomatologia da infecção por *F. buski* está diretamente relacionada à carga parasitária no intestino delgado. A fixação dos trematódeos no intestino delgado pode produzir inflamação, ulceração e hemorragia. Infecções severas produzem desconforto abdominal semelhante ao de uma úlcera duodenal, como diarreia. As fezes podem estar abundantes, é comum a ocorrência de uma síndrome de má-absorção semelhante à giardíase podendo ocorrer obstrução intestinal. Acentuada eosinofilia também está presente. Apesar de poder ocorrer a mote, ela é rara.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos grandes, dourados, corados pela bile e com opérculo em um dos polos (Fig. 84-2). As medidas e aparência dos ovos de *F. buski* são semelhantes ao do trematódeo hepático *F. hepatica*, e a diferenciação dos ovos destas espécies normalmente não é possível. Trematódeos adultos grandes (aproximadamente 1,5 a 3,0cm) podem raramente ser encontrados nas fezes ou espécimes coletados durante cirurgia.

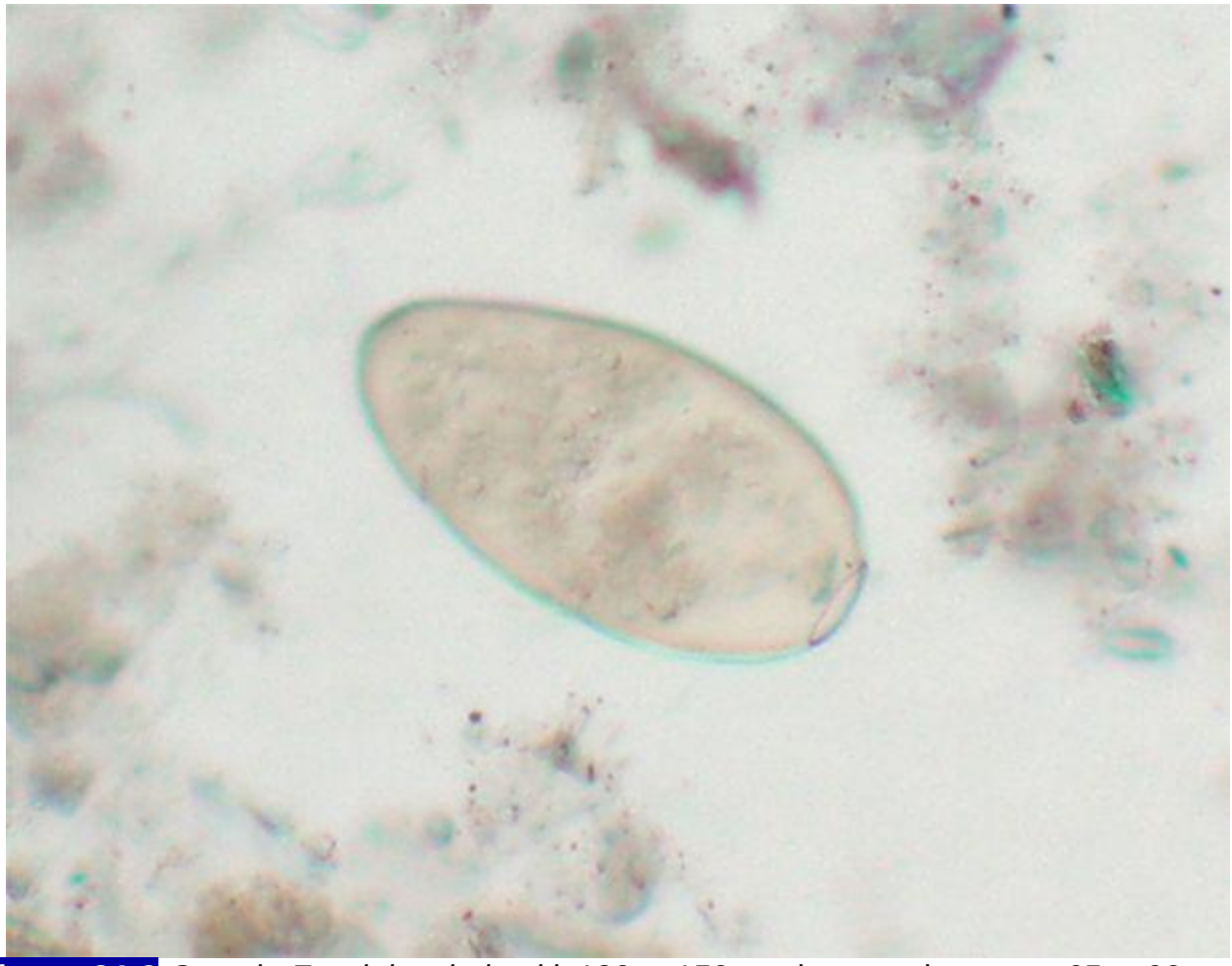


Figura 84-2 Ovo de *Fasciolopsis buski*, 130 a 150µm de comprimento e 65 a 90µm de largura, com um fino opérculo em uma extremidade.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel e a alternativa é a niclosamida. A educação acerca do consumo seguro de vegetação aquática infectante (particularmente castanhas aquáticas), saneamento adequado e controle das fezes humanas reduz a incidência da doença. Além disso, a população de caramujos pode ser eliminada com moluscicidas. Quando a infecção ocorrer, o tratamento deve ser iniciado prontamente para minimizar sua dispersão. O controle dos hospedeiros reservatórios também reduz a transmissão do verme.

Fasciola hepatica

Um grande número de trematódeos hepáticos são reconhecidos, incluindo *F. hepatica, Opisthorchis sinensis, O. felineus* e *Dicrocoelium dendriticum*. Apenas *F. hepatica* e *O. sinensis* são discutidos neste capítulo, apesar dos ovos dos outros trematódeos serem ocasionalmente detectados nas fezes dos pacientes em outras áreas geográficas.

Fisiologia e Estrutura

Comumente denominada de **trematódeo hepático da ovelha**, a *F. hepatica* é um parasito de herbívoros (particularmente ovelhas e bovinos) e humanos. Seu ciclo de vida (Fig. 84-3) é semelhante ao do *F. buski*, com a infecção humana sendo resultado da ingestão de agrião que alberga a metacercária encistada. As formas larvares do trematódeo então migram através da parede duodenal e pela cavidade peritoneal, penetram na cápsula hepática, atravessam o parênquima hepático e penetram nos ductos biliares para se tornarem vermes adultos. Aproximadamente 3 a 4 meses após a infecção inicial, os trematódeos adultos iniciam a produção de ovos operculados, que são idênticos aos de *F. buski*, quando visualizados em exames de fezes.

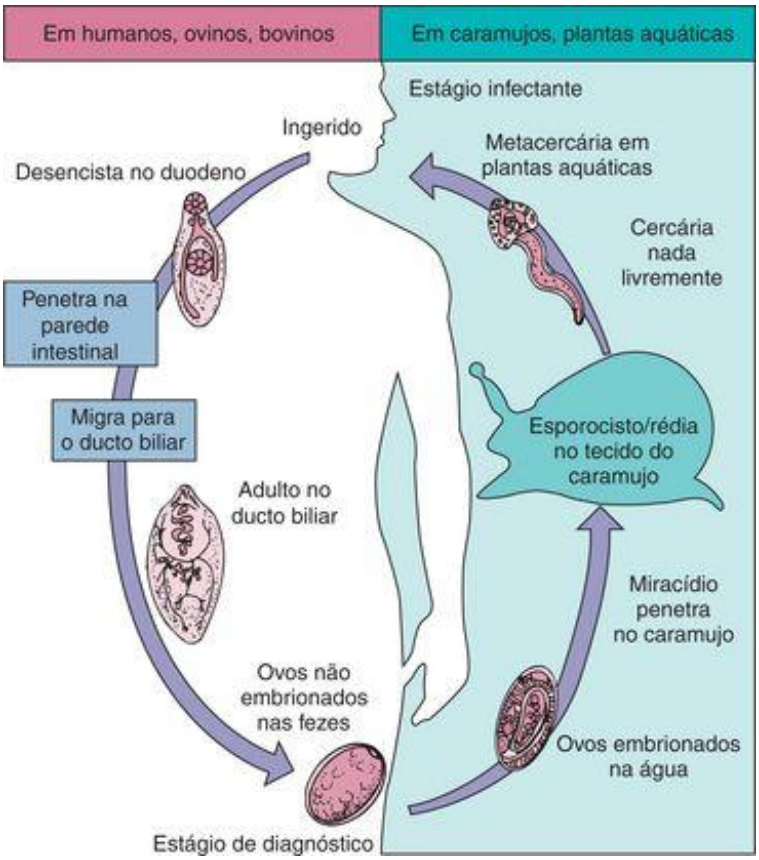


Figura 84-3 Ciclo de vida da *Fasciola hepatica* (trematódeo hepático do ovino).

Epidemiologia

Infecções foram relatadas mundialmente em áreas de criação de ovelhas, que possuem o caramujo apropriado como hospedeiro intermediário. Estas áreas incluem a antiga União Soviética, Japão, Egito e muitos países da América Latina. Epidemias estão diretamente relacionadas ao consumo humano de agrião contaminado em áreas onde herbívoros infectados estejam presentes. A infecção humana é rara nos Estados Unidos, mas vários casos bem documentados já foram relatados em viajantes provenientes de áreas endêmicas.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 84-1)

A migração da forma larvária do verme pelo fígado produz irritação deste tecido, sensibilidade e hepatomegalia. Dor no quadrante superior direito, calafrios, febre e marcada eosinofilia são comumente observados. À medida que os vermes assumem residência dos ductos biliares, sua irritação mecânica e secreções tóxicas produzem hepatite, hiperplasia do epitélio e obstrução biliar. Alguns vermes penetram em áreas erodidas nos ductos e invadem o fígado para produzir foco necrótico, referidas como **fígado podre**. Em infecções severas, infecção bacteriana secundária pode ocorrer e a cirrose portal é comum.

Caso Clínico 84-1 Fasciolíase

Echenique -Elizondo e colaboradores (JOP 6:36 39, 2005) descreveram o caso de pancreatite aguda devido ao trematódeo hepático *Fasciola hepatica*. O paciente era uma mulher de 31 anos que foi internada no hospital devido ao início súbito de náusea e dor na região abdominal superior. Fora isso, ela se encontrava saudável e forneceu uma história negativa de abuso de drogas, ingestão de álcool, doença de pedras na vesícula, trauma abdominal ou cirurgia. Ao exame físico, ela estava marcadamente sensível na região epigástrica e apresentava sons intestinais hipoativos. A bioquímica sérica demonstrou elevação das enzimas pancreáticas (amilase, lípase, fosfolipase A2 pancreática e elastase). A contagem de leucócitos estava elevada, assim como testes para fosfatase alcalina e bilirrubina. Nitrogênio ureico sanguíneo, creatinina, LDH e cálcio estavam com níveis séricos normais. Ultrassonografia e TC abdominal demonstraram aumento difuso do pâncreas e um colangiograma demonstrou dilatação e diversos defeitos de preenchimento nos ductos biliares comuns. Uma esfincterotomia endoscópica foi realizada, com a extração de numerosos trematódeos grandes que foram identificados como sendo *F. hepatica*. A paciente foi tratada com uma dose oral única de triclabendazol (10mg/kg). O acompanhamento demonstrou bioquímica sérica normal e nenhuma evidência da doença 2 anos após o procedimento.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos operculados indistinguíveis dos ovos de *F. buski*. A identificação exata é um problema terapêutico, pois o tratamento não é o mesmo para ambas as infecções. Enquanto *F. buski* responde favoravelmente ao praziquantel, a *F. hepatica* não. Quando a identificação exata é desejada, o exame de uma amostra da bile do paciente diferencia as espécies; se os ovos estiverem presentes na bile, eles são de *F. hepatica*, e não de *F. buski*, que está limitado ao intestino delgado. Os ovos podem aparecer nas amostras de fezes de pessoas que tenham ingerido fígado infectado de ovelha ou gado. A natureza artificial deste achado pode ser confirmada solicitandose que o paciente se abstenha de ingerir fígado e então se faça novo exame de fezes.

Tratamento, Prevenção e Controle

O contraste com a *F. buski*, a *F. hepatica* responde pobremente ao praziquantel. O tratamento com bitionol ou com o componente benzimidazol triclabendazol tem sido eficaz. Medidas preventivas são semelhantes àquelas para o controle de *F. buski*; pessoas que moram em áreas frequentadas por ovelhas ou bovinos devem especialmente evitar a ingestão de agrião e outras vegetações aquáticas não cozidas.

Opisthorchis sinensis

Fisiologia e Estrutura

O *O. sinensis*, também citado como *Clonorchis sinensis* na literatura antiga, é comumente denominado de **trematódeo hepático chinês**. A Figura 84-4 ilustra seu ciclo de vida, que envolve dois hospedeiros intermediários. Este trematódeo difere dos outros ciclos de trematódeos, pois os ovos são ingeridos pelo caramujo, e a reprodução então inicia nos tecidos moles do molusco. O *O. sinensis* também necessita de um segundo hospedeiro intermediário, peixes de água doce, onde a cercária se encista e se desenvolve em metacercária infectante. Quando o peixe de água doce, albergando a metacercária, é ingerido cru, os trematódeos se desenvolvem primeiramente no duodeno e então migram para os ductos biliares, onde se tornam adultos. Os trematódeos adultos sofrem autofecundação e iniciam a produção de ovos. O *O. sinensis* pode sobreviver no trato biliar por até 50 anos, produzindo aproximadamente 2.000 ovos por dia. Estes ovos são eliminados nas fezes e são novamente ingeridos por caramujos, reiniciando o ciclo.

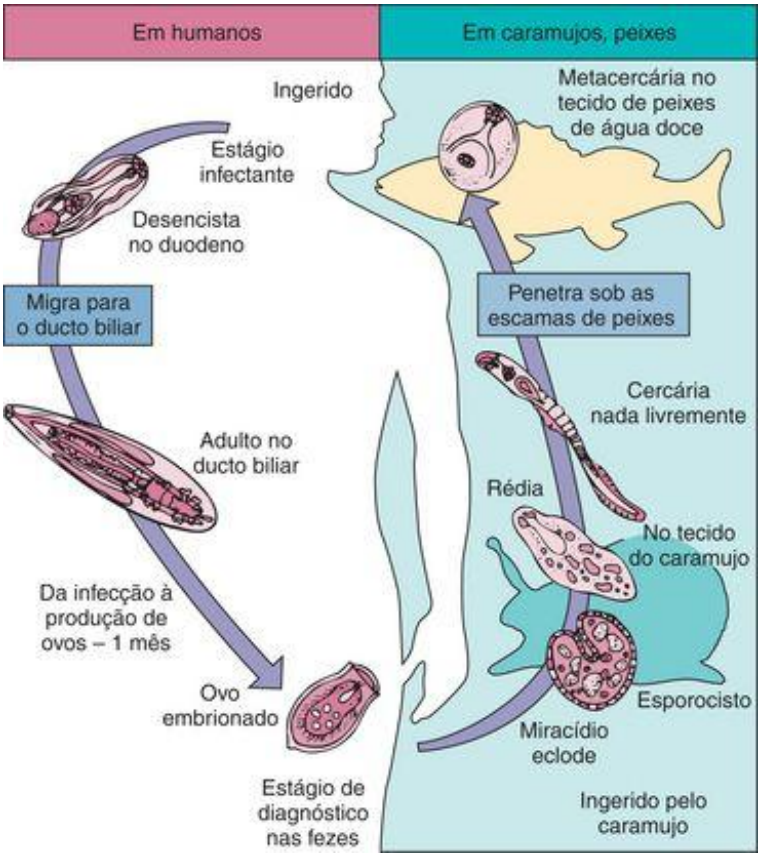


Figura 84-4 Ciclo de vida de *Opisthorchis sinensis* (trematódeo hepático chinês).

Epidemiologia

O *O. sinensis* é encontrado na China, Japão, Coreia e Vietnã, onde se estima que infecte aproximadamente 19 milhões de pessoas. É uma das infecções mais frequentes entre refugiados asiáticos e pode ser atribuída ao consumo de peixes de água doce crus, em conserva, defumados, ou secos, que albergam as metacercárias viáveis. Cães, gatos e mamíferos que se alimentam de peixe também podem servir como hospedeiros reservatórios.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 84-2)

A infecção em humanos é normalmente branda e assintomática. Infecções severas com muitos trematódeos nos ductos biliares produzem febre, diarreia, dor epigástrica, hepatomegalia, anorexia e ocasionalmente, icterícia. Pode ocorrer obstrução biliar e a infecção crônica pode resultar em adenocarcinoma dos ductos biliares. A invasão da vesícula biliar pode produzir colecistite, colelitíase e insuficiência hepática, como abscessos hepáticos.

Caso Clínico 84-2 Colangite devido a *Clonorchis (Opisthorchis) sinensis*

Stunell e colaboradores (Eur Radiol 16:2612-2614, 2006) descreveram uma mulher asiática de 34 anos que se apresentou a um departamento de emergência local, com uma história de dias de dor abdominal no quadrante superior direito, febre e rigores. Ela havia emigrado da Ásia para a Irlanda 18 meses antes e forneceu uma história de dor abdominal superior intermitente ocorrendo em um período de 3 anos. Ao exame, ela parecia agudamente doente e se queixava ao toque. Estava febril, taquicárdica e apresentava icterícia esclerótica branda. Seu abdome estava macio, com renitência no quadrante superior direito. Estudos hematológicos e bioquímicos de rotina revelaram uma marcada leucocitose e testes de função hepática obstrutivos. Uma TC do abdome, realçada por contraste, demonstrou evidência de múltiplas opacidades ovoides no interior de ductos biliares intra-hepáticos dilatados, localizados no lobo direito do fígado. O restante do parênquima hepático aparentava estar normal. Após estabilização da paciente, uma colangiopancreatografia endoscópica retrógrada (CPER) foi realizada para descompressão biliar. A CPER demonstrou dilatação dos ductos biliares intra e extra hepáticos, com múltiplos defeitos de preenchimento e constrições. Uma amostra de fezes enviada para análise confirmou a presença de ovos e adultos de *Clonorchis* (*Opisthorchis*) *sinensis*. Houve recuperação da paciente com manejo médico (praziquantel) e amostras de fezes negativas estavam presentes 30 dias após o tratamento. Este caso, como o caso 84-1, demonstra as várias complicações da infecção por trematódeo hepático. Notavelmente, o praziquantel é o fármaco de escolha para o tratamento do trematódeo hepático oriental (*Clonorchis sinensis*), enquanto o triclabendazol é utilizado para o tratamento de fasciolíase, enfatizando a importância de uma história epidemiológica e identificação do trematódeo.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é feito por meio da recuperação de ovos distintos nas fezes. O ovo mede 27 a 35µm × 12 a 19µm e são caracterizados por um distinto opérculo com "ombros" proeminentes e uma pequena protuberância no polo posterior (abopercular) (Fig. 84-5). Em infecções brandas, podem ser necessários exames repetidos das fezes ou aspirados duodenais. Em infecções sintomáticas agudas, normalmente existe eosinofilia e uma elevação dos níveis séricos de fosfatase alcalina. Procedimentos de imagem radiográfica podem detectar anormalidades do trato biliar.

Figura 84-5 Ovo de *Opisthorchis sinensis*. Estes ovos ovoides são pequenos (27 a 35µm de comprimento e 12 a 19µm de largura) e possuem uma casca espessa de coloração marrom-amarelada, com um opérculo proeminente em uma das extremidade e uma pequena protuberância na outra.

(De Marler LM, et al: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel. A prevenção da infecção é atingida através da não ingestão de peixes crus e pela implementação de políticas de saneamento adequadas, incluindo o descarte de fezes humanas, caninas e felinas em locais adequadamente protegidos, de forma que elas não possam contaminar abastecimentos de água que contenham os hospedeiros intermediários moluscos e peixes.

Paragonimus westermani

Fisiologia e Estrutura

P. westermani, comumente denominado de **trematódeo pulmonar**, é uma das diversas espécies de *Paragonimus* que infectam humanos e muitos outros animais. A Figura 84-6 demonstra o ciclo de vida familiar de um trematódeo, que vai de ovo a caramujo e à metacercária infectante. O estágio infectante ocorre em um segundo hospedeiro intermediário: os músculos e guelras de caranguejos e lagostins de água doce. Em humanos que ingerem carne infectada, a forma larvária do verme eclode no estômago e segue uma extensa migração pela parede intestinal, em direção à cavidade abdominal, e atravessando o diafragma, e finalmente chega à cavidade pleural. Os vermes adultos residem nos pulmões e produzem ovos que são liberados de bronquíolos rompidos e aparecem no escarro ou, quando deglutidos, nas fezes.

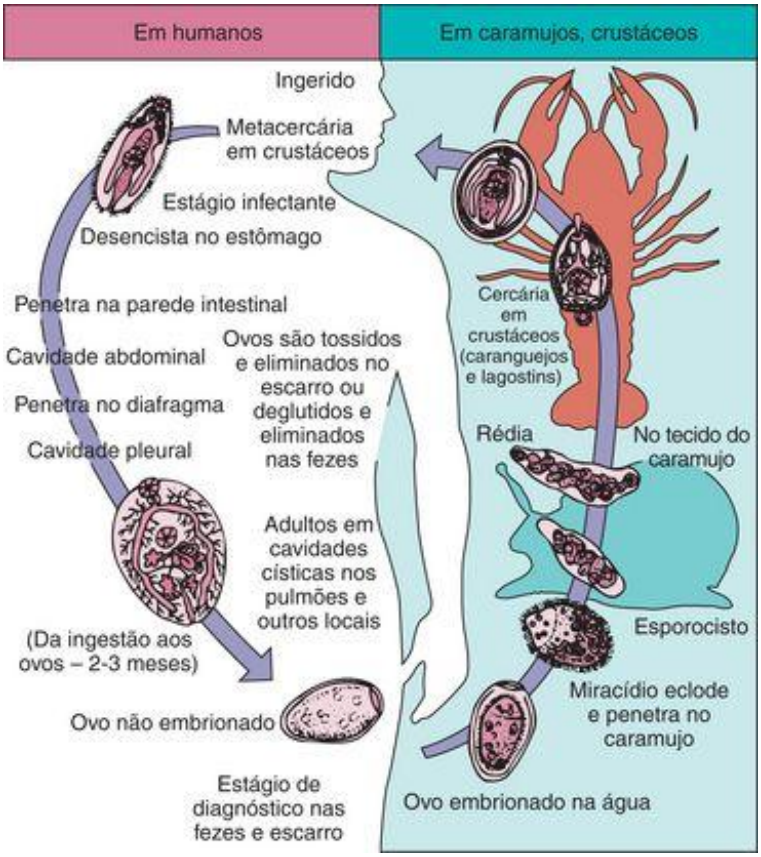


Figura 84-6 Ciclo de vida do *Paragonimus westermani* (trematódeo pulmonar oriental).

Epidemiologia

A paragonimíase ocorre em muitos países na Ásia, África, Índia e América Latina. Ela pode ser encontrada em refugiados do Sudeste da Ásia. Sua prevalência está diretamente relacionada ao consumo de caranguejos e lagostins de água doce crus. Estima-se que aproximadamente 3 milhões de pessoas estejam infectadas com este trematódeo pulmonar. Em torno de 1% de todos os imigrantes indochineses para os Estados Unidos estão infectados por *P. westermani*. Uma grande variedade de animais que se alimentam na margem de coleções de água doce (p. ex., javalis, suínos e macacos) serve como hospedeiros reservatórios e algumas infecções humanas resultam da ingestão de carne, destes hospedeiros reservatórios, contendo formas larvárias do verme em migração. As infecções humanas endêmicas nos Estados Unidos são usualmente causadas por uma espécie relacionada, *P. kellicotti*, encontrada em caranguejos e lagostins nas águas orientais e do meio-oeste.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 84-3)

As manifestações clínicas da paragonimíase podem resultar da migração de larvas através dos tecidos ou de adultos estabelecidos nos pulmões ou em outros locais ectópicos. O início da doença coincide com a migração larvar e está associada à febre, calafrios e alta eosinofilia. Os trematódeos adultos nos pulmões primeiramente produzem uma reação inflamatória que resulta em febre, tosse e aumento do escarro. À medida que a destruição do tecido pulmonar progride, ocorre cavitação ao redor dos vermes, o escarro se torna tingido de sangue e escuro com ovos (denominado de *escarro enferrujado*) e os pacientes apresentam dor torácica severa. A cavidade resultante pode se tornar secundariamente infectada por bactérias. Dispneia, bronquite crônica, bronquiectasia e efusão pleural podem ser observadas. Infecções crônicas levam à fibrose no tecido pulmonar. A localização das larvas, adultos e ovos em locais ectópicos pode produzir sintomas clínicos severos dependendo do local envolvido. A migração de larvas de vermes pode resultar na invasão da medula espinhal e cérebro, produzindo doença neurológica severa (problemas visuais, fraqueza motora e convulsões), citada como **paragonimíase cerebral**. A migração e infecção também podem ocorrer em locais subcutâneos, na cavidade abdominal e no fígado.

Caso Clínico 84-3 Paragonimíase

Singh e colaboradores (Indian J Med Microbiol 23:131-134, 2005) descrevem o caso de paragonimíase pleuropulmonar imitando tuberculose pulmonar. O paciente um homem de 21 anos que foi internado no hospital devido à dispneia progressiva, com um histórico de um mês de cefaleia, febre, tosse com rara hemoptise, fadiga, dor pleurítica, anorexia e perda de peso. Ele possuía um histórico de terapia antituberculose por 6 meses sem melhora clínica. Dois meses antes da admissão, após ingerir três caranguejos crus, ele apresentou episódio de diarreia aquosa por 3 dias. No momento da admissão hospitalar, o paciente estava caquético e afebril. Havia macicez bilateral à percussão e sons respiratórios ausentes nos dois terços inferiores do tórax. Ele estava anêmico e apresentava baqueteamento sem linfadenopatia, cianose ou icterícia. Uma radiografia de tórax demonstrou efusões pleurais bilaterais que também foram confirmadas pela TC. A toracocentese guiada por ultrassonografia do pulmão direito recuperou cerca de 200mL de fluido amarelado. O fluido estava exsudativo e continha 2.700 leucócitos por mL, 91% dos quais eram eosinófilos. A coloração de Gram do fluido foi negativa, como a cultura para bactérias e fungos. Esfregaços delgados do escarro revelaram ovos amarelados operculados consistentes com infecção por *Paragonimus westermani*. O paciente foi tratado com um curso de 3 dias de praziquantel e respondeu bem. Notavelmente, a efusão pleural do lado direito não retornou após a toracocentese e o tratamento com praziquantel. Este caso enfatiza a importância da realização de um diagnóstico etiológico de um processo pleuropulmonar, de forma a diferenciar paragonimíase de tuberculose em regiões onde ambas são doenças infecciosas endêmicas.

Diagnóstico Laboratorial

O exame de escarro e fezes revela ovos marrons-dourados e operculados (Fig. 84-7). Efusões pleurais, quando presentes, devem ser examinadas em busca de ovos. Filmes de raios X torácicos frequentemente demonstram infiltrados, cistos nodulares e efusão pleural. É comum a presença de marcada eosinofilia. Procedimentos sorológicos estão disponíveis em laboratórios de referência e podem ser úteis, particularmente em casos com envolvimento extrapulmonar (p. ex., sistema nervoso central).

Figura 84-7 Ovo de *Paragonimus westermani*. Estes ovos grandes (80 a 120µm de comprimento e 45 a 70µm de largura) e ovoides possuem uma casca espessa de cor marrom-amarelada e um opérculo distinto.

(De Marler LM, et al: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o triclabendazol; o praziquantel é uma alternativa. A educação acerca do consumo de caranguejos e lagostins de água doce crus, assim como a carne de animais encontrados em áreas endêmicas, é crítica. A conserva e o embebimento em vinho de caranguejos e lagostins não matam o estágio infectante de metacercária. Saneamento adequado e controle do descarte de fezes humanas são essenciais.

Esquistossomos

A esquistossomíase é a principal infecção parasitária de áreas tropicais, com cerca de 200 milhões de infecções ao redor do mundo. Os três esquistossomos mais frequentemente associados à doença humana são *Schistosoma mansoni, S. japonicum* e *S. haematobium*. Coletivamente produzem a doença denominada de **esquistossomíase**, também conhecida como **bilharzíase ou febre do caramujo**. Como discutido anteriormente, os esquistossomos diferem dos outros trematódeos: são machos e fêmeas ao invés de hermafroditas, e seus ovos não possuem opérculo. Também são parasitos intravasculares obrigatórios e não são encontrados em cavidades, ductos e outros tecidos. As formas infectantes são **cercárias** que penetram ativamente na pele após serem liberadas do caramujo e estas diferem das dos outros trematódeos, pois não são ingeridas na vegetação, em peixes, ou crustáceos.

A Figura 84-8 ilustra o ciclo de vida dos diferentes esquistossomos. A infecção é iniciada por cercárias ciliadas, que nadam livremente na água doce e penetram na pele intacta, entram na circulação e se desenvolvem na circulação porta intra-hepática (*S. mansoni* e *S. japonicum*) ou nos plexos e veias vesicais, prostáticas, retais e uterinas (*S. haematobium*). A fêmea possui um corpo alongado, fino e cilíndrico, enquanto o macho, que é menor e aparenta ser cilíndrico, é na verdade achatado. A aparência cilíndrica deriva da dobra das laterais do corpo para produzir um sulco, o canal ginecóforo, no qual a fêmea reside para fecundação. Ambos os sexos apresentam ventosas orais e ventrais e um sistema digestivo incompleto, o que é típico de um trematódeo.

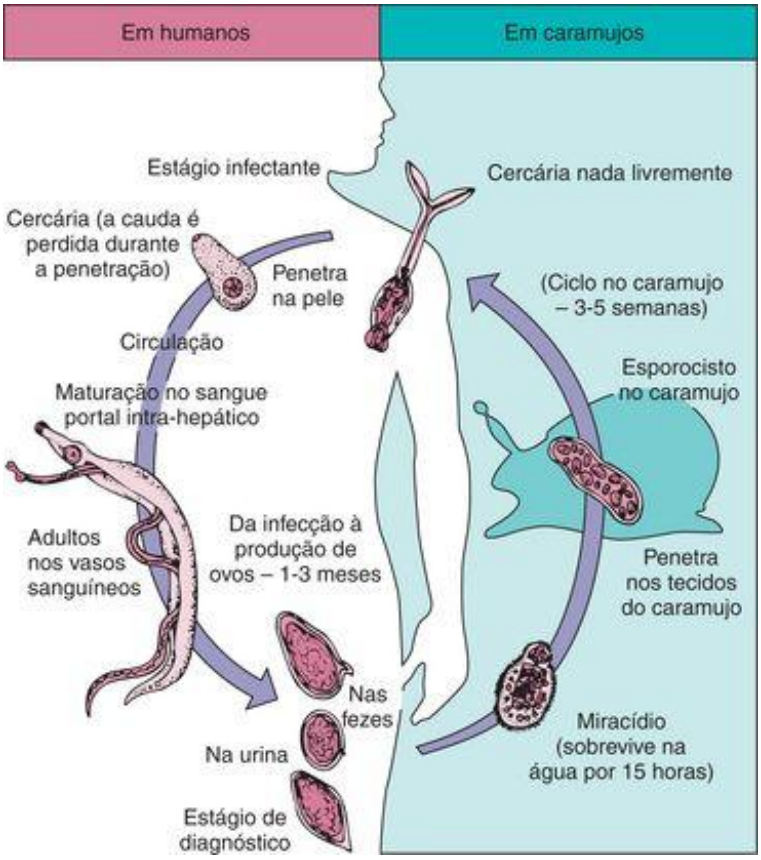


Figura 84-8 Ciclo de vida dos esquistossomos.

À medida que o verme se desenvolve na circulação portal, ele elabora uma notável defesa contra a resistência do hospedeiro. Eles se recobrem com substâncias que o hospedeiro reconhece como sendo próprias; consequentemente, existe pequena resposta do hospedeiro direcionada contra a presença dos vermes nos vasos sanguíneos. Este mecanismo protetor é responsável pelas infecções crônicas que podem durar de 20 a 30 anos ou mais.

Após se desenvolver na veia porta, os machos e fêmeas adultos formam casais e migram para sua localização final, onde a fecundação e a produção de ovos é iniciada. *S. mansoni* e *S. japonicum* são encontrados nas veias mesentéricas e produzem a esquistossomíase intestinal; *S. haematobium* ocorre nas veias ao redor da bexiga urinária e causa a esquistossomíase vesicular. Ao atingir as vênulas submucosas de suas respectivas localizações, os vermes iniciam a oviposição, que pode continuar a uma taxa de 300 a 3.000 ovos diariamente, por 4 a 35 anos. Apesar da resposta inflamatória do hospedeiro direcionada ao verme adulto ser mínima, os ovos elicitam uma reação inflamatória intensa, com infiltrados celulares mononucleares e polimorfonucleares, e a formação de microabscessos. Além disso, a larva no interior do ovo produz enzimas que auxiliam na destruição tecidual, e permitem que os ovos atravessem a mucosa e cheguem ao lúmen do intestino e bexiga, onde são eliminados para o meio ambiente nas fezes e urina, respectivamente.

Os ovos eclodem rapidamente ao atingirem água doce e liberam **miracídios** móveis. Os miracídios então invadem o hospedeiro caramujo apropriado, onde se desenvolvem em milhares de cercárias infectantes. As cercárias com capacidade de nadar livremente são liberadas na água, onde são imediatamente infectantes para humanos e outros mamíferos.

A infecção é semelhante em todas as três espécies de esquistossomos humanos, na qual a doença resulta primariamente da resposta imune do hospedeiro aos ovos. Os primeiros sinais e sintomas se devem à penetração da cercária na pele. A hipersensibilidade imediata e tardia aos antígenos do parasito resulta em um exantema papular cutâneo intensamente pruriginoso.

O início da oviposição resulta em um complexo de sintomas denominado de **síndrome de Katayama**, que é marcado por febre, calafrios, tosse, urticária, artralgias, linfadenopatia, esplenomegalia e dor abdominal. Esta síndrome é tipicamente encontrada 1 a 2 meses após a primeira exposição e pode persistir por 3 meses ou mais. Acredita-se que resulte da liberação maciça de antígenos parasitários, com subsequente formação de imunocomplexos. Anormalidades laboratoriais associadas incluem leucocitose, eosinofilia e gamopatia policlonal.

A fase mais crônica e significativa da esquistossomíase se deve à presença de ovos em diversos tecidos e à resultante formação de granulomas e fibrose. Os ovos retidos induzem extensa inflamação e cicatrização, que o significado clínico está diretamente relacionado à localização e número de ovos.

Devido a diferenças em alguns aspectos da doença e epidemiologia, estes vermes são discutidos como espécies separadas.

Schistosoma mansoni

Fisiologia e Estrutura

O *S. mansoni* normalmente reside nos pequenos ramos da veia mesentérica inferior próximo ao cólon inferior. As espécies de *Schistosoma* podem ser diferenciadas pela morfologia característica de seus ovos (Figs. 84-9 a 84-11). Os ovos de *S. mansoni* são ovais, possuem um espículo lateral afiado e medem 115 a 175µm × 45 a 70µm (Fig. 84-9).

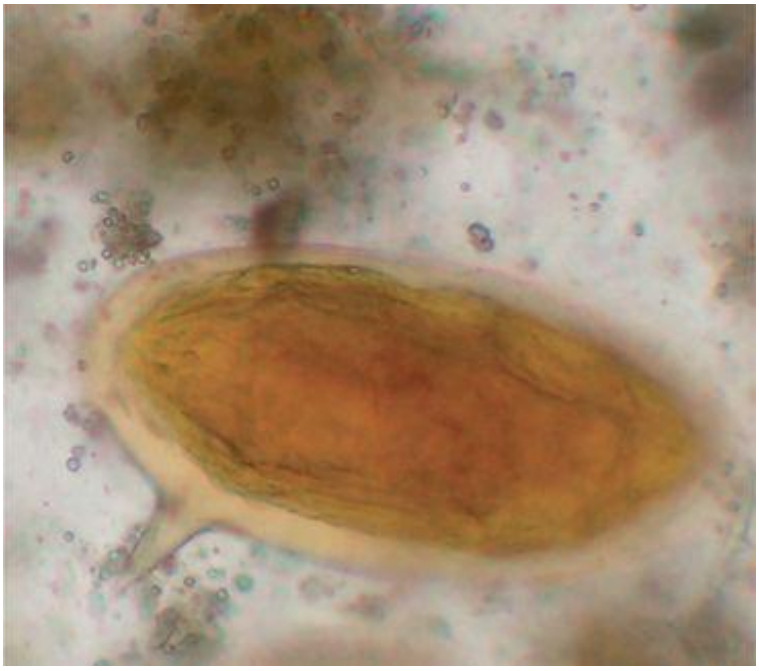


Figura 84-9 Ovo de *Schistosoma mansoni*. Estes ovos medem 115 a 175µm de comprimento e 45 a 70µm de largura, contêm um miracídio e estão recobertos por uma fina casca com um espículo lateral proeminente.

Epidemiologia

A distribuição geográfica das várias espécies de *Schistosoma* depende da disponibilidade de um hospedeiro molusco apropriado. O *S. mansoni* é o mais disperso dos esquistossomos e é endêmico na África, Arábia Saudita e Madagascar. Também se tornou bem estabelecido no hemisfério ocidental, particularmente no Brasil, Suriname, Venezuela, partes das Antilhas e Porto Rico. Casos originários destas áreas podem estar presentes nos Estados Unidos. Em todas estas áreas, existem também hospedeiros reservatórios, especialmente primatas, marsupiais e roedores. A esquistossomíase pode ser considerada uma doença derivada do progresso econômico; o desenvolvimento de projetos de irrigação maciça de terras no deserto e áreas tropicais resultou em uma dispersão dos humanos e caramujos infectados para áreas previamente não envolvidas.

Como notado anteriormente, a penetração cercariana da pele íntegra pode ser visualizada na forma de uma dermatite com reações alérgicas, prurido e edema. Vermes realizando migração pelos pulmões podem produzir tosse; à medida que atingem o fígado, pode aparecer hepatite.

Caso Clínico 84-4 Esquistossomíase

Ferrari (Medicine [Baltimore] 78:176-190, 1999) descreveu o caso de neuroesquistossomíase devido a *Schistosoma mansoni* em um brasileiro do sexo masculino de 18 anos. O paciente foi internado devido a um início recente de paraplegia. Ele estava com boa saúde até 33 dias antes da admissão, quando teve uma dor progressiva na parte inferior das costas com irradiação para os membros inferiores. Neste período, foi avaliado três vezes em uma outra instituição, onde filmes de raios X da espinha torácica inferior, lombar e sacral estavam normais. Recebeu agentes anti-inflamatórios, com apenas alívio transitório de seus sintomas. Quatro semanas após o início da dor, a doença progrediu agudamente com impotência sexual, retenção fecal e urinária, e paraparesia progredindo para paraplegia. Neste momento, a dor desapareceu, sendo substituída por uma marcada debilidade das sensações nos membros inferiores. Na admissão ao hospital, forneceu um histórico de exposição à infecção esquistossomótica. O exame neurológico revelou paraplegia flácida, marcada perda sensorial e ausência de reflexos superficiais e profundos no nível e abaixo do nível de T11. O LCR continha 84 leucócitos/mm^3 (98% linfócitos, 2% eosinófilos) e 1 eritrócito, 82mg/dL de proteína total e 61mg/dL de glicose. Mielografia, mielografia por TC e imagem por ressonância magnética (IRM) demonstraram um leve alargamento do cone. O diagnóstico de neuroesquistossomíase foi confirmado pela demonstração de ovos viáveis e mortos de *S. mansoni* em biópsia da mucosa retal. A concentração de IgG contra antígenos solúveis de ovo d e *S. mansoni* no LCR, quantificada por ELISA, foi de 1,53 µg/mL. Ele foi tratado com prednisona e praziquantel. Apesar da terapia, sua condição permaneceu inalterada no acompanhamento 7 meses depois. O *S. mansoni* é mundialmente a causa mais frequente relatada de mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE). A MRE está entre as formas mais severas de esquistossomíase e o prognóstico depende largamente do diagnóstico e tratamento precoce.

Infecções por *S. mansoni* podem produzir anormalidades hepáticas e intestinais. À medida que o trematódeo se instala nos vasos mesentéricos iniciando a deposição dos ovos, se observam febre, mal-estar, dor abdominal e sensibilidade do fígado. A deposição de ovos na mucosa do intestino resulta de uma inflamação e de um espessamento da parede intestinal com dor abdominal associada, diarreia e sangue nas fezes. Os ovos podem ser carreados através da veia porta para o fígado, onde a inflamação pode levar à fibrose periportal e eventualmente para hipertensão portal e suas manifestações associadas.

A infecção crônica por *S. mansoni* produz uma hepatoesplenomegalia significante, com grandes acúmulos de fluido ascítico na cavidade peritoneal. Ao exame macroscópico, o fígado está salpicado de granulomas brancos (pseudotubérculos). Apesar de os ovos de *S. mansoni* serem primariamente depositados no intestino, podem aparecer na medula espinhal, pulmões e outros locais. Um processo fibrótico semelhante ocorre em cada local. Problemas neurológicos severos podem suceder à deposição de ovos na medula espinhal e cérebro. Na esquistossomíase fatal causada por *S. mansoni*, um tecido fibroso, reagindo aos ovos no fígado, circunda a veia porta em uma camada espessa e macroscopicamente visível **("fibrose em haste de cachimbo de barro")**.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da esquistossomíase é normalmente estabelecido pela demonstração de ovos característicos nas fezes. O exame das fezes revela ovos grandes e dourados com um espículo lateral afiado (Fig. 84-9). Técnicas de concentração podem ser necessárias em infecções brandas. Utilizando biópsias retais, os médicos podem visualizar as trilhas de ovos deixadas pelos vermes nos vasos retais. A quantidade da eliminação de ovos nas fezes é útil para se estimar a severidade da infecção e no acompanhamento da resposta à terapia. Testes sorológicos também estão disponíveis, mas são principalmente apenas de interesse epidemiológico. O desenvolvimento de novos testes utilizando antígenos estágios-específicos pode permitir a distinção da doença entre a forma ativa e inativa e ter uma maior aplicação clínica.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel e a alternativa é a oxamniquina. A terapia anti-helmíntica pode interromper a oviposição, mas não afeta as lesões causadas pelos ovos já depositados nos tecidos. A **dermatite esquistossomótica** e a síndrome de Katayama podem ser tratadas com a administração de anti-histamínicos e corticosteroides. A educação acerca dos ciclos de vida destes vermes e do controle moluscicida dos caramujos são essenciais. A melhora no saneamento e controle dos depósitos fecais humanos é crítica. O tratamento em massa pode ser prático e o desenvolvimento de uma vacina pode estar próximo.

Schistosoma japonicum

Fisiologia e Estrutura

O *S. japonicum* reside nos ramos da veia mesentérica superior, ao redor do intestino delgado e nos vasos mesentéricos inferiores. Os ovos de *S. japonicum* (Fig. 84-10) são menores, quase esféricos e possuem um pequeno espículo. São produzidos em quantidades maiores que as de *S. mansoni* e *S. haematobium*. Devido ao tamanho, formato e número de ovos, eles são carreados para outros locais no corpo (fígado, pulmões, cérebro) e a infecção com poucos adultos de *S. japonicum* pode ser mais severa do que infecções envolvendo números semelhantes de *S. mansoni* ou S. *haematobium*.

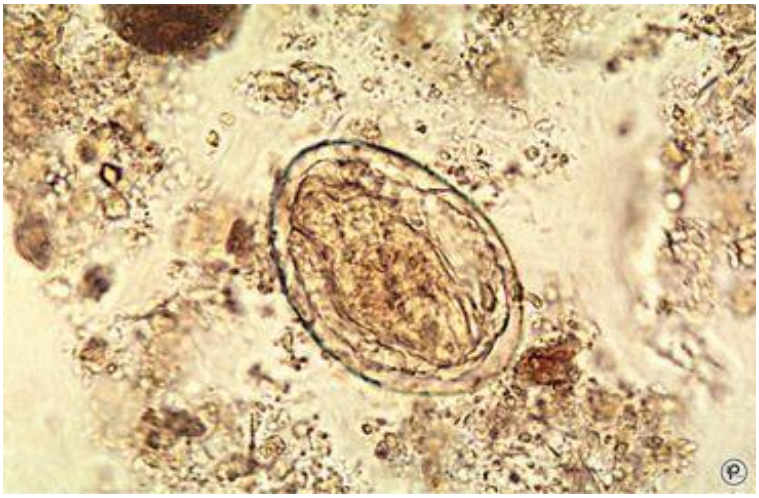


Figura 84-10 Ovo de *Schistosoma japonicum*. Estes ovos são menores que os de *Schistosoma mansoni* (70 a 100 µm de comprimento e 55 a 65µm de largura) e possuem um espículo que é inconspícuo.

(De Marler LM, et al: Parasitology CD-ROM, Indiana Pathology Images, 2003.)

Epidemiologia

Este **trematódeo sanguíneo oriental** é encontrado apenas na China, Japão, Filipinas e na ilha de Sulawesi, Indonésia. Problemas epidemiológicos têm relação direta com um grande espectro de hospedeiros reservatórios, muitos dos quais são domésticos (gatos, cães, bovinos, equinos e suínos).

Síndromes Clínicas

Os estágios iniciais da infecção por *S. japonicum* são semelhantes aos de *S. mansoni*, com dermatite, reações alérgicas, febre e mal-estar, seguido de desconforto abdominal e diarreia. A síndrome de Katayama associada ao início da oviposição é observada mais comumente na infecção por *S. japonicum* do que na por *S. mansoni*. Na infecção crônica por *S. japonicum*, são comumente visualizados doença hepatoesplênica, hipertensão portal, varizes esofageanas sangrantes e acúmulo de líquido ascítico. Granulomas que aparecem como pseudotubérculos dentro e sobre o fígado são comuns, juntamente com a fibrose em haste de cachimbo de barro como descrito para *S. mansoni*.

O *S. japonicum* frequentemente envolve estruturas cerebrais quando os ovos alcançam o cérebro e granulomas se desenvolvem ao seu redor. As manifestações neurológicas incluem letargia, debilidade da fala, defeitos visuais e convulsões.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico de fezes demonstra os ovos pequenos e dourados com pequenos espículos; usualmente, a biópsia retal é igualmente reveladora. Testes sorológicos estão disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel. Prevenção e controle podem ser atingidos por medidas semelhantes às sugeridas para *S. mansoni*, especialmente a educação da população em áreas endêmicas acerca da purificação correta da água, saneamento e controle dos depósitos fecais humanos. O controle de *S. japonicum* também deve envolver o grande espectro de hospedeiros reservatórios e considerar o fato de que pessoas trabalham em plantações de arroz e em projetos de irrigação onde caramujos infectados estão presentes. O tratamento em massa pode oferecer ajuda e a vacina pode ser desenvolvida.

Schistosoma haematobium

Fisiologia e Estrutura

Após o desenvolvimento no fígado, estes trematódeos sanguíneos migram para os plexos vesical, prostático e uterino da circulação venosa, ocasionalmente a corrente sanguínea portal, e apenas raramente outras vênulas.

Ovos grandes com um espículo terminal afiado (Fig. 84-11) são depositados na parede da bexiga e ocasionalmente nos tecidos uterinos e prostáticos. Aqueles depositados na parede da bexiga podem ser liberados no lúmen deste órgão e eliminados na urina.

Figura 84-11 Ovo de *Schistosoma haematobium*. Estes ovos são semelhantes em tamanho aos de *Schistosoma mansoni*, mas podem ser diferenciados pela presença de um espículo terminal, ao invés de um lateral.

Epidemiologia

O *S. haematobium* ocorre por todo o Vale do Nilo e em muitas outras partes da África, incluindo as ilhas fora da costa leste. Ele também aparece na Ásia Menor, Chipre, Sul de Portugal e Índia. Hospedeiros reservatórios incluem macacos, babuínos e chimpanzés.

Síndromes Clínicas

Os estágios iniciais da infecção por *S. haematobium* são semelhantes àqueles das infecções envolvendo *S. mansoni* e *S. japonicum*, com dermatite, reações alérgicas, febre e mal-estar. Diferente dos outros dois esquistossomos, *S. haematobium* produz como sintomas iniciais hematúria, disúria e frequência urinária. Associada à hematúria, a bacteriúria é frequentemente uma condição crônica. A deposição de ovos nas paredes da bexiga pode eventualmente resultar em cicatrização, com perda da capacidade vesical e o desenvolvimento de uropatia obstrutiva.

Pacientes com infecções por *S. haematobium* envolvendo muitos trematódeos frequentemente demonstram carcinoma de células escamosas da bexiga. O *S. haematobium* é comumente declarado como a principal causa do câncer de bexiga no Egito e outras partes da África. Os granulomas e pseudotubérculos observados na bexiga também podem estar presentes nos pulmões. A fibrose no leito pulmonar causada pela deposição de ovos leva à dispneia, tosse e hemoptise.

Diagnóstico Laboratorial

O exame de amostras de urina revela ovos grandes e com espículo terminal. Ocasionalmente, a biópsia da bexiga é útil no estabelecimento de um diagnóstico. Os ovos de *S. haematobium* podem aparecer nas fezes se os vermes migrarem para os vasos mesentéricos. Testes sorológicos também estão disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel. No momento, educação, possível tratamento em massa e o desenvolvimento de uma vacina são as melhores abordagens para o controle da doença por *S. haematobium*. Os problemas básicos dos projetos de irrigação (p. ex., construção de represa), migração de populações humanas e múltiplos hospedeiros reservatórios, tornam a prevenção e o controle extremamente difíceis.

Dermatite Cercariana

Diversos esquistossomos não humanos apresentam cercárias que penetram na pele humana, produzindo uma dermatite severa **(“coceira do nadador”)**, mas estes esquistossomos não conseguem se desenvolver em vermes adultos. Os hospedeiros naturais são aves e outros animais que se alimentam na margem, provenientes de lagos de água doce ao redor do mundo e algumas praias marinhas. O prurido intenso e a urticária devido a esta penetração na pele podem levar à infecção secundária bacteriana, devido à lesão pela coceira nos locais de infecção.

O tratamento consiste de trimeprazina oral e aplicação tópica de agentes paliativos. Quando indicado, sedativos podem ser utilizados. O controle é difícil devido à migração de aves e a transferência de caramujos vivos de lago para lago. Moluscicidas como o sulfato de cobre produziram alguma redução nas populações de caramujos. A secagem imediata da pele quando as pessoas deixam tais águas oferece alguma proteção.

Estudo de Caso e Questões

Um homem de 45 anos proveniente do Egito foi atendido para avaliação de hematúria e frequência urinária de 2 meses de duração. Este indivíduo morou no Oriente Médio por quase toda sua vida, mas no último ano morou nos Estados Unidos. Ele negou problemas renais e urológicos posteriores. Seu exame físico não era digno de nota. Uma amostra de urina do meio do fluxo estava excessivamente sanguinolenta.

1. Qual era o diagnóstico diferencial de hematúria neste paciente?

1. O diagnóstico diferencial da hematúria neste indivíduo inclui câncer de bexiga, nefrolitíase, tuberculose urinária e esquistossomíase.

2. Qual era o agente etiológico do processo urológico deste paciente?

2. O mais provável agente etiológico do processo urológico deste paciente é *Schistosoma haematobium*.

3. Que tipo de exposições poderiam colocar um indivíduo sob risco desta infecção?

3. Como ocorre com as outras formas de esquistossomíase, a infecção com *S. haematobium* é adquirida através do contato com água que contém o molusco hospedeiro intermediário apropriado.

4. Quais são as principais complicações desta infecção?

4. As principais complicações desta infecção são uropatia obstrutiva e câncer de células escamosas da bexiga.

5. Como esta doença é tratada?

5. O tratamento de escolha é praziquantel.

Bibliografia

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases, vol 2. Stamford: Conn, Appleton & Lange, 1997.

Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology, 4th ed, Washington, DC: ASM Press, 2001.

Jones MK, McManus DP, et al. Trematodes. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Keiser J, Utzinger J. Emerging foodborne trematodiasis. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1507-1514.

Markell EK, John DT, Krotoski WA. Markell and Voges' Medical Parasitology, 8th ed., Philadelphia: WB Saunders, 1999.

Meltzer E, et al. Schistosomiasis among travelers: New aspects of an old disease. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1696-1700.

Strickland GT. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Philadelphia: WB Saunders, 2000.

85 Cestoides

Os corpos dos cestoides, **tênias**, são achatados e semelhantes a uma fita, e as cabeças são equipadas com órgãos de fixação. A cabeça, ou **escólex**, do verme normalmente possui quatro ventosas musculares e côncavas e uma coroa de acúleos. A exceção é o *Diphyllobothrium latum*, a tênia do peixe, no qual o escólex é equipado com um par de fendas musculares laterais longas e não possui acúleos.

Os segmentos individuais dos cestoides são denominados de **proglotes**, e a cadeia de proglotes é denominada de **estróbilo**. À medida que as novas proglotes se desenvolvem, as existentes sofrem maturação, à medida que se tornam mais distais. As proglotes mais distais estão grávidas, quase que completamente ocupadas por um útero repleto de ovos, sendo eliminados nas fezes do hospedeiro, tanto no interior de proglotes como livres, após o rompimento das proglotes. A diferenciação dos diversos cestoides adultos pode ser realizada através do exame da estrutura das proglotes eliminadas (comprimento, largura, número de ramificações uterinas) ou (mais raramente) do escólex (número e localização das ventosas, presença/ausência de acúleos).

Todos os cestoides são hermafroditas, com os órgãos reprodutores masculino e feminino presentes em cada proglote madura. Os ovos da maioria dos cestoides são não operculados e contêm um **embrião hexacanto** provido de seis acúleos; a única exceção, *D. latum*, possui um ovo operculado não embrionado, semelhante aos ovos dos trematódeos. Os cestoides não possuem sistema digestivo e o alimento é absorvido do intestino do hospedeiro através da parede tenra do corpo do verme. A maioria dos cetoides encontrada no intestino humano possui um ciclo de vida complexo envolvendo hospedeiros intermediários e em alguns casos (cisticercose, equinococose, esparganose), os humanos servem como uma forma de hospedeiros intermediários que albergam os estádios larvários. A presença de larvas extra-intestinais é, algumas vezes, mais séria do que a presença de vermes adultos no intestino. Os cetoides de importância médica mais comuns estão listados na Tabela 85-1.

Tabela 85-1 Cetoides de Importância Médica

Tabela 85-1. Cetoides de Importância Médica

Cestoide	Nome Comum	Reservatório das Larvas	Reservatório dos Adultos
Taenia solium	Tênia do porco Cisticercose	Suínos Humanos	Humanos –
Taenia saginata	Tênia do boi	Bovinos	Humanos
Diphyllobothrium latum	Tênia do peixe	Crustáceos e peixes de água doce	Humanos, cães, gatos, ursos
Echinococcus granulosus	Cisto hidático unilocular	Herbívoros, humanos	Caninos
Echinococcus multilocularis	Cisto hidático alveolar	Herbívoros, humanos	Raposas, lobos, cães, gatos
Hymenolepis nana	Tênia anã	Roedores, humanos	Roedores, humanos
Hymenolepis diminuta	Tênia anã	Insetos	Roedores, humanos
Dipylidium caninum	Tênia em forma de semente de abóbora	Pulgas	Cães, gatos

Taenia solium

Fisiologia e Estrutura

O estádio larvário, ou cisticerco (“verme vesicular”), das espécies de *Taenia*, consiste de um escólex, que está invaginado em uma vesícula preenchida por fluido. O cisto larvário se desenvolve nos tecidos do hospedeiro intermediário, mede de 4 a 6mm de comprimento × 7 a 11mm de largura, e possui uma aparência perolada nos tecidos. Após uma pessoa ingerir musculatura suína, contendo a forma larvária do verme, a fixação do escólex com suas quatro ventosas musculares e coroa de acúleos, inicia a infecção no intestino delgado (Fig. 85-1). O verme então produz proglotes até que se desenvolva um estróbilo de proglotes, podendo ter vários metros de comprimento. As proglotes sexualmente maduras contêm ovos e, à medida que estas deixam o hospedeiro através de suas fezes, podem contaminar a água e a vegetação ingerida pelo suíno. As proglotes grávidas possuem comprimento e largura similares (1cm × 1cm) e contêm poucas (<12) ramificações uterinas laterais. Os ovos no suíno se tornam uma forma larvária de seis acúleos, denominada de *oncosfera*, que penetra na parede intestinal do suíno, migra através da circulação para os tecidos e se torna um cisticerco para completar o ciclo de vida.

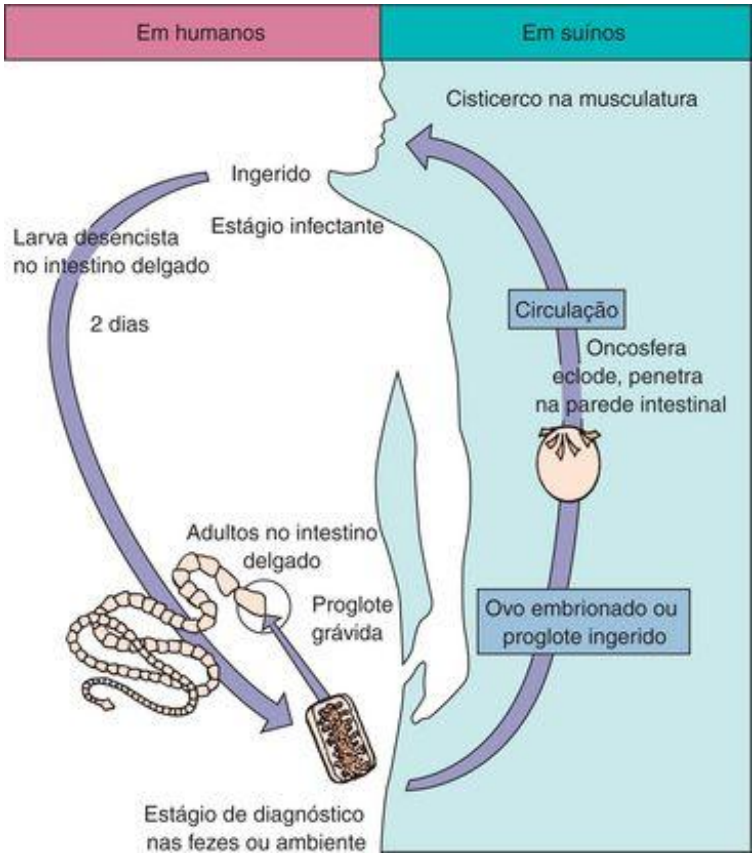


Figura 85-1 Ciclo de vida da *T. solium* (tênia do porco).

Epidemiologia

A infecção por *T. solium* está diretamente correlacionada à ingestão de carne suína insuficientemente cozida e é prevalente na África, Índia, sudeste da Ásia, China, México, países da América Latina e países Eslavos. Ela não é encontrada frequentemente nos Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A forma adulta da *T. solium* no intestino raramente causa sintomas apreciáveis. O intestino pode estar irritado nos locais de fixação e ocorrer o desconforto abdominal, indigestão crônica e diarreia. A maioria dos pacientes toma ciência da infecção apenas quando visualizam proglotes ou estróbilos de proglotes nas fezes.

Diagnóstico Laboratorial

O exame das fezes pode revelar proglotes e ovos e o tratamento pode resultar na expulsão de todo o verme para identificação. Os ovos são esféricos, de 30 a 40µm de diâmetro, possuem casca espessa, estriada radialmente e contêm um embrião hexacanto dotado de seis acúleos (Fig. 85-2). Os ovos são idênticos aos de *T. saginata* (**tênia do boi**), de forma que os ovos sozinhos não são suficientes para a identificação de espécie. O exame criterioso de proglotes revela sua estrutura interna, que é importante para a diferenciação entre *T. solium* e *T. saginata*. As proglotes grávidas de *T. solium* são menores que as de *T. saginata* e contêm apenas 7 a 12 ramificações uterinas laterais, comparadas às 15 a 30 no caso da tênia do boi.

Figura 85-2 Ovo de *Taenia*. Os ovos são esféricos, de 30 a 40µm de diâmetro e contêm três pares de acúleos internamente. Os ovos das diferentes espécies de *Taenia* não podem ser diferenciados.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida. O praziquantel, a paromomicina ou a quinacrina são alternativas eficazes. A prevenção da infecção pela **tênia do porco** requer que a carne suína seja cozida até que o interior esteja cinza, ou que seja congelada a −20°C por pelo menos 12 horas. O saneamento é crítico; todo esforço deve ser feito para manter as fezes humanas contendo ovos de *T. solium* longe da água e vegetação ingerida por suínos.

Cisticercose

Fisiologia e Estrutura

A **cisticercose** envolve a infecção de pessoas pelo estádio larvário de *T. solium*, o cisticerco, que normalmente infecta suínos (Fig. 85-3). A ingestão pelo homem de água ou vegetação contaminada por ovos de *T. solium*, a partir de fezes humanas, inicia a infecção. A autoinfecção pode ocorrer quando ovos, provenientes de uma pessoa infectada pelo verme adulto, são transferidos da área perianal para a boca através de dedos contaminados. Ingeridos, os ovos eclodem no estômago do hospedeiro intermediário, liberando o embrião hexacanto ou **oncosfera**. A oncosfera penetra na parede intestinal e migra através da circulação para os tecidos, onde se desenvolve em cisticerco em 3 a 4 meses. Os cisticercos podem se desenvolver na musculatura, tecido conjuntivo, cérebro, pulmões e olhos e permanecer viáveis por até 5 anos.

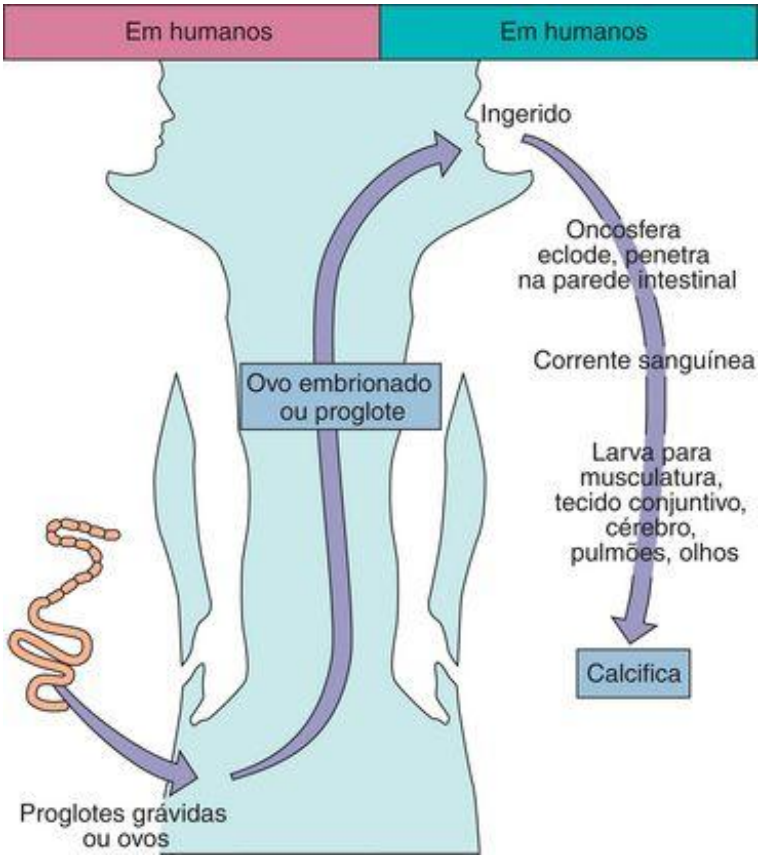


Figura 85-3 Desenvolvimento da cisticercose humana.

Epidemiologia

A cisticercose é encontrada em áreas onde a *T. solium* é prevalente e está diretamente correlacionada à contaminação fecal humana. Além da transmissão fecal-oral, a auto-infecção pode ocorrer quando uma proglote contendo ovos é regurgitada do intestino delgado para o estômago, permitindo que os ovos eclodam e liberem a oncosfera infectante.

Poucos cisticercos em áreas não vitais (p. ex., tecidos subcutâneos) podem não provocar sintomas, mas uma doença séria pode ocorrer caso os cisticercos se alojem em áreas vitais, como o cérebro e os olhos. No cérebro, eles podem produzir hidrocefalia, meningite, dano ao nervo cranial, convulsões, reflexos hiperativos e defeitos visuais (Caso Clínico 85-1). Nos olhos, a perda da acuidade visual pode ocorrer, e se a larva se alojar ao longo do trato óptico, podem resultar defeitos do campo visual. A reação tecidual às larvas viáveis pode ser apenas moderada, portanto minimizando os sintomas. Entretanto, a morte da larva resulta na liberação de material antigênico que estimula uma notável reação inflamatória; e a exacerbação dos sintomas pode resultar em febre, dores musculares e eosinofilia.

Caso Clínico 85-1 Neurocisticercose

Chatel e colaboradores (Am J Trop Méd Hyg 60:255-256, 1999) descrevem o caso de neurocisticercose em um italiano que viajou para a América Latina. O paciente era um homem de 49 anos com uma história de uma estadia de 30 dias na América Latina (Salvador, Colômbia e Guatemala), 3 meses antes da apresentação de febre e mialgia. O exame clínico e os resultados de exames laboratoriais de rotina estavam normais, exceto pela elevação dos níveis de creatina fosfocinase e uma eosinofilia branda. Ele recebeu terapia anti-inflamatória sintomática, rapidamente melhorou e foi liberado com um diagnóstico de polimiosite. Dois anos depois, foi admitido no hospital com cefaleia retro-ocular e hemianopsia direita recorrente. Um exame neurológico revelou um reflexo de Babinski esquerdo sem disfunções motoras ou sensoriais. Testes laboratoriais estavam sem alterações dignas de nota, incluindo um exame parasitológico de fezes negativo. Um exame de imagem cerebral por ressonância magnética (IRM) demonstrou a presença de diversos cistos (4 a 15mm de diâmetro) intraparenquimais, subaracnoidais e intraventriculares, com edema focal perilesional e intensificação em forma de anel. Uma resposta específica de anticorpos para cisticercose foi demonstrada por técnicas de ELISA e imunoblot. O paciente foi tratado com albendazol por 2 ciclos de 8 dias cada. Um ano depois, ele estava em boa saúde e a IRM cerebral revelou redução significativa no diâmetro das lesões. Este caso proporciona um interessante aviso do risco pequeno, mas real, dos viajantes de adquirirem infecções por *Taenia solium* durante viagens ao exterior.

Diagnóstico Laboratorial

A presença de cisticercos normalmente é estabelecida pelo aparecimento de cisticercos calcificados em raios X de tecidos moles, remoção cirúrgica de nódulos subcutâneos e a visualização de cistos no olho. Lesões do sistema nervoso central podem ser detectadas por tomografia computadorizada, exame por radioisótopo ou ultrassonografia. Estudos sorológicos podem ser úteis; resultados falso-positivos podem ocorrer em pessoas com outras infecções helmínticas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha para a cisticercose é tanto o praziquantel quanto o albendazol. A administração concomitante de esteroide pode ser necessária para minimizar a resposta inflamatória da larva em processo de morte. A remoção cirúrgica de cistos cerebrais e oculares pode ser necessária. O tratamento dos casos humanos, albergando o adulto de *T. solium* (para reduzir a transmissão de ovos), e o descarte controlado das fezes humanas são críticos para a prevenção e controle da infecção humana. Estas medidas também reduzem a probabilidade da infecção dos suínos.

Taenia saginata

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida de *T. saginata*, a tênia do boi, é semelhante ao de *T. solium* (Fig. 85-4), com a infecção sendo resultado da ingestão de cisticercos em carne de boi insuficientemente cozida. Após o desencistamento, a larva se desenvolve na forma adulta no intestino delgado e inicia a produção de ovos nas proglotes maduras. O verme adulto pode parasitar o jejuno e o intestino delgado de humanos por até 25 anos, atingindo 10m de comprimento. Em contraste com as infecções por *T. solium*, a cisticercose produzida por *T. saginata* não ocorre em humanos. O verme adulto de *T. saginata* também difere do de *T. solium*, pois não possui uma coroa de acúleos no escólex e possui estrutura diferente das ramificações uterinas nas proglotes. As proglotes grávidas são mais longas do que largas (18 a 20mm × 5 a 7 mm) e contêm 15 a 30 ramificações uterinas laterais. Estes fatos são importantes na diferenciação entre as duas tênias, mas não afetam a terapia.

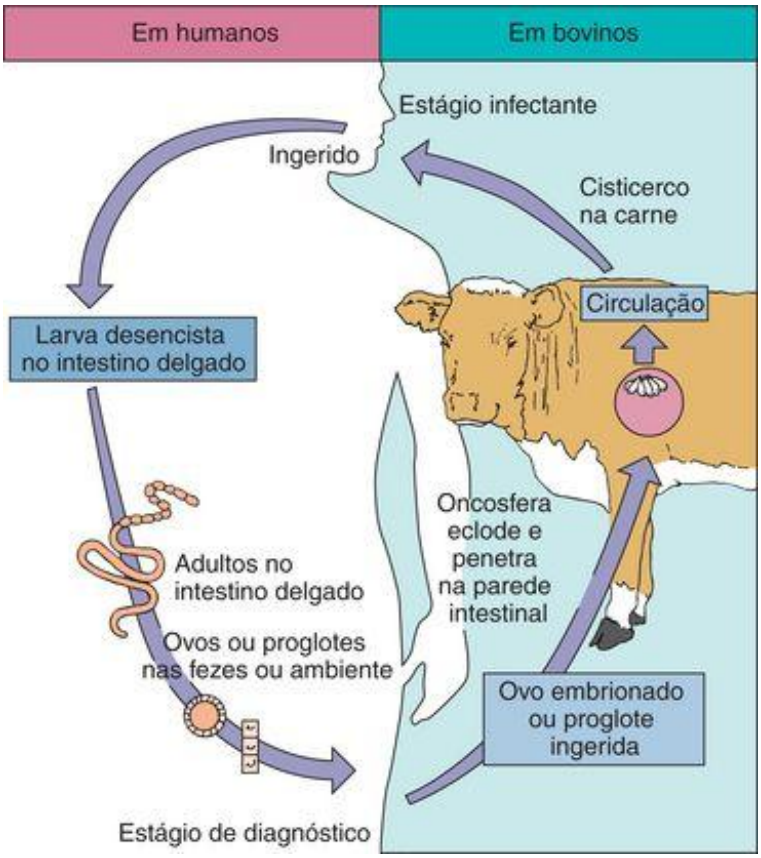


Figura 85-4 Ciclo de vida de *T. saginata* (tênia do boi).

Epidemiologia

A *T. saginata* ocorre no mundo todo sendo uma das mais frequentes causas de infecções por cetoides nos Estados Unidos. Os humanos e os bovinos perpetuam o ciclo de vida: as fezes humanas contaminam a água e a vegetação com ovos, que são ingeridos pelos bovinos. Os cisticercos nos bovinos produzem vermes adultos nos humanos quando a carne crua ou insuficientemente cozida é ingerida.

Síndromes Clínicas

A síndrome que resulta da infecção pela *T. saginata* é semelhante à infecção intestinal pela *T. solium*. Os pacientes são geralmente assintomáticos ou podem se queixar de dores abdominais vagas, indigestão crônica e dores de fome. As proglotes podem ser eliminadas ativamente pelo ânus.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por *T. saginata* é semelhante ao de *T. solium*, com a recuperação de proglotes e ovos, ou de todo o verme, no qual o escólex não possui acúleos. O estudo das ramificações uterinas nas proglotes diferencia a *T. saginata* da *T. solium*.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é idêntico ao realizado para a fase intestinal de *T. solium*. Tanto o praziquantel como a niclosamida são altamente eficazes na eliminação do verme adulto. A educação acerca do cozimento da carne bovina e o controle do descarte de fezes humanas é uma medida crítica.

Diphyllobothrium latum

Fisiologia e Estrutura

Um dos maiores cetoides (aproximadamente de 600 a 900cm de comprimento), o *D. latum* (**tênia do peixe**) possui um ciclo de vida complexo, envolvendo dois hospedeiros intermediários: crustáceos e peixes de água doce (Fig. 85-5). A forma larvária do verme em forma de fita, presente na carne de peixes de água doce, é denominada de **espargano**. A ingestão deste espargano em peixes crus ou insuficientemente cozidos inicia a infecção. O escólex de *D. latum* tem a forma de uma lança e possui fendas laterais longas (**bótria**), servindo como órgãos de fixação. As proglotes de *D. latum* são muito mais largas do que longas (~8 por 4mm), possuem uma estrutura uterina central que lembra uma roseta e produzem ovos com um opérculo (semelhante ao dos trematódeos) e uma protuberância na casca na parte inferior do ovo. Os vermes adultos podem produzir ovos por meses ou anos. Mais de um milhão de ovos por dia são liberados no fluxo fecal. Ao alcançarem a água doce, os ovos operculados e não embrionados necessitam de um período de 2 a 4 semanas para desenvolverem uma forma larvária ciliada e que nada livremente, denominada de **coracídio**. O coracídio totalmente desenvolvido deixa o ovo através do opérculo e é ingerido por pequenos crustáceos, denominados de **copépodes** (p. ex., espécies de *Cyclops* e *Diaptomus*); o coracídio então se desenvolve na forma larvar de **procercoide**. Os crustáceos albergando as formas larvárias são ingeridos por um peixe e a larva infectante **plerocercoide**, ou larva espargano, se desenvolve na musculatura do peixe. Se o peixe for ingerido por outro peixe, o espargano simplesmente migra para os músculos do segundo peixe. Os humanos são infectados quando ingerem peixe cru ou inapropriadamente cozido, contendo as formas larvárias.

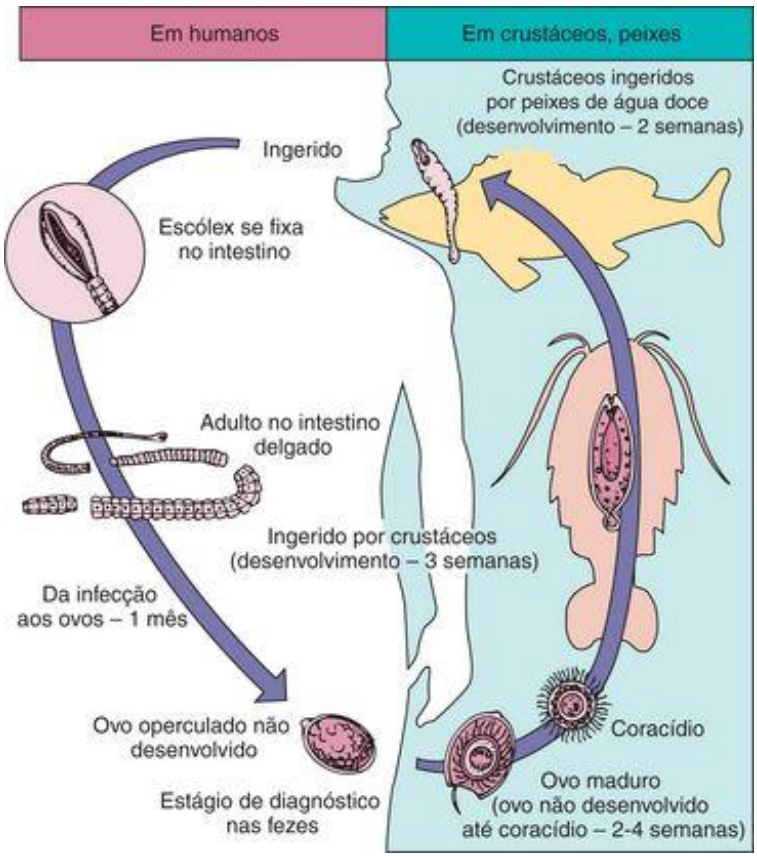


Figura 85-5 Ciclo de vida de *D. latum* (tênia do peixe).

Epidemiologia

A infecção por *D. latum* ocorre mundialmente, de forma mais prevalente em regiões de lagos frios, onde o peixe cru ou em conserva é popular. O cozimento insuficiente em fogueiras e o ato de provar e temperar o “peixe recheado” são responsáveis por muitas infecções. Um reservatório de animais selvagens infectados, como ursos, martas, morsas e membros das famílias caninas e felinas que ingerem peixe, é também fonte para as infecções humanas. A prática do despejo de esgoto não tratado em lagos de água doce contribui para a propagação deste cestoide.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 85-2)

Clinicamente, assim como é o caso da maioria das infecções por cetoides adultos, a maioria das infecções por *D. latum* é assintomática. Ocasionalmente, as pessoas se queixam de dor epigástrica, cólicas abdominais, náusea, vômito e perda de peso. Em torno de 40% dos portadores de *D. latum* podem apresentar níveis séricos baixos de vitamina B_{12}, presumivelmente devido à competição entre o hospedeiro e o verme por vitamina B_{12} da dieta. Uma pequena porcentagem (0,1% a 2%) de pessoas infectadas por *D. latum* desenvolve sinais clínicos de deficiência de vitamina B_{12}, incluindo anemia megaloblástica e manifestações neurológicas como entorpecimento, parestesia e perda da sensação de vibração.

Caso Clínico 85-2 Difilobotríase

Lee e colaboradores (Korean J Parasitol 39:319-3221, 2001) relataram o caso de difilobotríase em uma menina. Uma garota de 7 anos foi examinada em uma consulta clínica, logo após a eliminação de uma cadeia de proglotes de tênia, medindo 42 cm de comprimento. Ela não tinha história de ingestão de peixe cru, exceto uma vez quando ingeriu carne de salmão crua, juntamente com o resto de sua família, aproximadamente 7 meses antes. O salmão foi pescado em um rio local. Ela não se queixava de qualquer desconforto gastrintestinal e todos os estudos bioquímicos do sangue e hematológicos estavam normais. Os estudos coprológicos foram positivos para ovos de *Diphyllobothrium latum*. O verme foi identificado como sendo *D. latum*, com características biológicas das proglotes: morfologia externa amplamente estreita, enrolamento do útero, número das alças uterinas, posição da abertura genital. Uma única dose de praziquantel de 400mg foi administrada, mas o exame das fezes permaneceu positivo uma semana depois. Uma outra dose de 600mg foi administrada e a repetição do exame parasitológico das fezes 1 mês após foi negativa. Entre os quatro membros da família que haviam ingerido o peixe cru, apenas dois, a menina e sua mãe, foram identificados como estando infectadas. O consumo de salmão cru, especialmente aqueles produzidos pela aquicultura, é um risco para a difilobotríase humana.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos corados por bile, operculados, com uma protuberância na parte inferior da casca (Fig. 85-6). Proglotes típicas com a estrutura uterina em forma de roseta, também podem ser encontradas nas amostras de fezes. Técnicas de concentração não são normalmente necessárias, pois os vermes produzem grandes quantidades de ovos.

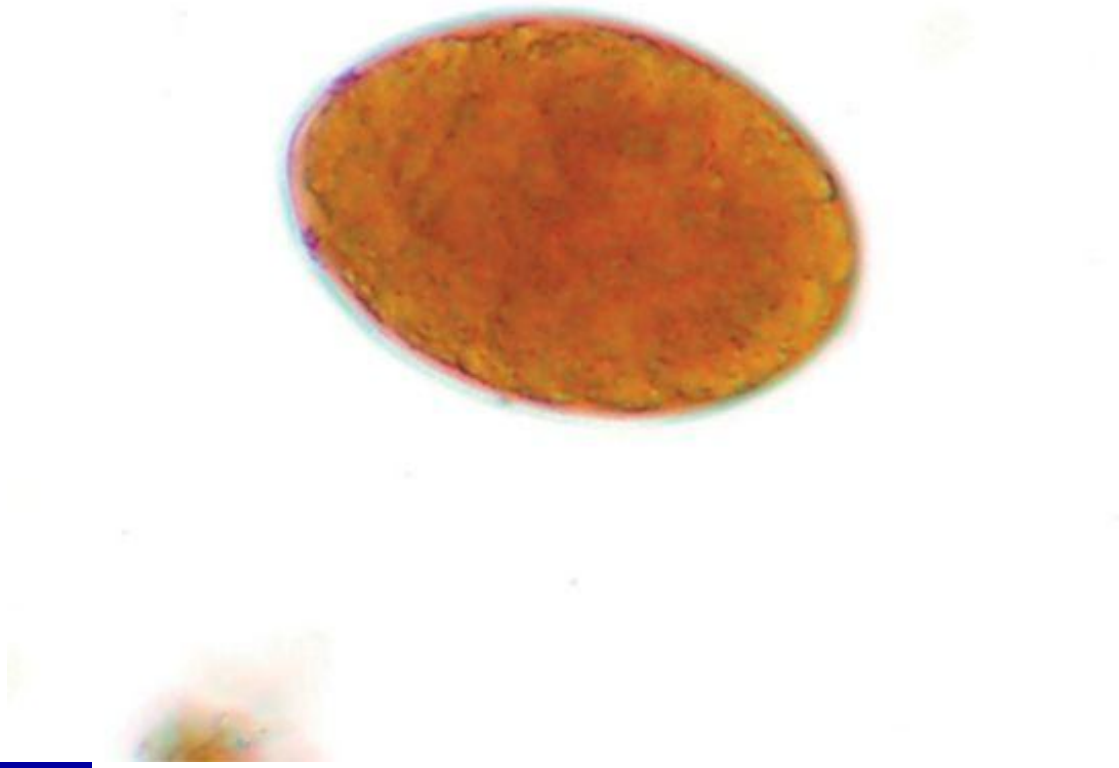


Figura 85-6 Ovo de *D. latum*. Diferente dos ovos de outros cetoides, os ovos de *D. latum* são operculados. Eles possuem um tamanho de 45 × 90µm.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida; o praziquantel e a paromomicina são alternativas aceitáveis. A suplementação de vitamina B_{12} pode ser necessária em pessoas com evidência clínica de deficiência de vitamina B_{12}. A prevalência desta infecção é reduzida quando a ingestão de peixe insuficientemente cozido é evitada, o descarte de fezes humanas (especialmente o tratamento apropriado de esgoto antes do descarte em lagos) é controlado e o tratamento imediato das infecções é realizado.

Esparganose

Fisiologia e Estrutura

As formas larvárias de diversos cetoides proximamente relacionados ao *D. latum* (na maioria das espécies de *Spirometra*) podem produzir a doença humana em locais subcutâneos e no olho. Nestes casos, os humanos atuam como hospedeiro terminal para o estádio larvário ou **espargano**. As infecções são adquiridas primariamente através da ingestão de água de reservatórios ou canais, que contém crustáceos (copépodes) que carreiam a forma larvária da tênia. Esta forma larvária penetra na parede intestinal e migra para vários locais no corpo, onde se desenvolve em espargano. As infecções podem também ocorrer se girinos, sapos e cobras forem ingeridos crus ou se a carne destes animais for aplicada a feridas como um emplastro. A forma larvária dos vermes deixa a carne relativamente fria do animal morto e migra para a carne humana quente.

Epidemiologia

Casos foram relatados de várias partes do mundo, incluindo os Estados Unidos, mas a infecção é mais prevalente no Oriente. Independentemente da localização, a ingestão de água contaminada e de carne crua de girino, sapo e cobra levam à infecção.

Síndromes Clínicas

Em locais subcutâneos, a **esparganose** pode produzir reações teciduais inflamatórias dolorosas e nódulos. No olho, a reação tecidual é intensamente dolorosa e o edema periorbital é comum. Úlceras córneas podem se desenvolver com envolvimento ocular. A doença ocular está frequentemente associada ao uso da carne de sapo ou cobra como um emplastro sobre um ferimento próximo ao olho.

Diagnóstico Laboratorial

Cortes de tecido removido cirurgicamente demonstram traços característicos de tênias, incluindo parênquima altamente convoluto e corpúsculos calcáreos de coloração escura.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção cirúrgica é a abordagem costumeira. O fármaco praziquantel pode ser utilizado; entretanto, nenhum dado clínico sustenta sua eficácia. A educação acerca da possível contaminação de água para ingestão, por crustáceos que albergam vermes na forma larvária é essencial, e a contaminação ocorre mais provavelmente em água de reservatórios e canais. A ingestão de carne crua de sapo ou cobra ou seu uso como emplastros sobre feridas também devem ser evitados.

Echinococcus granulosus

Fisiologia e Estrutura

A infecção por *E. granulosus* é um outro exemplo da infecção humana acidental, com os humanos servindo como hospedeiro intermediário terminal no ciclo de vida, ocorrendo naturalmente em outros animais. As tênias adultas de *E. granulosus* são encontradas naturalmente nos intestinos de caninos (cão, raposa, lobo, coiote, chacal, dingo); o estádio larvário de cisto está presente nas vísceras de herbívoros (ovinos, bovinos, suínos, cervos, alces americanos, alces) (Fig. 85-7). O verme consiste de um escólex semelhante ao da *Taenia*, com 4 ventosas e uma dupla fileira de acúleos, como um estróbilo contendo 3 proglotes: uma imatura, uma madura e uma grávida. Os cetoides adultos no intestino canino produzem ovos infectantes que são eliminados nas fezes. Os ovos são idênticos em aparência àqueles das espécies de *Taenia*. Quando são ingeridos por humanos, um estádio larvário de 6 acúleos denominado de **oncosfera** eclode. A oncosfera penetra na parede intestinal humana e entra na circulação para ser carreada a vários tecidos, primariamente o fígado e pulmões, mas também o sistema nervoso central e ossos. Este mesmo ciclo ocorre nas vísceras dos herbívoros. Quando o herbívoro é morto por um predador canino ou a víscera é usada na alimentação dos caninos, a ingestão dos cistos produz tênias adultas no intestino canino, para completar o ciclo e iniciar nova produção de ovos. Tênias adultas não se desenvolvem nos intestinos dos herbívoros ou humanos.

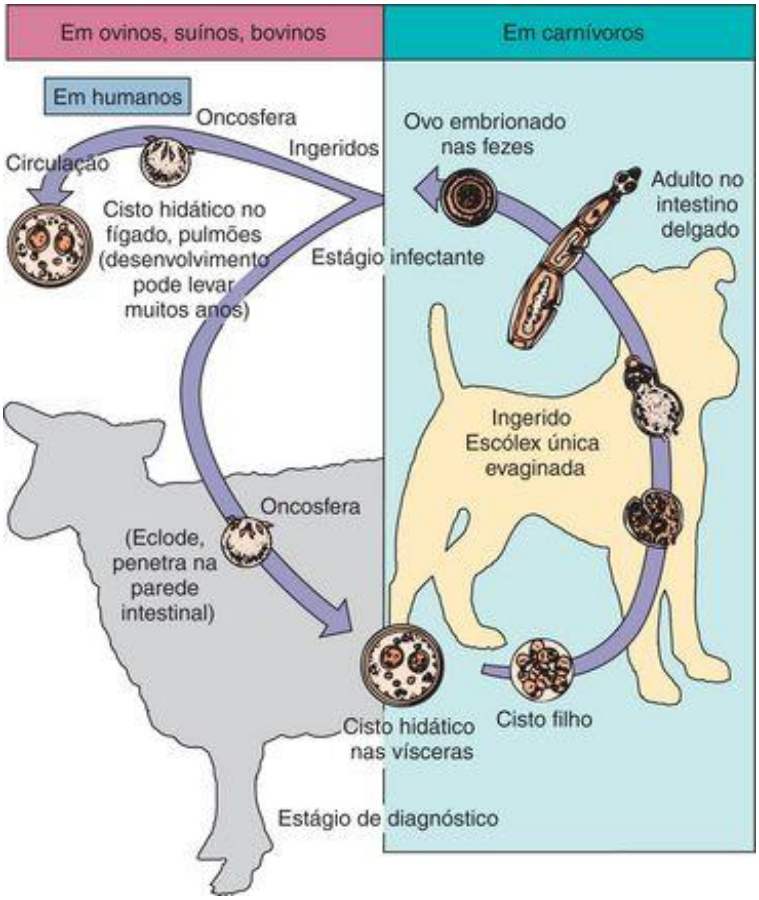


Figura 85-7 Ciclo de vida do *E. granulosus*.

Em humanos, a larva forma um **cisto hidático** unilocular, que é uma estrutura semelhante a um tumor, de crescimento lento e ocupante de espaço, e que está envolta por uma membrana germinativa laminada. Esta membrana produz estruturas em sua parede, denominadas **cápsulas prolígeras**, onde se desenvolvem as cabeças das tênias (**protoescólices**). Cistos filhos podem se desenvolver no cisto mãe original e também produzir cápsulas prolígeras e protoescólices. Os cistos e os cistos filhos acumulam fluido à medida que crescem. Este fluido é potencialmente tóxico; se entornado na cavidade corpórea, pode

resultar em choque anafilático e morte. O derramamento e o escape de protoescólices podem levar ao desenvolvimento de cistos em outros locais, pois os protoescólices apresentam o potencial germinativo para formar novos cistos. Eventualmente, as cápsulas prolígeras e os cistos filhos desintegram no interior do cisto mãe, liberando os protoescólices acumulados. Isto é conhecido como **areia hidática**. Este tipo de cisto do equinococus é denominado de **cisto unilocular**, para diferenciá-lo dos cistos relacionados que crescem de forma diferente. O cisto unilocular possui geralmente 5cm de diâmetro, mas já foram relatados cistos tão grandes quanto 20cm, contendo cerca de 2L de fluido cístico. O cisto pode morrer e se tornar calcificado após longos períodos.

Epidemiologia

A infecção humana por cistos uniloculares de *E. granulosus* está diretamente relacionada à criação de ovelhas em muitos países na Europa, América do Sul, África, Ásia, Austrália e Nova Zelândia. Ocorre no Canadá e nos Estados Unidos, com casos relatados do Alasca, Utah, Novo México, Arizona, Califórnia e na porção inferior do vale do Mississipi. A infecção humana segue a ingestão de água ou vegetação contaminadas, como a transmissão mão-para-boca de fezes canina carreando os ovos infectantes.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 85-3)

Devido ao cisto unilocular crescer lentamente, 5 a 20 anos podem se passar antes do surgimento de qualquer sintoma. Em muitos casos, parece que o cisto é tão velho quanto seu hospedeiro. A pressão do cisto em expansão em um órgão é normalmente o primeiro sinal da infecção. Na maioria dos casos, os cistos estão localizados no fígado ou pulmão. No fígado, o cisto pode exercer pressão tanto nos ductos biliares como nos vasos sanguíneos, e criar dor e ruptura biliar. Nos pulmões, os cistos podem produzir tosse, dispneia e dores torácicas. A ruptura dos cistos pode ocorrer em 20% dos casos, produzindo febre, urticária e ocasionalmente choque anafilático e morte, que são causados pela liberação de conteúdo antigênico do cisto. A ruptura do cisto também pode levar à disseminação da infecção, resultante da liberação de milhares de protoescólices. No osso, o cisto é responsável pela erosão da cavidade medular e do próprio osso. No cérebro, dano severo pode ocorrer como resultado do crescimento semelhante a um tumor do cisto para dentro do tecido cerebral.

Caso Clínico 85-3 Hidatidose

Yeh e colaboradores (N. Engl J Med 357:489-494, 2007) descrevem uma gestante de 36 anos, com 21 semanas de gestação, que apresentou uma história de 4 semanas de tosse seca e não produtiva. A paciente negava qualquer sintoma constitucional, não possuía nenhum novo animal de estimação, exposições ambientais ou contato com doentes. Era a sua primeira gestação e não haviam complicações. Ela não possuía nenhuma condição médica e não fumava ou bebia álcool. Era uma consultora financeira e gostava de correr e fazer caminhadas. Viajou para a Austrália, Ásia Central e África subsaariana no passado. A paciente parecia bem, com apropriado ganho de peso para o segundo trimestre de gestação. Seu exame físico, incluindo ausculta dos pulmões, estava normal. Sua tosse não melhorou com o uso de um broncodilatador inalatório. Estudos de imagem não foram realizados, devido a sua gravidez. Teve um parto vaginal normal, não complicado, 4 meses depois. Continuou a apresentar tosse seca e consultou seu médico, meses após o parto, para uma reavaliação de sua tosse. Naquele momento, seu exame físico e estudos laboratoriais estavam sem alterações dignas de nota. Um exame de raios X de tórax revelou uma massa de tecido mole, de 7cm de diâmetro, adjacente à borda direita do coração. Exames de TC de alta resolução do tórax confirmaram a presença de uma estrutura homogênea e preenchida por fluido, sem septo, que parecia estar no mediastino. Uma ecocardiografia subsequente também confirmou uma estrutura cística simples, com paredes finas circundando um fluido livre de eco, e que estava penetrando no átrio direito. Baseado nos achados radiográficos e ecocardiográficos, os clínicos que cuidavam da paciente acharam que a massa era provavelmente um cisto pericárdico benigno. Como ela não estava apresentando dispneia, a paciente negou a ressecção cirúrgica. Entretanto, devido à piora da tosse nos meses subsequentes, ela consultou um cirurgião torácico para ressecção eletiva. Os achados intraoperatórios revelaram um cisto pulmonar intraparenquimatoso no pulmão direito, que não estava fixado ao pericárdio ou brônquios. O cisto foi removido intacto sem grande derramamento do conteúdo. A coloração da parede do cisto com hematoxilina e eosina, após o corte transversal, demonstrou uma camada laminada acelular. O exame microscópico do conteúdo do cisto demonstrou protoescólices com acúleos e ventosas em um fundo de histiócitos e restos eosinofílicos consistentes com *Echinococcus granulosus*. A TC do abdome, após a remoção do cisto torácico, não revelou doença hepatobiliar. O exame pós-operatório em busca de anticorpos séricos contra *Echinococcus* foi positivo. O praziquantel foi administrado por 10 dias após a cirurgia e o albendazol por um mês após a cirurgia, sem complicações. Após este curso de terapia, a paciente teve resolução de sua tosse e retornou ao seu nível normal de atividade. Não houve nenhuma evidência de doença recorrente no acompanhamento por TC 6 meses após a cirurgia.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da **doença hidática** é difícil e depende primariamente dos achados clínicos, radiográficos e sorológicos. O exame radiológico, procedimentos de varredura, tomografia e técnicas de ultrassonografia são todos válidos e podem proporcionar a primeira evidência da presença do cisto. A aspiração do conteúdo do cisto pode demonstrar a presença dos protoescólices (areia hidática); entretanto, é contraindicada devido ao risco de anafilaxia e disseminação da infecção. O teste sorológico pode ser útil, mas os resultados são negativos em 10% a 40% das infecções.

Tratamento, Prevenção e Controle

A ressecção cirúrgica do cisto é o tratamento de escolha. Em alguns casos, o cisto é primeiramente aspirado para remover o fluido e a areia hidática, é instilada formalina para matar e desentoxicar o fluido remanescente; finalmente, ele é enrolado na forma de uma bolsa marsupial e suturado de forma a ficar fechado. Se a condição for inoperável devido à localização do cisto, a terapia médica com altas doses de albendazol, mebendazol ou praziquantel podem ser consideradas. O fator mais importante na prevenção e controle da **equinococose (no cão) e da hidatidose (no homem)** é a educação acerca da transmissão da infecção e o papel dos caninos no ciclo de vida. A higiene pessoal adequada e a lavagem das mãos e utensílios de cozinha em ambientes habitados por cães são importantes. Não se deve permitir a presença de cães nas proximidades de matadouros de animais e eles nunca devem ser alimentados com vísceras de animais abatidos. Em algumas áreas, a matança de cães errantes tem reduzido a incidência da infecção.

Echinococcus multilocularis

Fisiologia e Estrutura

Da mesma forma que a infecção por *E. granulosus*, a infecção humana por *E. multilocularis* é acidental (Fig. 85-8). As tênias adultas de *E. multilocularis* são primariamente encontradas em raposas e lobos, apesar de cães e gatos de fazendas albergarem os vermes em alguns ambientes rurais. Os hospedeiros intermediários que albergam o estágio de cisto são roedores (camundongos, arganazes, musaranhos e lemmings). Os humanos se tornam infectados com o estágio de cisto, como resultado do contato com fezes de raposas, cães ou gatos contaminadas por ovos. Caçadores e trabalhadores que manuseiam peles de animais podem se infectar através da inalação da poeira fecal que carreia ovos.

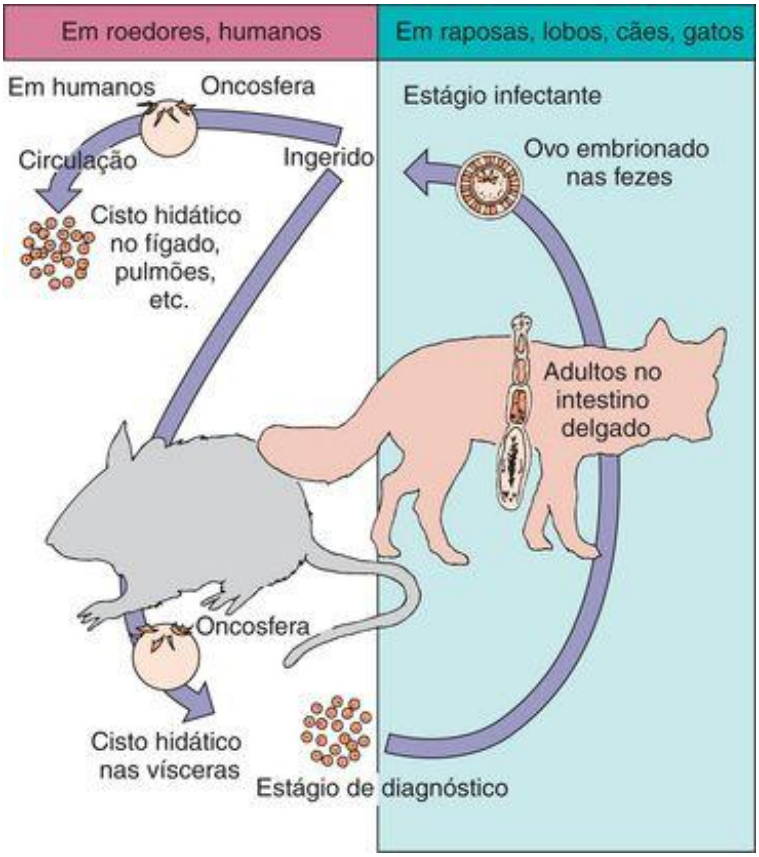


Figura 85-8 Ciclo de vida do *E. multilocularis*.

Ovos infectantes eclodem e penetram no trato intestinal para se tornarem oncosferas. Estas formas entram na circulação e fixam residência primariamente no fígado e pulmões, mas possivelmente também no cérebro.

O **cisto hidático alveolar** se desenvolve como uma estrutura alveolar ou em forma de colmeia, que não é recoberta por uma membrana laminada limitante unilocular do cisto mãe. O cisto cresce via brotamento exógeno, eventualmente se assemelhando a um carcinoma.

Epidemiologia

O *E. multilocularis* é encontrado primariamente nas áreas do norte como o Canadá, a antiga União Soviética, o norte do Japão, a Europa Central e Alasca, Montana, Dakota do Norte e do Sul, Minnesota e Iowa nos Estados Unidos. Há evidência de que o ciclo de vida pode estar se estendendo para outros estados do Meio Oeste, onde raposas e camundongos transmitem o organismo a cães e gatos e eventualmente, a humanos.

Síndromes Clínicas

O *E. multilocularis*, devido ao seu crescimento lento, pode estar presente em tecidos humanos por muitos anos, antes do aparecimento de sintomas. No fígado, os cistos eventualmente se assemelham a um carcinoma, com aumento do fígado e obstrução das vias biliares e portais. Frequentemente o crescimento leva à metástase nos pulmões e cérebro. Má-nutrição, ascite e hipertensão portal produzida por *E. multilocularis* criam a aparência de cirrose hepática. Dentre todas as infecções por vermes em humanos, o *E. multilocularis* é um dos mais letais. Se deixado sem tratamento, a taxa de mortalidade é de aproximadamente 70% em pessoas infectadas.

Diagnóstico Laboratorial

Diferente do *E. granulosus*, a forma tecidual de *E. multilocularis* não apresenta protoescólices e o material se assemelha tanto a uma neoplasia que mesmo os patologistas a confundem com carcinoma. Procedimentos radiológicos e técnicas de varredura são úteis e métodos sorológicos estão disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção cirúrgica do cisto é indicada, especialmente se toda uma área hepática puder ser retirada. A mesma abordagem cirúrgica se aplica a lesões nos pulmões, onde um lobo pode ser retirado. O mebendazol e o albendazol, utilizados para o tratamento de *E. granulosus*, têm produzido curas clínicas. No caso de *E. granulosus*, são críticos a educação, a higiene pessoal adequada e o tratamento anti-helmíntico de cães e gatos de fazendas. É extremamente importante o tratamento de animais que tenham contato com crianças.

Hymenolepis nana

Fisiologia e Estrutura

O *H. nana*, a **tênia anã**, possui apenas 2 a 4cm de comprimento, diferente dos organismos do gênero *Taenia*, que são muito grandes. O ciclo de vida também é simples e não requer um hospedeiro intermediário (Fig. 85-9), apesar de camundongos e besouros poderem estar infectados e participarem do ciclo.

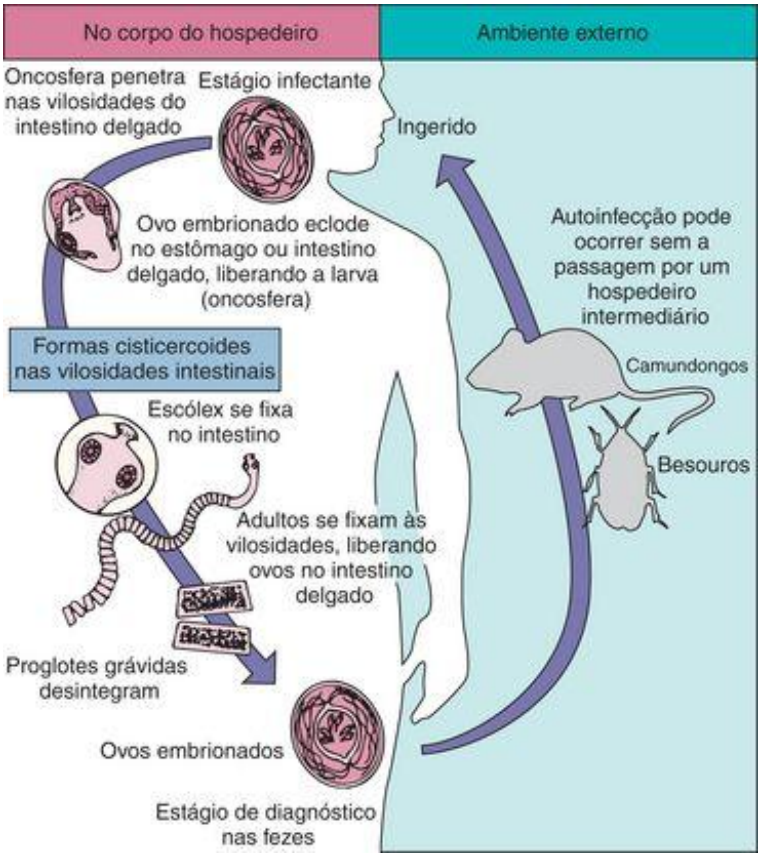


Figura 85-9 Ciclo de vida do *H. nana* (tênia anã).

A infecção se inicia quando os ovos embrionados são ingeridos e se desenvolvem nas vilosidades intestinais em um estádio larvário de cisticercoide. Esta larva cisticercoide fixa suas quatro ventosas musculares e coroa de acúleos à parede do intestino delgado e, pela maturação do verme adulto, produz um estróbilo de proglotes carregadas de ovos. Os ovos eliminados nas fezes são imediata e diretamente infectantes, iniciando um outro ciclo. A infecção também pode ocorrer através da ingestão de hospedeiros intermediários, insetos infectados.

O *H. nana* também pode causar autoinfecção, com um aumento subsequente da carga parasitária. Os ovos são capazes de eclodir no intestino, se desenvolver na larva cisticercoide, e crescer para as formas adultas sem deixar o hospedeiro. Isto pode levar a uma hiperinfecção, com cargas parasitárias bastante altas e sintomas clínicos severos.

Epidemiologia

O *H. nana* ocorre mundialmente em humanos e é também um parasito comum de camundongos. A infecção por cestoide é mais comum na América do Norte, ocasionalmente desenvolve seu estágio de cisticercoide em besouros; humanos e camundongos podem ingerir estes besouros em grãos e farinha contaminados. As crianças estão especialmente sob risco de infecção e devido ao ciclo de vida simples do parasito, as famílias com crianças em creches experimentam problemas no controle da transmissão deste organismo.

Síndromes Clínicas

Com apenas alguns vermes no intestino, não há sintomas. Nas infecções maciças, especialmente se a autoinfecção e hiperinfecção ocorrerem, os pacientes apresentam diarreia, dor abdominal, cefaleia, anorexia e outras queixas vagas.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos característicos de *H. nana*, com um embrião contendo seis acúleos e filamentos polares (Fig. 85-10).

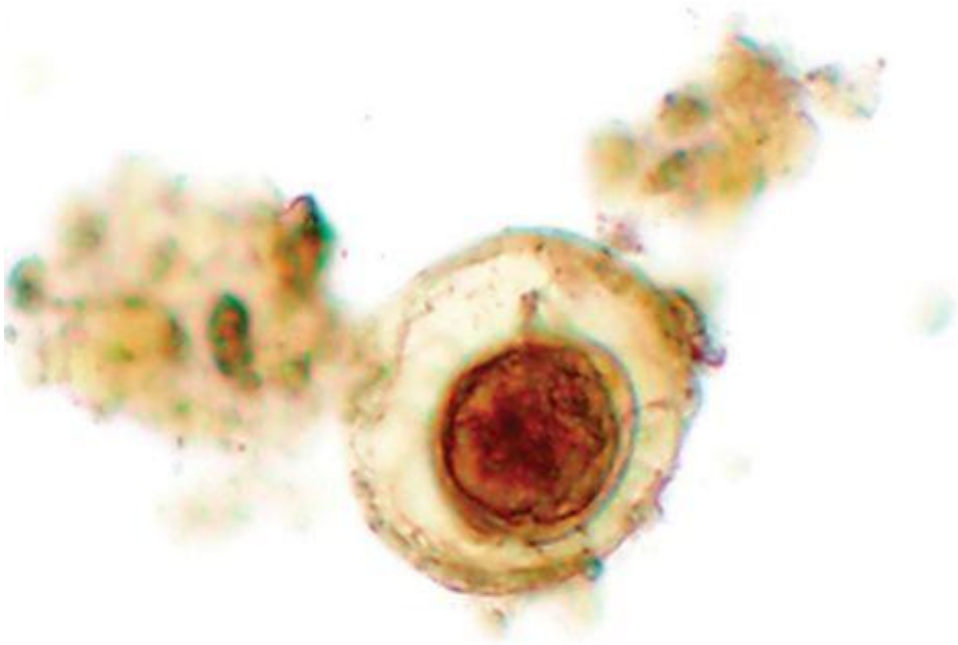


Figura 85-10 Ovo de *H. nana*. Os ovos possuem de 30 a 45µm de diâmetro e uma casca fina contendo um embrião hexacanto.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel; uma alternativa é a niclosamida. O tratamento dos casos, a melhora do saneamento e a higiene pessoal apropriada, especialmente nos ambientes familiares e institucionais, são essenciais para o controle da transmissão de *H. nana*.

Hymenolepis diminuta

Fisiologia e Estrutura

O *H. diminuta*, proximamente relacionado ao *H. nana*, é primariamente uma tênia de ratos e camundongos, mas também é encontrado em humanos. Ele difere de *H. nana* em comprimento, medindo de 20 a 60cm. O escólex não possui acúleos e os ovos são maiores, corados pela bile e não apresentam filamentos polares (Fig. 85-11). O ciclo de vida de *H. diminuta* é mais complexo do que o de *H. nana* e requer larvas de insetos ("vermes de alimentos") para alcançar o estágio infectante de cisticercoide.

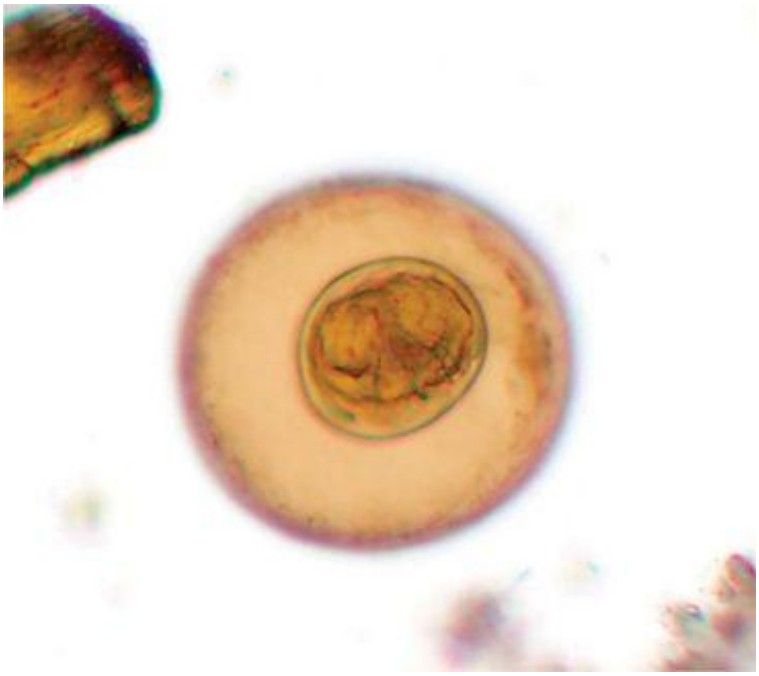


Figura 85-11 Ovo de *H. diminuta*. Os ovos são grandes (70 a 85µm a× 60 a 80µm) e possuem um embrião hexacanto circundado por uma membrana, que é largamente separada da casca externa.

Epidemiologia

As infecções foram encontradas em todo o mundo, incluindo os Estados Unidos. As larvas de besouros e outras larvas de insetos se tornam infectadas quando se alimentam de fezes de ratos que carreiam ovos de *H. diminuta*. Os humanos são infectados através da ingestão destas larvas de insetos (vermes de alimentos) em produtos derivados de grãos contaminados (p. ex., farinha, cereais).

Síndromes Clínicas

Infecções brandas não produzem sintomas, mas cargas parasitárias maiores produzem náusea, desconforto abdominal, anorexia e diarreia.

Diagnóstico Laboratorial

O exame das fezes demonstra o ovo corado por bile característico, que não possui filamentos polares.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida, com o praziquantel sendo uma alternativa. É essencial o controle de roedores em áreas onde produtos derivados de grãos são produzidos ou estocados. Inspeções completas, para detectar vermes de alimentos, de produtos derivados de grãos não cozidos também são importantes.

Dipylidium caninum

Fisiologia e Estrutura

O *D. caninum*, um pequeno cestoide medindo cerca de 15cm de comprimento, é primariamente um parasito de cães e gatos, mas pode infectar humanos, especialmente crianças cujas bocas sejam lambidas por animais infectados. O ciclo de vida envolve o desenvolvimento de formas larvárias em pulgas de cães e gatos. Estas pulgas, quando esmagadas pelos dentes do cão infestado, são carreadas na língua para a boca da criança, quando esta beija o animal ou este lambe a criança. A ingestão de pulgas infectadas leva à infecção intestinal.

Devido ao tamanho e formato das proglotes maduras e terminais, o *D. caninum* é frequentemente denominado de **tênia em forma de semente de abóbora**. Os ovos são distintos, pois ocorrem em cápsulas recobertas por uma membrana rígida e nítida; podem haver em torno de 25 ovos em uma cápsula, e um único ovo livre da cápsula é raramente visto.

Epidemiologia

O *D. caninum* ocorre mundialmente, em especial em crianças. Sua distribuição e transmissão estão diretamente correlacionadas aos cães e gatos infestados por pulgas.

Síndromes Clínicas

Infecções brandas são assintomáticas; cargas parasitárias maiores produzem desconforto abdominal, prurido anal e diarreia. O prurido anal resulta da migração ativa da proglote móvel.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela as cápsulas ovígeras sem cor (Fig. 85-12) e proglotes podem estar presentes nas fezes trazidas pelos pacientes ao médico.

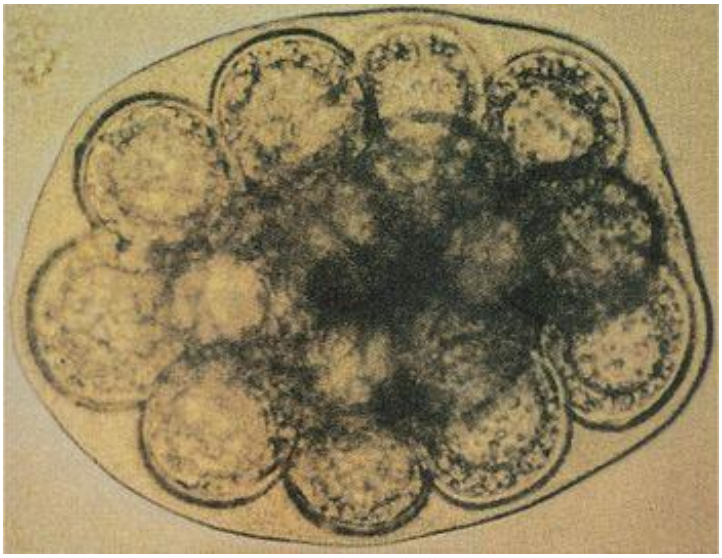


Figura 85-12 Ovos de *D. caninum*. Ovos livres são raramente visualizados. Ao contrário, as cápsulas ovígeras que contêm de 8 a 15 oncosferas providas de seis acúleos, envoltas por uma fina membrana, são mais comumente visualizadas nas amostras fecais.

(De Murray PR, et al: Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. Washington, DC, ASM Press, 1999.)

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida; o praziquantel e a paromomicina são alternativas. Cães e gatos devem ser tratados com anti-helmínticos e não se deve permitir que lambam a boca de crianças. Os animais de estimação devem ser tratados para erradicar pulgas.

Estudo de Caso e Questões

Um homem hispânico de 30 anos deu entrada na emergência após uma convulsão neurológica focal. O paciente havia emigrado recentemente do México e estava em seu estado usual de boa saúde antes da convulsão. O exame neurológico não revelou nenhum achado focal. Uma tomografia computadorizada da cabeça revelou pequenas lesões císticas múltiplas em ambos os hemisférios cerebrais. A calcificação pontuada foi notada em diversas lesões. Uma punção lombar revelou um nível de glicose de 65mg/dL (normal) e um nível de proteína de 38mg/dL (normal) no fluido cerebroespinhal. A contagem de leucócitos foi de 20/mm^3 (anormal) com um diferencial de 5% de neutrófilos, 90% de linfócitos e 5% de monócitos. Um teste intradérmico derivativo com proteína purificada foi negativo, com controles positivos. O teste sorológico para vírus da imunodeficiência humana foi negativo.

1. Qual era o diagnóstico diferencial deste processo neurológico do paciente?

1. Este paciente apresenta sinais neurológicos focais. O diagnóstico diferencial baseia-se em uma lesão massiva, incluindo abscessos tumorais, bacterianos ou fúngicos ou cisticercose.

2. Qual(is) parasito ou parasitos podem ter causado esta condição?

2. O mais provável parasito causador desta condição é a tênia do porco, *Taenia solium*.

3. Que testes diagnósticos estavam disponíveis para esta infecção?

3. Os testes diagnósticos incluem imagem radiográfica revelando cisticercos calcificados. Em lesões no SNC como estas, geralmente não é realizada biópsia. Estudos sorológicos demonstrando anticorpos para *T. solium* podem ser úteis.

4. Quais eram as opções terapêuticas para este paciente?

4. Os fármacos de escolha para cisticercose são praziquantel ou albendazol. Administração concomitante de esteroides pode ser necessária para minimizar a resposta inflamatória às larvas mortas. Devido às múltiplas lesões, a excisão cirúrgica não é uma opção terapêutica viável.

5. Como as pessoas se tornam infectadas por este parasito?

5. A cisticercose é geralmente adquirida por transmissão fecal-oral (ingestão de ovos) ou por autoinfecção onde uma proglote grávida é regurgitada do intestino delgado para o estômago, permitindo que os ovos eclodam e liberem a oncosfera infectante.

6. Que locais teciduais (além do sistema nervoso central) podem estar envolvidos? Como estes focos adicionais de infecção poderiam ser documentados?

6. Outros locais que podem estar envolvidos incluem olhos e músculos esqueléticos. O envolvimento ocular pode ser detectado pelo exame direto do olho e roentgenogramas de tecidos moles podem detectar os cisticercos calcificados.

Bibliografia

Budke CM, Deplazes P, Torgenson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:296-303.

Cabello FC. Salmon aquaculture and transmission of the fish tapeworm. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:169-171.

Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17:107-135.

Garcia HH, Jimenez JA, Escalante H, et al. Cestodes. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.

Garcia HH, et al. Current consensus guidelines for treatment of neurocysticercosis. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:747-756.

Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology, 4th ed., Washington DC: ASM Press, 2001.

Markell EK, John DT, Krotoski WA. Markell and Voges' Medical Parasitology, 8th ed., Philadelphia: WB Saunders, 1999.

Sorvillo FJ, DeGiorgio C, Waterman SH. Deaths from cysticercosis, United States. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:230-235.

Strickland GT. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Philadelphia: WB Saunders, 2000.

86 Artrópodes

Os artrópodes correspondem ao maior dos filos animais, com mais de um milhão de espécies. O filo *Arthropoda* compreende animais invertebrados com corpo segmentado, diversos pares de apêndices articulados, simetria bilateral e um exoesqueleto quitinoso rígido que sofre muda periodicamente à medida que o animal cresce. Caracteristicamente, os artrópodes se desenvolvem de ovo a adulto por um processo conhecido como **metamorfose**. À medida que sofrem maturação, os organismos passam por diversos estágios morfológicos distintos, incluindo ovo, larva ou ninfa, pupa (alguns insetos) e adulto. Baseando-se no número ou na severidade da doença que causam, cinco classes de artrópodes possuem importância médica: Myriapoda, Pentastomida, Crustacea, Chelicerata e Insecta (Tab. 86-1).

Tabela 86-1 Classes de Artrópodes de Importância Médica

Filo	Classe	Organismos
Arthropoda	*Myriapoda*	Centopeias
	Pentastomida	Pentastomídeos
	Crustacea	Copépodes, decápodes (caranguejos, lagostins)
	Chelicerata	Aranhas, escorpiões, ácaros, carrapatos
	Insecta	Moscas, mosquitos, piolhos, pulgas, hemípteras, insetos vesicantes

Os artrópodes ou suas larvas podem afetar a saúde humana de muitas maneiras. A maioria dos artrópodes atua indiretamente na doença humana; transmitem mas não produzem a doença. Os artrópodes podem transmitir a doença mecanicamente, como quando moscas carreiam patógenos bacterianos entéricos das fezes para o alimento humano. De importância excepcional, está a habilidade de muitos artrópodes em atuarem como **vetores biológicos e hospedeiros intermediários** na transmissão e ciclo de desenvolvimento de vírus, bactérias, protozoários e metazoários (Tab. 86-2). Certos artrópodes podem causar injúria direta através de suas picadas ou ferroadas. Outras espécies, como piolhos, ácaros de sarna e larvas invasoras de tecidos, podem atuar como parasitos verdadeiros. Outras espécies podem ainda funcionar tanto como parasitos quanto como vetores de doenças.

Tabela 86-2 Seleção de Doenças Humanas Transmitidas por Artrópodes – *Continuação*

Vetor Primário ou Hospedeiro Intermediário	**Doença**	**Agente Etiológico**
Chelicerata		
Ácaro: espécies de *Leptotrombidium*	Tifo rural (doença de tsutsugamushi)	*Rickettsia tsutsugamushi*
Ácaro: *Liponyssoides sanguineus*	Riquetsiose vesicular	*Rickettsia akari*
Carrapato: espécies de *Dermacentor*	Tularemia	*Francisella tularensis*

Carrapato: espécies de *Dermacentor* e outros carrapatos ixodídeos	Febre Maculosa das Montanhas Rochosas	*Rickettsia rickettsii*
Carrapato: espécies de *Dermacentor, Boophilus*	Febre Q	*Coxiella burnetii*
Carrapato: espécies de *Dermacentor*	Febre do Carrapato do Colorado	*Orbivirus*
Carrapato: espécies de *Ornithodoros*	Febre recorrente	Espécies de *Borrelia*
Carrapato: espécies de *Ixodes*	Babesiose	*Babesia microti*
Carrapato: espécies de *Ixodes*	Doença de Lyme	*Borrelia burgdorferi*
Carrapato: *Dermacentor variabilis, Amblyomma americanum*	Erlichiose	*Ehrlichia risticii*

Crustacea		
Copépode: espécies de *Cyclops*	Difilobotríase	*Diphyllobothrium latum*

Copépode: espécies de *Cyclop*s	Dracunculíase	*Dracunculus medinensis*
Caranguejo, lagostim: várias espécies de água doce	Paragonimíase	*Paragonimus westermani*

Insecta		
Piolho: *Pediculus humanus*	Tifo epidêmico	*Rickettsia prowazekii*
Piolho: *Pediculus humanus*	Febre das trincheiras	*Rickettsia quintana*
Piolho: *Pediculus humanus*	Febre recorrente transmitida por piolho	*Borrelia recurrentis*
Pulga: *Xenopsylla cheopis*, várias outras pulgas de roedores	Peste	*Yersinia pestis*
Pulga: *Xenopsylla cheopis*	Tifo murino	*Rickettsia typhi*
Pulga: diversas espécies	Dipilidíase	*Dipylidium caninum*
Hemiptera: espécies de *Triatoma, Panstrongylus*	Doença de Chagas	*Trypanosoma cruzi*
Besouros: besouro da farinha	Hymenolepíase	*Hymenolepis nana*
		Trypanosoma brucei

Mosca: espécies de *Glossina* (moscas tsé-tsé)	Tripanossomíase africana	*Trypanosoma brucei rhodesiense* e *T. b. gambiense*
Inseto, simulídeo: espécies de *Simulium*	Oncocercíase	*Onchocerca volvulus*
Inseto: espécies de *Chrysops*	Tularemia	*Francisella tularensis*
Inseto, flebotomíneo: espécies de *Phlebotomus* e *Lutzomyia* (mosquito palha)	Leishmaníase	Espécies de *Leishmania*
Inseto, flebotomíneo: espécies de *Phlebotomus*	Bartonelose	*Bartonella bacilliformis*
Mosquito: espécies de *Anopheles*	Malária	Espécies de *Plasmodium*
Mosquito: *Aedes aegypti*	Febre amarela	*Flavivirus*
Mosquito: espécies de *Aedes*	Dengue	*Flavivirus*
Mosquito: *Culiseta melanura, Coquillettidia perturbans, Aedes vexans*	Encefalite equina do leste	*Alphavirus*
Mosquito: *Aedes triseriatus*	Encefalite de La Crosse	*Bunyavirus*
Mosquito: espécies de *Culex*	Encefalite de St. Louis	*Flavivirus*
Mosquito: espécies de *Culex*	Encefalite equina venezuelana	*Alphavirus*
Mosquito: *Culex tarsalis*	Encefalite equina do oeste	*Alphavirus*
Mosquito: diversas espécies	Filaríase bancroftiana	*Wuchereria bancrofti*
Mosquito: diversas espécies	Filaríase malaiana	Espécies de *Brugia*
Mosquito: diversas espécies	Dirofilaríase	*Dirofilaria immitis*

Não é o propósito deste capítulo considerar a entomologia médica em detalhes. Ao contrário, nosso propósito é fornecer uma breve visão geral dos mais importantes aspectos dos artrópodes e sua relação com a doença humana. Informações mais detalhadas acerca de artrópodes de importância médica e da terapia e controle das infestações por artrópodes podem ser encontradas nas referências listadas na Bibliografia.

Myriapoda

Centopeias

Fisiologia e Estrutura

As centopeias são artrópodes alongados, multissegmentados (15 a mais de 181 segmentos), com muitas patas e traqueados. Elas possuem cabeça e tronco distintos. O corpo é achatado dorsoventralmente e cada segmento do tronco alberga um único par de patas. Os **maxilípedes**, ou garras venenosas, estão situados no primeiro segmento e são utilizados para captura da presa. Os milípedes são algumas vezes classificados com as centopeias; entretanto, os milípedes não apresentam as garras venenosas das centopeias e apresentam duas pares de pernas por segmento.

Epidemiologia

A maioria das centopeias é predadora insetívora e são comumente encontradas em ambientes escuros e úmidos, como áreas abaixo de toras, entre o lixo e no interior de prédios antigos. As picadas humanas são quase que invariavelmente resultantes de exposição acidental ao organismo durante atividades ao ar livre.

Síndromes Clínicas

A picada da centopeia pode ser extremamente dolorosa e causar edema no local da picada. Relatos dos efeitos de picadas de centopeias em humanos são conflitantes. Uma espécie, *Scolopendra gigantea*, encontrada na América Central e do Sul e nas Ilhas Galápagos, já causou diversas mortes relatadas. Com exceção de *Scolopendra* e gêneros tropicais relacionados, a picada da maioria das centopeias é inofensiva aos humanos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de uma picada de centopeia inclui medidas locais como a aplicação de compressas de bicarbonato de sódio ou soluções de sais de Epsom. O controle consiste na remoção de lixo próximo a residências.

Pentastomida

Pentastomídeos

Os pentastomídeos, ou **vermes em forma de língua**, são endoparasitos hematófagos de répteis, aves e mamíferos. Seu estado taxonômico é incerto. Alguns cientistas incluem os pentastomídeos entre os artrópodes, pois suas larvas superficialmente se assemelham àquelas dos ácaros. Outros os consideram como anelídeos e ainda outros os colocam em um filo totalmente separado. Para o propósito desta discussão, eles serão considerados como artrópodes.

Fisiologia e Estrutura

Os pentastomídeos são artrópodes degenerados, vermiformes, que vivem principalmente nas vias nasais e respiratórias de répteis, aves e mamíferos. Os pentastomídeos adultos são parasitos esbranquiçados, cilíndricos ou achatados, que possuem duas regiões corpóreas distintas: uma cabeça anterior, ou cefalotórax e um abdome. Os adultos são alongados e podem atingir um comprimento de 1 a 10cm. A cabeça possui uma boca e dois pares de ganchos. Apesar do abdome poder parecer anelado, ele não é segmentado (Fig. 86-1). Os pentastomídeos possuem órgãos reprodutivos e digestivos; entretanto, os sistemas circulatório e respiratório estão ausentes.

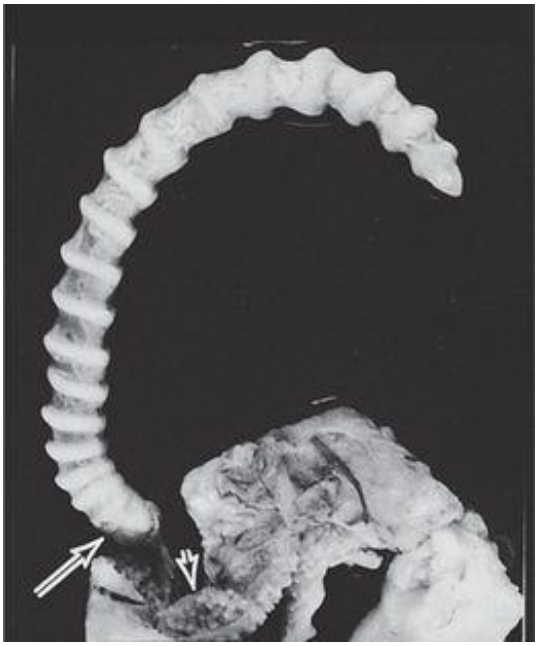


Figura 86-1 Fêmea adulta de um pentastomídeo (*Armillifer armillatus*) fixada à superfície respiratória do pulmão (seta curta) de uma cobra de rochas. Note o pequeno cefalotórax (seta longa) e um abdome longo e anelado.

(De Binford CH, Connor DH: Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases, vol 2. Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1976.)

Os pentastomídeos adultos são encontrados nos pulmões de répteis e nas vias nasais de mamíferos. Muitos vertebrados, incluindo humanos, podem servir como hospedeiros intermediários. Os ovos embrionados são eliminados nas fezes ou secreções respiratórias de hospedeiros definitivos infectados e contaminam vegetação ou água, que é então ingerida por um dos diversos hospedeiros intermediários possíveis (peixes, roedores, cabras, ovelhas ou humanos). Os ovos eclodem no intestino e o primeiro estádio larvário penetra na parede intestinal e se fixa ao peritônio. A larva sofre maturação no peritônio e se desenvolve em larva infectante, se encista nas vísceras ou morre e se torna calcificada. Nos cortes teciduais, as

larvas encistadas podem ser identificadas por glândulas acidófilas, uma cutícula quitinosa, e ganchos proeminentes, que estão presentes na porção anterior do organismo. Glândulas subcuticulares e fibras musculares estriadas também podem ser observadas abaixo da cutícula.

Os humanos também podem se infectar através da ingestão de carne inadequadamente cozida proveniente de répteis ou outros hospedeiros definitivos infectados, ou através da ingestão de carne de hospedeiros intermediários infectados (p. ex., cabras, ovelhas) contendo larvas infectantes. No último caso, a larva infectante migra do estômago para os tecidos nasofaríngeos, onde se desenvolve em pentastomídeo adulto e produz os sintomas da **síndrome halzoun** (ver seção de Síndromes Clínicas). Neste caso, o hospedeiro humano é considerado um hospedeiro definitivo temporário.

Epidemiologia

A maioria das infecções pelos pentastomídeos é relatada na Europa, África e América Central e do Sul. A infecção é comum na Malásia, onde os estudos através de autópsias revelaram **pentastomíase** em até 45% das pessoas. Como anteriormente descrito, a infecção é adquirida pela ingestão de vegetais crus ou água contaminada com ovos de pentastomídeos, ou pelo consumo de carne crua ou mal-cozida de animais infectados.

Síndromes Clínicas

Na maioria dos casos, a infecção é assintomática e é descoberta acidentalmente durante exame radiológico (larvas calcificadas), cirurgia ou autópsia. Pneumonite, pneumotórax, peritonite, meningite, nefrite e icterícia obstrutiva já foram atribuídas a infecções por pentastomídeos; entretanto, uma prova definitiva de uma relação causal entre a doença e a presença do parasito é frequentemente ausente. A infecção localizada do olho já foi relatada, presumivelmente secundária à inoculação direta.

A síndrome halzoun, causada pela fixação dos pentastomídeos adultos aos tecidos nasofaríngeos, é caracterizada por desconforto faríngeo, tosse paroxística, espirros, disfagia e vômito. A asfixia é raramente relatada.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é feito através da identificação de um pentastomídeo em uma amostra de biópsia obtida durante cirurgia ou autópsia. Ocasionalmente, larvas calcificadas podem ser observadas em filmes de raios X do abdome ou tórax, proporcionando um diagnóstico presuntivo. Não existem testes sorológicos úteis.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento não é normalmente garantido. Em pacientes sintomáticos, a remoção cirúrgica de parasitos livres ou encistados deve ser tentada. Medidas preventivas incluem o cozimento completo da carne e vegetais e evitar água contaminada.

Crustacea

Os crustáceos são artrópodes que respiram primariamente por brânquias e podem ser de água doce e salgada. Aqueles que possuem importância médica são encontrados na água doce e servem como hospedeiros intermediários de diversos vermes (Tab. 86-2).

Os copépodes, ou pulgas da água, são representados pelos gêneros *Cyclops* e *Diaptomus*. Os grandes crustáceos, denominados de **decápodes**, incluem caranguejos e lagostins. Estes crustáceos também servem como segundos hospedeiros intermediários do trematódeo pulmonar *Paragonimus westermani* (Tab. 86-2).

Copépodes

Fisiologia e Estrutura

Os copépodes são organismos aquáticos pequenos e simples. Eles não possuem carapaça, apresentam um par de maxilas e cinco pares de patas birramosas para natação. Existem formas livres e parasitárias. Os gêneros *Diaptomus* e *Cyclops* possuem importância médica.

Os copépodes são hospedeiros intermediários no ciclo de vida de diversos parasitos humanos, incluindo *Dracunculus medinensis* (dracunculíase), *Diphyllobothrium latum* (difilobotríase), *Gnathostoma spinigerum* (gnatostomíase) e espécies de *Spirometra* (esparganose). Os copépodes foram associados a um único caso de abscesso perirretal, mas geralmente não são considerados como causa primária de infecção humana.

Epidemiologia

Os copépodes possuem uma distribuição cosmopolita e servem como hospedeiros intermediários para doenças por helmintos nos Estados Unidos e Canadá, como na Europa e nos trópicos. A infecção humana por estes helmintos parasitos resulta da ingestão de água contaminada por copépodes ou da ingestão de carne crua ou insuficientemente cozida de peixes infectados. Pseudoepidemias de copépodes presentes em amostras de fezes humanas, submetidas para exame em busca de ovos e parasitos, foram relatadas em Nova York. Em torno 40% das amostras fecais submetidas à técnica de concentração no exame parasitológico de fezes continham copépodes, presumivelmente como resultado da contaminação do abastecimento de água de um hospital. O único caso relatado de infecção humana aparente por copépodes ocorreu neste hospital.

Síndromes Clínicas

Os sinais e sintomas clínicos associados às infecções helmínticas, que os copépodes servem como hospedeiros intermediários, estão descritas nos Capítulos 83 e 85. O único caso de infecção humana aparente por copépodes ocorreu em um homem de 22 anos que possuía doença de Crohn e que apresentou um abscesso perirretal. A drenagem do abscesso revelou material purulento que, ao exame microscópico, continha numerosos copépodes circundados por leucócitos. Foi hipotetizado que os copépodes foram introduzidos em lesões perirretais preexistentes durante banhos de assento, que foram preparados com a água proveniente da torneira, não filtrada e que poderiam conter copépodes. Apesar de os copépodes contidos no interior do material do abscesso serem viáveis e poderem estar se alimentando de tecido corpóreo de forma eficaz, se acreditou que os copépodes provavelmente não eram a causa primária do abscesso.

Diagnóstico Laboratorial

Os diagnósticos laboratoriais das infecções helmínticas, nas quais os copépodes servem como hospedeiros intermediários, são descritos nos Capítulos 83 e 85. Em geral, a infecção é demonstrada pela detecção do organismo infectante através de exame microscópico do material clínico.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento específico das infecções helmínticas associadas aos copépodes é discutido nos Capítulos 83 e 85. A prevenção destas infecções requer atenção às medidas padrões de saúde pública, como a cloração e filtração da água e cozimento completo de todos os peixes. Pessoas infectadas não devem se banhar em águas utilizadas para ingestão e águas suspeitas devem ser evitadas.

Decápodes

Os decápodes incluem os pitus, camarões, lagostas, lagostins e caranguejos. O cefalotórax destes animais é sempre recoberto por uma carapaça. Eles possuem três pares anteriores de apêndices torácicos, que são modificados em maxilípedes birramosos e cinco pares posteriores que são desenvolvidos em pernas unirramosas. Caranguejos e lagostins são importantes para a medicina como segundos hospedeiros intermediários do trematódeo pulmonar *P. westermani* . Os aspectos parasitários, epidemiológicos e clínicos da infecção por *P. westermani* são descritos no Capítulo 84. O cozimento completo dos caranguejos e lagostins é a forma mais eficaz de prevenir a infecção por *P. westermani*.

Chelicerata (Arachnida)

Aranhas

As aranhas possuem uma variedade de traços característicos que permitem uma fácil identificação. Especificamente, elas possuem oito patas, não possuem antenas, o corpo é dividido em duas regiões (cefalotórax e abdome) e um abdome não segmentado com fiandeiras localizadas posteriormente. Todas as aranhas verdadeiras produzem veneno e matam suas presas através da picada; entretanto, poucas possuem presas (**quelíceras**) poderosas o suficiente para perfurar a pele humana, ou veneno potente o suficiente para produzir mais do que uma irritação local transitória na pele. As aranhas venenosas podem ser classificadas como as que causam **araneísmo sistêmico** e aquelas que causam **araneísmo necrótico**. Esta classificação se baseia no tipo de dano tecidual produzido.

O araneísmo sistêmico é primariamente causado por tarântulas e viúvas negras. As tarântulas (família *Theraphosidae*) são aranhas grandes e peludas dos trópicos e subtrópicos. As tarântulas são de pouca importância, pois não são muito agressivas e evitam as habitações humanas. Sua picada causa dor intensa e uma fase de agitação, seguida de estupor e sonolência. A viúva negra, *Latrodectus mactans*, está dispersa ao longo do sul e oeste dos Estados Unidos. Espécies relacionadas ao gênero *Latrodectus* são encontradas ao longo de regiões temperadas e tropicais de todos os continentes, mas nenhuma é primariamente doméstica; portanto, seu contato com humanos é limitado.

O araneísmo necrótico é produzido por aranhas que pertencem ao gênero *Loxosceles*. As picadas destas aranhas podem produzir reações teciduais severas. A *Loxosceles reclusa*, a aranha marrom, é uma aranha deste gênero que possui importância médica.

Viúvas Negras

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

A fêmea da viúva negra (*L. mactans*) é facilmente reconhecida pela presença de um abdome globoso, negro e brilhoso, albergando a característica marca em forma de ampulheta laranja ou avermelhada na superfície ventral (Fig. 86-2). As fêmeas variam de 5 a 13,5mm em comprimento, mas os machos são muito menores.

Figura 86-2 Fêmea de uma aranha viúvanegra (*L. mactans*).

(De Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

O veneno da viúva negra é uma potente neurotoxina periférica, que é liberada por um par de estruturas semelhantes a pinça, ou quelíceras. Apenas as fêmeas das aranhas *Latrodectus* são perigosas aos humanos; os machos são pequenos e franzinos, possuindo uma picada ineficaz.

EPIDEMIOLOGIA

Estas aranhas frequentam pilhas de madeira e galhos, prédios velhos de madeira, celeiros, toras ocas e banheiros. Devido a estas localizações, a picada é frequentemente localizada na genitália, nádegas, ou extremidades. As viúvas negras são comuns no sudoeste dos Estados Unidos, mas são encontradas ao longo de regiões temperadas e tropicais tanto do Novo como do Velho Mundo.

SÍNDROMES CLÍNICAS

Como é verdadeiro na maioria dos casos de envenenamento, o quadro clínico depende de fatores como a quantidade de veneno injetada, a localização da picada, e a idade, peso e sensibilidade do paciente. Logo após a picada, ocorre uma dor aguda, mas pouco ou nenhum edema imediato. Isto é seguido por vermelhidão local, edema e queimação. Sinais e sintomas sistêmicos geralmente ocorrem dentro de uma hora após a picada e incluem câimbras musculares, dores torácicas, náusea, vômito, diaforese, espasmos intestinais e dificuldades visuais. Câimbras tetânicas abdominais produzindo um abdome “em tábua” são altamente características e podem imitar um abdome agudo cirúrgico. Os sintomas agudos normalmente diminuem dentro de 48 horas; entretanto, nos casos severos, a paralisia e o coma podem preceder insuficiência cardíaca ou respiratória. A mortalidade devido à picada da viúva negra é estimada em 4% a 5%.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

Adultos saudáveis normalmente recuperam, mas pequenas crianças ou pessoas enfraquecidas sofrem consideravelmente destas picadas e podem morrer sem tratamento. Os espasmos musculares podem ser severos e podem necessitar de administração intravenosa de gluconato de cálcio ou outros agentes relaxantes musculares. Um antiveneno específico está disponível e permanece o tratamento de escolha. Ele é válido se for administrado logo após a picada. Devido ao fato de ele ser preparado a partir do soro de equinos hiperimunizados, os pacientes devem ser testados para sensibilidade ao soro equino antes da administração. A hospitalização é recomendada para o cuidado de pessoas com suspeita ou reconhecida picada.

Uma boa limpeza da casa pode ser o controle mais simples e eficaz para aranhas em casas. Isto inclui a limpeza de teias e a remoção cuidadosa de entulhos ao redor das casas e galpões adjacentes. As crianças devem ser desencorajadas a brincar em pilhas de madeira e em galpões de madeira.

Aranha Marrom

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Aranhas que produzem araneísmo necrótico pertencem ao gênero *Loxosceles*. Estas

aranhas são de coloração amarela a marrom, de tamanho médio (5 a 10mm de comprimento) e com patas relativamente longas (Fig. 86-3). Elas comumente exibem duas características distintivas: uma marca escura em forma de violino na parte dorsal do cefalotórax e seis olhos dispostos em três pares, formando um semicírculo. O veneno injetado pela fêmea ou macho é uma necrotoxina (que também pode ter propriedades hemolíticas) e causa lesões necróticas com danos teciduais profundos.

Figura 86-3 Fêmea de uma aranha marrom (*L. laeta*).

(Cortesia do Professor H Schenone; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

EPIDEMIOLOGIA

Quatro espécies do gênero *Loxosceles* são encontradas nas Américas. *L. reclusa* é encontrada no sul e centro dos Estados Unidos, *L. arizonica* ocorre nos estados do oeste, e *L. laeta* na América do Sul. A *L. reclusa* é encontrada ao ar livre em pilhas de madeira e entulhos, em climas quentes, e em porões ou áreas de armazenamento em regiões mais frias. A *L. laeta* é encontrada em armários e cantos dos cômodos. Os humanos são picados apenas quando a aranha é ameaçada ou perturbada.

SÍNDROMES CLÍNICAS

Inicialmente, a picada das espécies do gênero *Loxosceles* tende a ser indolor; entretanto, várias horas depois, prurido, edema e dor podem se desenvolver na área da picada. Frequentemente uma vesícula ou bolha pode se formar no local. Sintomas sistêmicos gerais não são usuais, mas quando presentes podem incluir calafrios, cefaleia e náusea. Dentro de 3 a 4 dias, a bolha se rompe e pode ser seguida de ulceração e necrose irradiante, que não se cura mas continua a se espalhar por semanas ou meses.

Coagulação e hemólise intravascular podem ocorrer e acompanhadas de hemoglobinúria e insuficiência cardíaca e renal. Esta síndrome hemolítica pode ser ameaçadora à vida e ocorre mais comumente após a picada de *L. laeta*. Na América do Sul, esta síndrome é conhecida como **loxoscelismo visceral**.

DIAGNÓSTICO

A discriminação de uma espécie de aranha não é possível a partir da aparência da lesão somente; entretanto, um diagnóstico funcional é comumente baseado na aparência da formação da bolha ao redor das marcas de perfuração e na natureza da lesão em desenvolvimento. A aranha pode ser identificada facilmente através dos traços característicos previamente descritos. Um ensaio de ELISA foi desenvolvido para confirmar o diagnóstico de picada por aranha marrom, mas não está amplamente disponível.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

O tratamento da picada por aranha marrom é variável e se baseia na severidade da reação necrótica. A maioria das picadas nos Estados Unidos é inconsequente e não necessita de terapia específica. A limpeza da ferida e a administração de profilaxia antitetânica e antibióticos, para prevenir infecção secundária, também podem ser indicadas. A cicatrização geralmente não é complicada, e o debridamento ou excisão não devem ser realizados por 3 a 6 semanas para permitir que a cicatrização natural se inicie. A excisão e o enxerto de pele podem ser necessários para picadas que não tenham cicatrizado em 6 a 8 semanas. A terapia sistêmica com corticosteroides pode ser útil no tratamento da síndrome hemolítica, mas é de pouco valor comprovado na prevenção ou tratamento de necrose cutânea. Apesar de não disponível nos Estados Unidos, um antiveneno é utilizado na América do Sul para o tratamento do loxoscelismo visceral.

Medidas preventivas são semelhantes às recomendadas para as viúvas negras. As aranhas *Loxosceles* (e outras) podem ser controladas em residências com componentes inseticidas.

Escorpiões

Fisiologia e Estrutura

O escorpião típico é alongado, com garras (ou **pedipalpos**) conspícuas semelhantes a pinças localizadas na porção anterior do corpo, quatro pares de patas adaptadas para locomoção e um abdome nitidamente organizado, que diminui de espessura para formar um ferrão curvo, oco e semelhante a uma agulha (Fig. 86-4). Quando o escorpião é perturbado, ele utiliza seu ferrão para defesa. Os escorpiões machos e fêmeas podem ferroar. O veneno é injetado através do ferrão a partir de duas glândulas no abdome. A maioria dos escorpiões é incapaz de penetrar a pele humana ou injetar veneno suficiente para causar dano real; entretanto, poucas espécies são capazes de causar ferimentos dolorosos que podem levar à morte.

Figura 86-4 Escorpião (espécies de *Centruroides*).

(Cortesia de Dr JC Cokendolpher; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Epidemiologia

Os escorpiões considerados perigosos podem ser encontrados no sudoeste dos Estados Unidos, México e Venezuela. Isto inclui diversas espécies do gênero *Centruroides*, que correspondem por aproximadamente 1.000 mortes anualmente. Também são importantes várias espécies de *Tityus*, encontradas em Trinidad, Argentina, Brasil, Guiana e Venezuela. Crianças abaixo de 5 anos de idade são mais propensas a serem fatalmente ferroadas por escorpiões.

Os escorpiões são noturnos e durante o dia permanecem escondidos sob toras, rochas e outros lugares escuros e úmidos. Eles invadem habitações humanas durante a noite, onde podem se esconder em tênis, toalhas, roupas e armários.

Síndromes Clínicas

O efeito de uma ferroada de escorpião em um paciente é altamente variável e depende de fatores como a espécie e idade do escorpião, o tipo e quantidade de veneno injetado, e a idade, tamanho, e sensibilidade da pessoa que foi ferroada. Apesar do ferrão de muitos escorpiões ser relativamente não tóxico e produzir apenas sintomas locais, outras ferroadas

podem ser bastante sérias. Os escorpiões produzem dois tipos de veneno: uma neurotoxina e uma toxina hemorrágica ou hemolítica. A toxina hemolítica é responsável por reações locais no local da ferroada, incluindo dor irradiante e queimação; edema; descoloração e necrose. A neurotoxina produz reação local mínima, mas, por outro lado, produz efeitos sistêmicos severos, incluindo calafrios, diaforese, salivação excessiva, dificuldade de fala e deglutição, espasmo muscular, taquicardia e convulsões generalizadas. Em casos severos, a morte pode resultar de edema pulmonar e paralisia respiratória.

Diagnóstico

Sinais e sintomas locais ou sistêmicos acoplados à evidência física de um único ponto de penetração na pele são normalmente suficientes para estabelecer o diagnóstico. O paciente pode ter observado o escorpião ou trazido este para a identificação. Apesar de os escorpiões serem relativamente fáceis de identificar, é importante entender que outros aracnídeos não venenosos se assemelham fortemente aos escorpiões. Um entomologista ou parasitologista deve ser consultado se houver alguma dúvida taxonômica.

Tratamento, Prevenção e Controle

O manejo das ferroadas de escorpiões varia. Na ausência de sintomas sistêmicos, somente o tratamento paliativo pode ser necessário. A dor pode ser aliviada através do uso de analgésicos ou injeção local de lidocaína (Xilocaína®); entretanto, os opiatos parecem aumentar a toxicidade. A crioterapia local pode reduzir o edema e retardar a absorção sistêmica da toxina. Bolsas quentes produzem vasodilatação e podem acelerar a distribuição da toxina sistemicamente e ser contraindicadas. O antiveneno está disponível e é eficaz se administrado logo após a ferroada. Crianças bastante jovens com sintomas sistêmicos devem ser tratadas como emergências médicas. Sintomas sistêmicos e choque devem receber tratamento de suporte.

Medidas preventivas incluem o uso de pesticidas químicos para reduzir as populações de escorpiões. A remoção de entulhos ao redor de residências pode reduzir os locais de esconderijo e reprodução.

Ácaros

Os ácaros são artrópodes pequenos, de oito patas, caracterizados por um corpo globoso e sem antenas. Um grande número de espécies de ácaros é de vida livre, ou estão normalmente associados a outros vertebrados (p. ex., aves, roedores) e podem causar dermatite em humanos em raras ocasiões. O número de ácaros que são considerados parasitos humanos verdadeiros, ou representam problemas médicos reais, é bastante pequeno e incluem o ácaro de sarna humana (*Sarcoptes scabiei*), o ácaro do folículo humano (*Demodex folliculorum*) e os ácaros trombiculídeos. Os ácaros afetam humanos de três formas: causando dermatite, servindo como vetores de doenças infecciosas e atuando como fonte de alérgenos.

Ácaros de Sarna

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

O ácaro de sarna (*S. scabiei*) causa uma doença infecciosa de pele variavelmente conhecida como **escabiose, sarna** ou **coceira**. Os ácaros adultos possuem em média 300 a 400µm de comprimento, com um corpo oval e globoso no qual os primeiros e segundos pares de patas são amplamente separados do 3º e 4º pares (Fig. 86-5). O corpo possui estrias paralelas transversais, espinhos e cerdas dorsais. O ovo mede de 100 a 150µm.

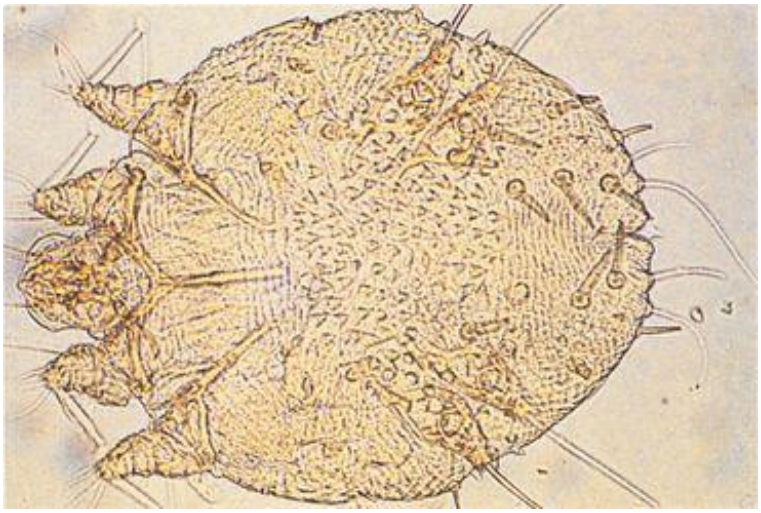


Figura 86-5 Ácaro de sarna (espécies de *Sarcoptes*).

(De Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992).

Os ácaros adultos penetram na pele, criando galerias serpiginosas nas camadas superiores da epiderme. A fêmea do ácaro deposita seus ovos nas galerias na pele e os estádios de larva e ninfa que se desenvolvem também se enterram na pele. As fêmeas dos ácaros vivem e depositam ovos e fezes nas galerias na epiderme por até 2 meses. Caracteristicamente, os locais preferenciais de infestação são as dobras interdigitais e poplíteas, as regiões do pulso e inguinal, e as dobras inframamárias. A presença de ácaros e suas secreções causam intenso prurido das áreas envolvidas. O ácaro é um parasito obrigatório e pode perpetuar sua espécie indefinidamente em um único hospedeiro.

EPIDEMIOLOGIA

A escabiose possui distribuição cosmopolita, com uma prevalência global estimada de cerca de 300 milhões de casos. O ácaro é um parasito obrigatório de animais domésticos e humanos; entretanto, ele pode sobreviver por horas a dias fora do hospedeiro, facilitando sua dispersão. A transmissão é atingida através do contato direto ou com objetos contaminados como roupas. A transmissão sexual já foi bem documentada. A dispersão da infestação para outras áreas do corpo é realizada através da coceira e transferência manual do ácaro pela pessoa afetada. A escabiose pode ocorrer de forma epidêmica entre pessoas em condições de aglomeração, como creches, asilos, campos militares e prisões.

SÍNDROMES CLÍNICAS

O sintoma clínico diagnóstico destacável é o intenso prurido, normalmente nas dobras interdigitais e laterais dos dedos, nádegas, genitália externa, pulsos e cotovelos. As lesões não complicadas aparecem como galerias cutâneas pequenas e levemente elevadas. No fim da galeria, frequentemente existe uma vesícula contendo a fêmea do ácaro. O prurido intenso normalmente leva à escoriação da pele secundária à coceira, que em troca produz crostas e infecção secundária bacteriana. Os pacientes apresentam seus primeiros sintomas dentro de semanas a meses após a exposição; entretanto, o período de incubação pode ser tão curto quanto 1 a 4 dias em pessoas sensibilizadas por exposição prévia. A hipersensibilidade do hospedeiro (tardia ou do tipo IV) provavelmente desempenha um importante papel na determinação das várias manifestações clínicas da escabiose.

Alguns indivíduos imunodeficientes podem desenvolver uma variante da escabiose, denominada de **sarna norueguesa**, caracterizada por dermatite generalizada com extensa escamação e crostas e a presença de milhares de ácaros na epiderme. Esta doença é altamente contagiosa e sugere que a imunidade do hospedeiro também desempenha um papel na supressão de *S. scabiei*.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico da escabiose se baseia nas lesões características e sua distribuição. O diagnóstico definitivo da escabiose depende da demonstração do ácaro em raspados de pele. Por ser os ácaros adultos frequentemente encontrados nas porções terminais de uma galeria recente, é melhor que se realize os raspados destas áreas. O material dos raspados é colocado um uma lâmina de microscópio limpa, clarificado pela adição de 1 a duas gotas de uma solução de hidróxido de potássio a 20%, recoberto por lamínula e examinado ao microscópio sob uma objetiva de menor aumento. Com experiência, o ácaro e os ovos podem ser reconhecidos. A biópsia da pele também pode revelar os ácaros e ovos em cortes teciduais.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

O tratamento padrão e bastante eficaz para escabiose é o hexacloreto de gamabenzeno a 1% (lindano), em loção. Uma ou duas aplicações (cabeça ao pé) em intervalos semanais é eficaz contra a escabiose. O lindano é absorvido pela pele e aplicações repetidas podem ser tóxicas. Por esta razão, não é recomendável utilizá-lo no tratamento de recém-nascidos, crianças pequenas ou mulheres gestantes e lactentes.

Recentemente, um creme de permetrina a 5% (Elimite®) substituiu as loções de lindano como sendo o tratamento de escolha para escabiose. Os testes clínicos demonstraram que a permetrina foi mais eficaz e menos tóxica que o lindano. Outras preparações utilizadas para

tratar a sarna incluem preparações de crotamiton (6%), benzoato de benzila e monossulfeto de tetraetiltiuram. As duas últimas preparações não estão disponíveis nos Estados Unidos.

A prevenção primária da escabiose é melhor atingida com bons hábitos de higiene, limpeza pessoal e lavagem rotineira de roupas e roupas de cama. A prevenção secundária inclui a identificação e tratamento de indivíduos infestados e possivelmente seu ambiente doméstico e contatos sexuais. Em uma situação epidêmica, o tratamento simultâneo de todos os indivíduos afetados e seus contatos pode ser necessário. Isto é seguido de uma limpeza completa do ambiente (p. ex., fervura das roupas e roupas de cama) e vigilância constante para prevenir a reocorrência.

Ácaros do Folículo Humano

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Os ácaros do folículo humano incluem duas espécies do gênero *Demodex, D. folliculorum* e *D. brevis*. Estes ácaros são organismos pequenos (0,1 a 0,4mm) com um corpo vermiforme, quatro pares de patas curtas e grossas, e um abdome anelado. O *D. folliculorum* parasita os folículos pilosos da face na maioria dos humanos adultos, enquanto o *D. brevis* é encontrado nas glândulas sebáceas da cabeça e tronco.

EPIDEMIOLOGIA

Organismos do gênero *Demodex* são parasitos obrigatórios do tegumento humano e são de distribuição cosmopolita. Infestações são incomuns em crianças pequenas e aumentam no período da puberdade. Estima-se que 50% a 100% dos adultos estejam infestados com estes ácaros.

SÍNDROMES CLÍNICAS (Caso Clínico 86-1)

O papel das espécies de *Demodex* na doença humana é incerto. Elas foram associadas à acne, cravos, blefarites, anormalidades do escalpo e exantemas torácicos. Mais recentemente, a foliculite papular extensa, resultante da infestação por *Demodex*, tem sido descrita em pessoas com imunodeficiência adquirida. Fatores como uma higiene pessoal pobre, aumento da produção de sebo, hipersensibilidade ao ácaro e imunossupressão podem aumentar a suscetibilidade do hospedeiro e acentuam a apresentação clínica da infestação pelo *Demodex*. A maioria das pessoas infestadas por estes ácaros permanece assintomática.

Caso Clínico 86-1 Foliculite por *Demodex*

Antille e colaboradores (Arch Dermatol 140:457 460, 2004) relataram o caso de foliculite por *Demodex* em um homem de 49 anos. O paciente possuía rosácea por 12 anos e, no momento do atendimento médico, apresentava rosácea telangiectásica e papular nas bochechas e testa. Sua condição se deteriorou progressivamente, apesar de tratamentos sistêmicos intermitentes com ciprofloxacina. Seis meses antes, o paciente havia cessado todos os tratamentos exceto as terapias antihipertensivas e anturêmicas. Um tratamento alternado com solução de clindamicina e unguento de tacrolimus a 0,03% uma vez ao dia foi inicialmente eficaz e bem tolerado. Entretanto, 3 semanas depois, ele apresentou um rubor agudo com eritema intenso e pustulação ampla. Uma distensão delgada de material pustular revelou abundância de ácaros do gênero *Demodex*, que também foram visualizados em uma amostra de biópsia, que confirmou o diagnóstico de rosácea. O tratamento com tacrolimus foi

descontinuado e o rubor se resolveu rapidamente com terapia sistêmica de ciprofloxacina. A terapia com ciprofloxacina foi cessada um mês depois e não houve recaída durante um acompanhamento de 11 meses. Este caso é um exemplo de uma situação onde as propriedades imunossupressoras do tacrolimus facilitaram o supercrescimento dos ácaros foliculares do gênero *Demodex*, resultando em uma dermatite pustular.

DIAGNÓSTICO

Os ácaros podem ser vistos microscopicamente em material espremido de um folículo infestado. Eles podem ser visualizados como achados acidentais em cortes histológicos da pele facial.

TRATAMENTO

O tratamento eficaz consiste de uma única aplicação de hexacloreto de gamabenzeno a 1%.

Ácaros Trombiculídeos

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Os trombiculídeos são larvas de ácaros da família *Trombiculidae*. Os ácaros trombiculídeos adultos infestam grama e arbustos, e suas larvas (*i.e.*, larvas vermelhas) atacam humanos e outros vertebrados, produzindo dermatite severa. As larvas possuem três pares de patas e são recobertas por cerdas ramificadas e características.

As larvas aparecem como pontos avermelhados pequenos e muito pouco visíveis, fixados à pele, onde utilizam seu aparato bucal guarnecido de gancho para ingerir fluidos teciduais. Os trombiculídeos tipicamente se fixam às áreas de pele onde as roupas são justas ou restritas, como os pulsos, tornozelos, axilas, virilha e cintura. Após se alimentar, a larva ingurgitada se desprende do hospedeiro e cai ao solo, onde sofre muda e desenvolvimento para ninfas e adultos.

EPIDEMIOLOGIA

Os trombiculídeos que são importantes na América do Norte incluem as larvas de *Eutrombicula alfreddugesi* e *E. splendens*. Na Europa, a espécie importante é o ácaro da colheita, *Trombicula autumnalis*. Os trombiculídeos são um problema particular de entusiastas ao ar livre, como os que gostam de acampar e realizar piqueniques. Na Europa e nas Américas eles estão associados a lesões intensamente pruriginosas; entretanto, na Ásia, Austrália e na margem ocidental do Pacífico, eles servem como vetores da rickettsiose denominada de tifo rural ou febre de tsutsugamushi (*Rickettsia tsutsugamushi*) (Tab. 86-2).

SÍNDROMES CLÍNICAS

A saliva injetada na pele no momento da fixação do ácaro produz um prurido intenso e

dermatite. As lesões da pele aparecem como marcas eritematosas pequenas, que progridem para pápulas e podem persistir por semanas. As larvas dos ácaros podem ser visíveis no centro da área avermelhada e edematosa. A irritação pode ser tão severa que causa febre e distúrbios do sono. Pode ocorrer infecção bacteriana secundária das lesões escoriadas.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

O tratamento para a dermatite causada pelos trombiculídeos é amplamente sintomático e consiste de agentes antipruriginosos, anti-histamínicos e esteroides. O uso de repelentes contra insetos como o N,N-9-dietil-m-toluamida (DEET) pode ser de alguma ajuda na prevenção de pessoas que irão entrar em áreas infestadas por trombiculídeos.

Carrapatos

Fisiologia e Estrutura

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos de uma grande variedade de vertebrados, incluindo os seres humanos. Os carrapatos são oportunistas ao invés de hospedeiro específicos e tendem a realizar hematofagia de um grande número de animais grandes e pequenos. Os carrapatos apresentam um ciclo de vida de quatro estádios, que inclui ovo, larva, ninfa e adulto. Apesar de a larva, ninfa e adultos serem todos hematófagos, é o carrapato adulto que normalmente pica humanos.

Os carrapatos compreendem dois grandes famílias, a *Ixodidae*, ou dos carrapatos duros, e a *Argasidae*, ou dos carrapatos moles. Os carrapatos moles apresentam um corpo coriáceo, o qual não possui um escudo dorsal rígido, e o aparato bucal se localiza ventralmente, não sendo visualizado dorsalmente (Fig. 86-6). Os carrapatos duros apresentam uma placa dorsal ou escudo rígido e o aparato bucal está claramente visível dorsalmente (Fig. 86-7). Tanto os carrapatos duros como os moles servem como ectoparasitos para os humanos. Os carrapatos moles diferem dos duros em seu comportamento alimentar. Os carrapatos moles completam o ingurgitamento em uma questão de minutos ou no máximo algumas horas; os carrapatos duros se alimentam vagarosamente, levando 7 a 9 dias para se tornarem ingurgitados.

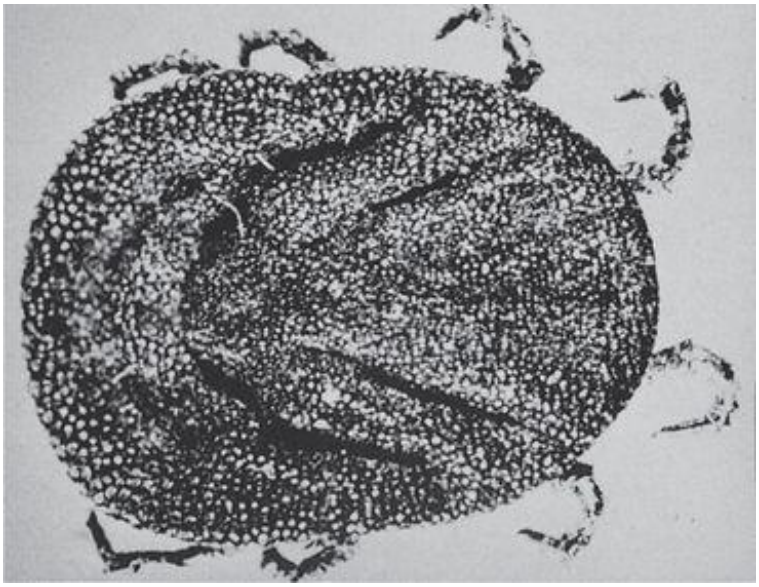


Figura 86-6 Carrapato mole (espécies de *Ornithodoros*).

(De Strickland GT: Hunterás Tropical Medicine, 7th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1991.)

Figura 86-7 Carrapato duro (*I. dammini*).

(Cortesia do Professor A. Spielman; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Epidemiologia

Os carrapatos são encontrados, mundialmente, em áreas cobertas de árvores e rurais. Na América do Norte, as espécies de carrapatos duros de importância incluem *Dermacentor variabilis* (o carrapato do cão americano), *D. andersoni* (o carrapato da madeira das Montanhas Rochosas), *Amblyomma americanum* (o carrapato da estrela solitária), *Rhipicephalus sanguineus* (o carrapato do cão marrom) e *Ixodes dammini* (o carrapato do cervo). Estes carrapatos são encontrados de forma variável pelos Estados Unidos e são vetores importantes de diversas doenças infecciosas, incluindo a febre maculosa das Montanhas Rochosas (*Dermacentor* spp.), tularemia (*Dermacentor* spp.), febre Q (*Dermacentor* spp.), doença de Lyme (*Ixodes* spp.), babesiose (*Ixodes* spp.) e erlichiose (*D. variabilis* e *A. americanum*) (Tab. 86-2). Os carrapatos moles do gênero *Ornithodoros* transmitem as espiroquetas causadoras da febre recorrente (*Borrelia* spp.) em áreas limitadas do oeste (Tab. 86-2). Em geral, pessoas sob risco de exposição aos carrapatos estão envolvidas em atividades ao ar livre em áreas cobertas de árvores. A exposição ao carrapato também pode ocorrer durante estadas em cabanas rurais habitadas por pequenos roedores, que comumente servem como hospedeiros para carrapatos e outros ectoparasitos.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 86-2)

As picadas de carrapato são geralmente de consequência menor e estão limitadas a pequenas pápulas eritematosas. Consequências mais sérias da picada do carrapato incluem o desenvolvimento de um tipo de paralisia, que é resultante de substâncias liberadas pelos carrapatos durante a alimentação, e transmissão de um número de doenças causadas por rickettsias, bactérias, vírus, espiroquetas e protozoários em humanos e outros animais.

Caso Clínico 86-2 Febre por Picada de Carrapato Africano

Owen e colaboradores (Arch Dermatol 142:1312-1314, 2006) descrevem uma mulher de meia idade, que retornou de uma viagem missionária no Zimbábue, com uma doença

semelhante à gripe e uma escara de inoculação; ela também apresentou uma história de viagem para uma fazenda de caça. A biópsia das lesões cutâneas revelou um padrão histopatológico consistente com uma patogênese infecciosa. Colorações imuno-histoquímicas confirmaram a presença de organismos rickettsia. Sob o aspecto do histórico da paciente e do conjunto de sinais e sintomas clínicos, foi realizado um diagnóstico de febre por picada de carrapato africano. A paciente foi tratada com doxiciclina e apresentou um curso não complicado.

A febre por picada de carrapato africano é uma rickettsiose, que emergiu recentemente como uma doença significativa entre os viajantes internacionais. O vetor é o carrapato do gênero *Amblyomma*, que é endêmico na África subsaariana. Este é um exemplo de apenas uma das muitas doenças causadas por rickettsias transmitidas por carrapatos.

Os carrapatos podem se fixar em qualquer ponto do corpo, mas tipicamente preferem o escalpo, linha do cabelo, orelhas, axilas e virilha. A picada inicial é normalmente indolor e a presença do carrapato pode não ser detectada por várias horas após o contato. Após o carrapato ter se soltado ou ser removido manualmente, a área pode se tornar avermelhada, dolorida e pruriginosa. A ferida pode se tornar secundariamente infectada e necrótica, particularmente se o aparato bucal permanecer fixado após a remoção manual.

Três espécies de carrapato, *D. andersoni, D. variabilis* e *A. americanum*, foram relatadas como causadoras da **paralisia por picada de carrapato**. Esta é caracterizada por uma paralisia flácida ascendente, febre e intoxicação geral, que pode levar ao comprometimento respiratório e morte. A paralisia se deve a substâncias tóxicas liberadas na saliva do carrapato e pode ser revertida através da remoção do mesmo. A paralisia por picada de carrapato é observada mais comumente em crianças jovens e quando a fixação do carrapato ocorre em oposição ao sistema nervoso central (p. ex., escalpo, cabeça, pescoço).

Os carrapatos também estão envolvidos na transmissão de infecções como a doença de Lyme, febre maculosa das Montanhas Rochosas, erlichiose, febre do carrapato do Colorado, febre recorrente, tularemia, febre Q e babesiose (Tab. 86-2). O leitor deve se referir aos capítulos apropriados deste livro para a discussão dos aspectos clínicos e microbiológicos destas infecções.

Diagnóstico

O diagnóstico das picadas de carrapato e das doenças transmitidas por eles normalmente reside no achado de um carrapato ou na história de exposição a áreas infestadas por carrapatos. A identificação de um organismo como sendo um carrapato adulto é normalmente clara e se baseia nas observações de um organismo achatado dorsoventralmente, que possui quatro pares de patas sem segmentação visível (Figs. 86-6 e 86-7). Um entomologista ou parasitologista deve ser consultado se uma identificação mais aprofundada for requerida. O diagnóstico de doenças infecciosas específicas transmitidas por carrapatos é abordado nas seções respectivas deste livro.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção precoce de carrapatos fixados é de importância primária e pode ser realizada por uma tração firme no corpo do carrapato, realizada com uso de fórceps localizado o mais próximo possível da pele. Deve-se ter cuidado para evitar a torção ou esmagamento do carrapato, o que pode deixar o aparato bucal fixado à pele, ou injetar material potencialmente infectante na ferida. A tração firme é superior às técnicas de estímulo nocivo ou oclusiva para a remoção do carrapato. Após a remoção, a ferida deve ser limpa e observada em busca de infecções secundárias. Devido aos carrapatos poderem albergar agentes altamente infecciosos, o médico deve utilizar precauções apropriadas de controle da infecção (p. ex., uso de luvas, lavagem das mãos, descarte apropriado dos carrapatos e material contaminado)

durante a remoção do carrapato.

Medidas preventivas utilizadas em áreas infestadas por carrapatos incluem a utilização de roupas protetoras que se ajustam de forma confortável à região dos tornozelos, pulsos, cintura e pescoço, de forma que os carrapatos não conseguem ganhar acesso à pele. Repelentes contra insetos como o N,N-9-dietil-m-toluamida (DEET) são geralmente eficazes. Pessoas e animais devem ser inspecionados em busca de carrapatos após visitas às áreas infestadas por carrapatos.

Insecta

Os insetos, ou **hexápodes**, constituem a maior e mais importante de todas as classes de artrópodes, correspondendo a aproximadamente 70% de todas as espécies conhecidas de animais. Os insetos incluem animais como os mosquitos, moscas, pulgas, piolhos, baratas, abelhas, vespas, besouros e traças, para nomearmos apenas alguns. O corpo do inseto é dividido em três partes – cabeça, tórax e abdome – e é equipado com um par de antenas, três pares de apêndices e um ou dois pares de asas ou ausência de asas. A significância médica de qualquer inseto está relacionada a sua forma de vida, particularmente seu aparato bucal e hábitos alimentares. Os insetos podem servir como vetores para uma variedade de bactérias, vírus, protozoários e metazoários patogênicos. Certos insetos podem servir meramente como vetores mecânicos para a transmissão de patógenos, enquanto em outros insetos os patógenos sofrem multiplicação ou desenvolvimento cíclico no interior do inseto hospedeiro. Os métodos pelos quais os insetos transmitem patógenos variam e são discutidos aqui. Os insetos também podem ser patógenos por si só, causando injúria mecânica através de picadas, injúria química através da inoculação de toxinas e reações alérgicas a materiais transmitidos por suas picadas ou ferroadas. Existem mais de 30 ordens de insetos, mas apenas aquelas de maior importância médica serão discutidas nesta seção.

Dípteros Hematófagos

A ordem Diptera é a maior dos insetos voadores. Todos os dípteros apresentam um único par de asas membranosas funcionais e diferentes modificações de aparato bucal, que foram adaptados para perfurar a pele e sugar o sangue ou sucos teciduais. Sua característica mais importante é o seu papel como vetores biológicos ou mecânicos de uma variedade de doenças infecciosas, incluindo leishmaníase, tripanossomíase, malária, filaríase, oncocercíase, tularemia, bartonelose e as encefalites virais (Tab. 86-2). Os insetos hematófagos incluem os mosquitos, flebotomíneos e simulídeos, todos são capazes de transmitir doenças aos humanos. Outros dípteros, como a mosca do equino e a mosca dos estábulos, são capazes de causar picadas dolorosas, mas não são conhecidas por transmitir patógenos aos humanos. Apesar de a mosca doméstica não picar, ela certamente é capaz de transmitir mecanicamente um grande número de infecções por vírus, bactérias e protozoários aos hospedeiros humanos. As doenças infecciosas transmitidas pelos insetos hematófagos são bem abordadas em outros capítulos deste livro. A seguinte seção irá apenas abordar as injúrias resultantes da picada destes insetos e os efeitos das substâncias salivares introduzidas na pele humana e nos tecidos.

Mosquitos

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Os mosquitos adultos são pequenos e possuem pernas delicadas, um par de asas, antenas longas e um aparato bucal bastante alongado adaptado para penetração e sucção. As duas principais famílias de mosquitos (*Culicidae*), a *Anophelinae* e a *Culicinae*, dividem um grande número de semelhanças em seus ciclos de vida e desenvolvimento. Eles depositam seus ovos na água ou próximo, possuem boa capacidade de vôo e se alimentam de néctar e açúcares. As fêmeas da maioria das espécies também se alimentam de sangue, que necessitam para cada oviposição de 100 a 200 ovos. As fêmeas podem se alimentar de sangue a cada 2 a 4 dias. No ato de hematofagia, a fêmea do mosquito injeta saliva, que produz dano mecânico para o hospedeiro, mas também pode transmitir doença e produzir reações imunes imediatas e tardias.

EPIDEMIOLOGIA

Na família *Anophelinae*, o gênero *Anopheles* contém as espécies responsáveis pela transmissão da malária humana. Nos trópicos, estes mosquitos se reproduzem continuamente em relação à precipitação pluviométrica. Estas espécies variam em sua capacidade de transmissão da malária e em cada área geográfica, o número de espécies que servem como vetores da malária é pequeno. *A. gambiae* é um importante vetor da malária na África subsaariana.

Os mosquitos do gênero *Aedes*, o maior da subfamília *Culicinae*, são encontrados em todos os hábitats, variando dos trópicos ao Ártico. Estas espécies podem desenvolver populações devastadoras em pântano ou tundra e pasto ou águas de enchente, e possuem um impacto severo na vida selvagem, gado e humanos. *A. aegypti*, o mosquito da febre amarela, normalmente se reproduz em recipientes feitos pelo homem (vasos de plantas, calhas, latas) sendo o principal vetor da febre amarela e dengue em ambientes urbanos ao redor do mundo.

SÍNDROMES CLÍNICAS

O dano mecânico induzido pela alimentação do mosquito é normalmente menor, mas pode estar acompanhado de dor e irritação branda. A picada é normalmente seguida em alguns minutos de um pequeno machucado plano, circundado por um rubor vermelho. A reação tardia consiste de prurido, edema e vermelhidão da região da ferida. Infecção secundária pode seguir como resultado da coceira.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

A atenção médica normalmente não é procurada para uma picada, a menos que ocorra infecção secundária. Anestésicos ou anti-histamínicos locais podem ser úteis no tratamento de reações às picadas dos mosquitos.

Medidas preventivas em áreas infestadas por mosquitos incluem o uso de telas nas janelas, cortinados e roupas protetoras. Repelentes contra insetos como o DEET são geralmente eficazes. Medidas de controle do mosquito que envolvam o uso de inseticidas têm sido eficazes em algumas áreas.

Ceratopogonídeos

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Os ceratopogonídeos representam um grupo de pequenos insetos com nomes como **mosquito-pólvora, maruim** e **pólvora**. A maioria dos insetos que ataca humanos pertence ao gênero *Culicoides*; são pequenos (0,5 a 4mm de comprimento) e esguios o suficiente para passarem através da fina malha de uma tela comum de janela. As fêmeas ingerem sangue e tipicamente se alimentam ao anoitecer, quando podem atacar em grandes quantidades.

EPIDEMIOLOGIA

Os mosquitos-pólvora podem ser importantes pestes em praias e áreas de *resort* próximas a pântanos salgados. Aqueles do gênero *Culicoides* são os principais vetores das filaríases na África e nos trópicos do Novo Mundo.

SÍNDROMES CLÍNICAS

Os aparatos bucais dos ceratopogonídeos são semelhantes à lança e produzem uma picada dolorida. As picadas podem produzir lesões locais que perduram por horas ou dias.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

O tratamento local é paliativo, com loções, anestésicos e medidas antissépticas. O tratamento dos locais de reprodução com pesticidas e repelentes pode ser útil contra algumas das espécies mais comuns destas pestes.

Flebotomíneos

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Os flebotomíneos, ou mosquito-palha, pertencem a uma única subfamília dos *Psychodidae*, a *Phlebotominae*. Eles são todos insetos pequenos (1 a 3mm), delicados, peludos, com baixa capacidade de vôo e que se alimentam de sangue de humanos, cães e roedores. Eles transmitem uma grande quantidade de infecções, incluindo leishmaníase (Tab. 86-2). As fêmeas dos flebotomíneos se tornam infectadas quando se alimentam de pessoas infectadas.

EPIDEMIOLOGIA

As larvas dos flebotomíneos se desenvolvem em hábitats não aquáticos, como solo úmido, paredes de pedra e montes de lixo. Em muitas áreas, os flebotomíneos causam problemas na forma de pestes. Também servem como vetores de doenças infecciosas como a leishmaníase no Mediterrâneo, Oriente Médio, Ásia, Índia e América Latina.

SÍNDROMES CLÍNICAS

A picada pode ser dolorosa e pruriginosa ao redor do local da lesão. Pessoas sensibilizadas podem apresentar reações alérgicas. A **febre do mosquito palha** é caracterizada por cefaleia frontal severa, mal-estar, dor retro-orbital, anorexia e náusea.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

Os flebotomíneos são bastante sensíveis aos inseticidas, que devem se aplicados nos locais de reprodução e para prevenção deve se usar telas nas janelas. Diversos repelentes para insetos também podem ser úteis.

Simulídeos

FISIOLOGIA E ESTRUTURA

Os membros da família *Simuliidae* são comumente denominados de **borrachudos ou piuns**. Possuem de 1 a 5mm de comprimento, são corcundas e apresentam aparato bucal que consiste de seis “lâminas” que são capazes de rasgar a pele (Fig. 86-8). Os simulídeos são insetos hematófagos e se reproduzem em riachos e rios de água corrente rápida São de grande importância como vetores da oncocercíase (Tab. 86-2).

Figura 86-8 Simulídeo (espécies de *Simulium*), o vetor da oncocercíase.

(Cortesia de Dr S Meredith; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

EPIDEMIOLOGIA

Os simulídeos são comuns na África e América do Sul, onde servem como vetores da oncocercíase. Na América do Norte, eles são comuns ao redor das regiões de lagos do Canadá e norte dos Estados Unidos. São pestes para caçadores e pescadores nestas áreas. Em grandes números, podem causar perda de sangue significativa e são de grande ameaça para os animais domésticos e selvagens.

SÍNDROMES CLÍNICAS

Uma variedade de respostas já foi observada em humanos após a picada de flebotomíneos. A picada da fêmea pode rasgar a superfície da pele e induzir o sangramento, que continua por algum tempo após a saída do inseto. Normalmente há um ponto hemorrágico distinto no local da picada. Múltiplas picadas podem resultar em considerável perda de sangue. A picada é dolorosa e acompanhada de inflamação local, prurido e edema.

A reação local também pode ser acompanhada por uma resposta sistêmica, que varia de acordo com o número de picadas e a sensibilidade da pessoa. Esta síndrome é conhecida como **febre do borrachudo** e é marcada por cefaleia, febre e adenite. Ela normalmente decresce dentro de 48 horas e é considerada uma reação de hipersensibilidade às secreções salivares do inseto.

Além das respostas locais e sistêmicas à picada do simulídeo, uma **síndrome hemorrágica** já foi descrita após picadas de simulídeos em certas áreas do Brasil. Esta síndrome se assemelha à púrpura trombocitopênica e é caracterizada por hemorragias cutâneas locais e disseminadas, associadas ao sangramento de mucosa. Acredita-se que esta síndrome hemorrágica possa ser produzida por um fenômeno de hipersensibilidade ou de resposta a uma toxina, causada por múltiplas picadas de simulídeos.

DIAGNÓSTICO

A picada do simulídeo é marcada caracteristicamente por um ponto de sangue seco e hemorragia subcutânea no local da ferida. Em pessoas com síndromes hemorrágicas, as

contagens de plaquetas estão reduzidas; em cerca de metade dos pacientes, existe um tempo prolongado de sangramento e pobre retração do coágulo.

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

O tratamento inclui as medidas paliativas usuais (p. ex., anestésicos, anti-histamínicos, loções) para aliviar o prurido local e o edema. Pacientes com a síndrome hemorrágica demonstraram notável melhora com terapia por corticosteroides.

Medidas preventivas incluem roupas protetoras. Em geral, repelentes para insetos são ineficazes contra simulídeos. Algum controle é possível através do uso de inseticidas em rios e riachos.

Moscas do Equino e do Cervo

A família *Tabanidae* consiste de espécies incluindo a mosca dos equinos, mosca dos cervos, mosca do gado e mosca da manga, que atacam principalmente animais. Elas são grandes, variando em comprimento de 7 a 30mm. Os machos se alimentam de seiva vegetal e as fêmeas de sangue. No ato de picar, a fêmea deixa uma ferida profunda, fazendo com que o sangue jorre, sendo consumido pelo inseto. O inseto pode servir como um vetor mecânico de doenças infecciosas, quando os aparatos bucais se tornam contaminados em um hospedeiro e transferem organismos para o próximo. Estes insetos não são considerados vetores importantes de doenças infecciosas humanas.

Insetos Muscoides

Fisiologia e Estrutura

Os insetos muscoides incluem três insetos de importância médica: a mosca doméstica, *Musca domestica*; a mosca dos estábulos, *Stomoxys calcitrans*; e as **moscas tsé-tsé** do gênero *Glossina*. A mosca dos estábulos, frequentemente confundida com a mosca doméstica, é uma real hematófaga capaz de servir como um vetor mecânico, de período curto, de um grande número de infecções por bactérias, vírus e protozoários. A mosca tsé-tsé (Fig. 86-9) também é uma mosca hematófaga e serve como vetor biológico e hospedeiro intermediário para os agentes da tripanossomíase africana, *Trypanosoma brucei rhodesiense* e *T. b. gambiense*. A mosca doméstica comum representa um grupo de gêneros que não são hematófagos ou contaminantes. Devido aos seus hábitos de alimentação e de vida, são transmissoras mecânicas de diversos agentes para humanos.

Figura 86-9 Mosca tsé-tsé, o vetor da tripanossomíase africana.

(Cortesia de Wellcome Foundation, Ltd, Berkhamsted; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Epidemiologia

A mosca tsé-tsé é encontrada nas regiões do leste e central da África, onde é de grande importância médica e veterinária como hospedeiro intermediário e vetor biológico de um grande número de tripanossomos que infectam humanos e animais. As moscas domésticas e dos estábulos são cosmopolitas em distribuição e servem como indicadores de saneamento pobre. A mosca doméstica, *M. domestica*, deposita ovos em qualquer matéria orgânica (fezes, lixo, matéria vegetal em decomposição), que irá servir como alimento para as larvas em desenvolvimento. As moscas dos estábulos comumente depositam ovos em matéria vegetal úmida e em decomposição, como restos de grama cortada ou pilhas de adubo encontradas em comunidades suburbanas.

Prevenção e Controle

O controle das populações de moscas tsé-tsé tem sido problemático devido a sua distribuição dispersa em áreas principalmente rurais e subdesenvolvidas. Repelentes contra insetos e inseticidas podem ser eficazes contra as moscas adultas. A melhora das condições sanitárias é importante no controle das moscas domésticas. Restos de plantas devem ser protegidos de chuva ou destruídos.

Moscas Causadoras de Miíases (Caso Clínico 86-3)

Miíase é o termo aplicado à doença produzida por larvas que vivem de forma parasitária em tecidos humanos. Clinicamente, as miíases podem ser classificadas de acordo com a parte do corpo envolvida (p. ex., miíase nasal, intestinal ou urinária). O número de moscas causadoras de miíases e a diversidade de necessidades no estilo de vida são enormes. Apenas as relações com hospedeiro e locais de predileção de algumas das espécies mais importantes serão abordadas nesta seção.

Caso Clínico 86-3. Miíase Furuncular

Bakos e colaboradores (Arch Dermatol 143:123 124, 2007) descrevem o caso de uma mulher caucasiana de 54 anos que foi examinada com um histórico de nódulo inflamatório doloroso, de 2 semanas, na porção superior de sua perna direita. Ela se lembrava vagamente de ter sido picada naquela área por um "inseto". Após uma semana de tratamento com antibiótico oral, prescrito para aliviar a reação inflamatória ao redor, um nódulo pobremente delimitado foi observado, com um pequeno poro no topo, pelo qual exsudava um fluido serossanguinolento. A dermoscopia revelou uma abertura central, circundada por vasos sanguíneos dilatados, da qual uma estrutura amarelada com espinhos, semelhantes a farpas pretas, localizados na extremidade, extrusava intermitentemente. Isto correspondia à extremidade posterior da larva de *Dermatobia hominis* (mosca berneira humana). A lesão foi obstruída com uma dupla camada de emplasto por 24 horas e a larva imóvel e morta foi removida com o auxílio de fórceps e espremedura gentil. A miíase furuncular devido à *D. hominis* é uma doença comum em países tropicais americanos. O diagnóstico da miíase furuncular deve sempre ser considerado em cada lesão furunculoide não responsiva ao tratamento normal, especialmente em viajantes retornando de países tropicais.

A **miíase específica** se refere à miíase causada por moscas que necessitam de um hospedeiro para o desenvolvimento larvário. Um exemplo importante é a mosca berneira humana, *Dermatobia hominis*, que é encontrada em regiões úmidas do México e América Central e do Sul. A mosca berneira adulta fixa seus ovos ao abdome de moscas ou mosquitos hematófagos, que em troca distribuem seus ovos enquanto obtêm uma alimentação de sangue de um animal ou homem. A larva penetra na pele através da ferida criada pela picada do inseto. As larvas se desenvolvem ao longo de 40 a 50 dias, durante os quais aparece uma lesão dolorosa conhecida como **berne**. Quando a larva atinge a maturidade, ela abandona o hospedeiro para se transformar em pupa. A lesão resultante pode levar semanas a meses para cicatrizar e pode se tornar secundariamente infectada. Se a larva morrer antes de deixar a pele, forma-se um abscesso.

A **miíase semiespecífica** é causada por moscas que normalmente depositam seus ovos em matéria orgânica animal ou vegetal em decomposição; ela se desenvolve em um hospedeiro se a entrada for facilitada pela presença de feridas ou machucados. Representantes deste grupo incluem a mosca varejeira verde, *Phaenicia*; a mosca varejeira azul, *Cochliomyia*; e a mosca varejeira preta, *Phormia*. Estas moscas possuem distribuição cosmopolita e sua presença é encorajada pelo saneamento pobre. Ocasionalmente depositam ovos em feridas ou machucados abertos em animais e humanos. Um outro grupo que causa miíases em humanos são as moscas da carne, ou sarcofagídeos. Estas moscas possuem distribuição cosmopolita e normalmente se reproduzem em matéria em decomposição. Podem depositar suas larvas em alimentos que, se ingeridos, servirão como fonte de infecção.

Moscas que produzem miíases acidentais não possuem nenhuma necessidade para se desenvolver em um hospedeiro. A infecção acidental pode ocorrer quando ovos são depositados em aberturas orais ou genitourinárias e as larvas resultantes ganham entrada no trato intestinal ou genitourinário. Moscas que podem produzir miíases acidentais incluem a *M. domestica*, a mosca doméstica comum.

Piolhos Hematófagos

Fisiologia e Estrutura

Apesar de diversas espécies de piolhos (*Anoplura*) infestarem humanos na forma de parasitos hematófagos, apenas o piolho do corpo possui importância médica como vetor da rickettsia causadora do tifo e febre das trincheiras e das espiroquetas da febre recorrente (Tab. 86-2). O **piolho do corpo**, *Pediculus humanus*, e o **piolho da cabeça**, *P. humanus capitis*, são insetos alongados, ápteros e achatados, com três pares de patas e aparatos bucais adaptados para perfuração da pele e sucção de sangue (Fig. 86-10). O piolho pubiano ou **chato**, *Phthirus pubis*, possui um abdome curto semelhante ao de um caranguejo, com garras nos segundos e terceiros pares de patas (Fig. 86-11).

Figura 86-10 Piolho do corpo (*P. humanus*).

(Cortesia de Oxford Scientific Films, Ltd [Dr RJ Warren]; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Figura 86-11 Chato (*P. pubis*).

(Cortesia de Dr RV Southcott; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Epidemiologia

Epidemias de piolho da cabeça são relatadas frequentemente nos Estados Unidos, particularmente entre escolares. O piolho da cabeça habita os cabelos da cabeça e são transmitidos através de contato físico ou compartilhamento de escovas de cabelo ou chapéus. Os piolhos pubianos sobrevivem de hematofagias ao redor dos pelos das regiões púbicas e perianais do corpo. São transmitidos frequentemente de uma pessoa para outra através de contato sexual e assentos de banheiros contaminados ou roupas. Os piolhos do corpo são usualmente encontrados nas roupas. Diferente dos piolhos da cabeça ou dos chatos, eles se movem para o corpo para se alimentarem, e retornam para as roupas após obter sua alimentação de sangue. Todos os piolhos injetam fluidos salivares no corpo durante a ingestão de sangue, causando graus variáveis de sensibilização no hospedeiro humano.

Síndromes Clínicas

O prurido intenso é a característica usual da infestação por piolhos (**pediculose**). O paciente pode apresentar pápulas avermelhadas e pruriginosas ao redor das orelhas, face, pescoço ou ombros. Infecção secundária e adenopatia regional podem estar presentes.

Diagnóstico

O diagnóstico é feito através da demonstração do piolho ou de seus ovos em um paciente com queixa de prurido. Frequentemente o paciente já notou os insetos e o diagnóstico pode

ser feito por telefone. Os ovos, ou **lêndeas**, são objetos brancos e arredondados, que podem ser encontrados fixados à raiz do cabelo (piolho da cabeça e chato) ou nas roupas (piolho do corpo).

Tratamento, Prevenção e Controle

Loção de hexacloreto de gamabenzeno (lindano), aplicada por todo o corpo e deixada por 24 horas, é o tratamento eficaz para piolho. A raspagem do cabelo das áreas afetadas é um auxiliar desejável. O piolho adulto nas roupas deve ser destruído através da aplicação de lindano ou DDT em pó ou pela fervura. O piolho pode sobreviver no ambiente por até 2 semanas; portanto, itens como escovas de cabelo, pentes e roupas de cama devem ser tratados com um pediculicida ou através de fervura.

A melhor estratégia para prevenção primária é a educação e prática de bons hábitos de higiene. Prevenção secundária deve ser praticada através de uma política de vigilância rotineira (p. ex., inspeções de couros cabeludos) em escolas, creches, campos militares e outras instituições. Repelentes podem ser necessários para pessoas que estão sob alto risco de exposição em ambientes com aglomerações.

Pulgas

Fisiologia e Estrutura

As pulgas (*Siphonaptera*) são insetos pequenos, ápteros, com corpos achatados lateralmente e pernas longas adaptadas para o salto (Fig. 86-12). Seus aparatos bucais são adaptados para a sucção ou "sifonamento" do sangue do hospedeiro.

Figura 86-12 Pulga.

(De Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Epidemiologia

As pulgas apresentam distribuição cosmopolita. A maioria das espécies é adaptada para um hospedeiro em particular; entretanto, elas podem prontamente se alimentar de humanos, particularmente quando privados de seu hospedeiro preferencial. As pulgas são importantes vetores da peste e do tifo murino e são hospedeiros intermediários de cestoides do cão (*Dipylidium caninum*) e de roedores (espécies de *Hymenolepis*) que ocasionalmente infectam humanos.

Em contraste com a maioria das pulgas que não invadem o tegumento do hospedeiro, o **bicho de pé**, *Tunga penetrans*, pode causar dano considerável através de invasão ativa da pele. A fêmea penetra na pele, frequentemente sob as unhas dos pés ou entre os dedos, onde ingere sangue e deposita seus ovos. O bicho de pé é encontrado em regiões tropicais e subtropicais da América, como na África e no Oriente. Não é conhecida a transmissão de nenhum patógeno humano.

Síndromes Clínicas

Assim como a picada de outros artrópodes hematófagos, as picadas de pulgas resultam em lesões pruriginosas, eritematosas, de severidade variada, que dependem da intensidade da

infestação e da sensibilidade da pessoa picada. A irritação causada pela saliva da pulga pode produzir achados físicos que variam de feridas pequenas e vermelhas, a exantemas difusos e vermelhos. Na infecção secundária pode haver complicação.

A invasão cutânea pelo bicho de pé produz uma pápula eritematosa que é dolorosa e pruriginosa. O tecido infestado pode se tornar severamente inflamado e ulcerado. A infecção secundária é comum. Em casos severos, a infestação pode ser complicada por tétano ou gangrena gasosa, resultando em amputação.

Diagnóstico

O diagnóstico da infestação por pulga é inferido em um paciente com picadas irritantes e que também é dono de animal doméstico (cão ou gato). O exame do paciente e do animal normalmente revela o inseto característico. O diagnóstico da tungíase é realizado pela detecção da porção escura do abdome do bicho de pé, à medida que se projeta da superfície da pele no centro de uma lesão inflamada.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento paliativo com antipruriginosos e anti-histamínicos é indicado para a maioria das picadas de pulga. A remoção cirúrgica dos bichos de pé é indicada.

Inseticidas comercialmente disponíveis podem controlar as pulgas na sua origem. Repelentes aplicados topicamente podem proteger as pessoas contra picadas de pulga. Os colares e os pós contra pulga para cães são também medidas preventivas eficazes.

Hemípteros

Fisiologia e Estrutura

Os **hemípteros** se referem especificamente a dois insetos hematófagos, os **percevejos da cam**a e os **triatomídeos** (Figs. 86-13 e 86-14). Ambos os hemípteros são caracterizados por uma probóscida longa, que é dobrada ventralmente para baixo do corpo quando não está em uso. O percevejo da cama (*Cimex lectularius*) é um inseto marrom avermelhado de aproximadamente 4 a 5mm de comprimento. Possui asas vestigiais, mas não são capazes de voar. Os triatomídeos ou "**barbeiros**" apresentam marcas amarelas ou laranjas no corpo e uma cabeça alongada. Os triatomídeos possuem asas e são aéreos.

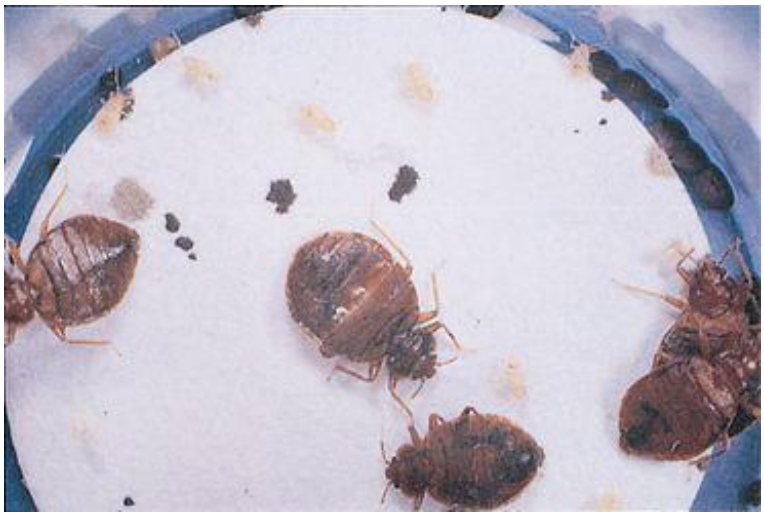


Figura 86-13 Percevejo da cama (*C. lectularius*).

(De Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Figura 86-14 Triatomídeo.

(Cortesia de Dr D Minter; de Peters W: A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London, Wolfe, 1992.)

Epidemiologia

Ambos os percevejos da cama e triatomídeos são noturnos e se alimentam indiscriminadamente na maioria dos mamíferos. Os percevejos da cama são cosmopolitas em distribuição, enquanto os triatomídeos são limitados às Américas. Os percevejos da cama se escondem durante o dia em rachaduras e fendas de mobílias de madeira, sob papéis de parede soltos, nos colchões de espuma e em colchões de mola. Os triatomídeos vivem em rachaduras e fendas de paredes e em telhados feitos de palha. Os percevejos da cama não desempenham um papel na transmissão de doença humana; entretanto, os triatomídeos são importantes vetores da doença de Chagas (Tab. 86-2 e Cap. 82).

Síndromes Clínicas

As picadas de percevejos da cama e triatomídeos produzem lesões que variam de pequenas marcas vermelhas a bolhas hemorrágicas. Os percevejos da cama tendem a picar em forma linear no tronco e braços, enquanto os triatomídeos picam com alta frequência na face. O edema periorbital clássico secundário à picada pelo triatomídeo é conhecido como **sinal de Romaña**. A intensidade da reação a uma picada depende do grau de sensibilização do paciente. Além de causar lesões locais, os percevejos da cama podem estar associados a desordens nervosas e insônias em crianças e adultos.

Diagnóstico

O padrão e localização das picadas sugerem se são percevejos da cama ou triatomídeos. A detecção de pequenos pontos de sangue no lençol, ou dos próprios insetos mortos, é frequentemente o primeiro sinal de infestação por percevejo de cama.

Tratamento, Prevenção e Controle

Paliativos tópicos são apropriados para o alívio do prurido. Os anti-histamínicos podem ser indicados se a dermatite for severa. O controle consiste de higiene adequada e aplicações ambientais de inseticidas.

Insetos vesicantes

Fisiologia e Estrutura

A ordem *Hymenoptera* compreende as abelhas, vespas, marimbondos e formigas. O ovipositor modificado das fêmeas, o aparato para deposição de ovos, serve como um órgão vesicante e é utilizado para defesa ou captura da presa para alimentação. Os membros da *Hymenoptera* são conhecidos por seus sistemas sociais complexos, castas e colmeias ou estruturas de ninhos elaboradas.

Epidemiologia

Entre os himenópteros, as abelhas, *Apidae*, vivem em organizações sociais complexas, como as colmeias ou em ninhos sob o solo menos estruturado. Apenas as abelhas melíferas e as africanas são preocupantes para humanos, devido a sua habilidade de ferroar. As *Vespidae* incluem vespas, marimbondos e caçunungas; todos são insetos agressivos e a principal causa de picadas em humanos. No ato de picar, o inseto estimulado insere a bainha para abrir a ferida. Imediatamente segue-se a propulsão dos estiletes e injeção de veneno.

Um grupo de formigas que preocupam nos Estados Unidos é o das **formigas de fogo**, *Solenopsis invicta*. São particularmente comuns nos estados do sudoeste. São bem camufladas em montes grandes e com uma crosta rígida, e atacam quando perturbadas. Picam sua vítima com mandíbulas fortes e então ferroam repetidamente.

Síndromes Clínicas

Estima-se que 50 a 100 pessoas morrem por ano nos Estados Unidos devido a reações das ferroadas de himenópteros. Reações tóxicas severas como febre e câimbras musculares podem ser causadas por pouco menos de 10 ferroadas. Reações alérgicas são consequências mais sérias, mas outras incluem dor, edema, prurido e uma sensação de calor no local da ferroada. O choque anafilático devido às ferroadas de abelha tem resultado em morte em algumas instâncias.

Tratamento, Prevenção e Controle

Nenhum tratamento satisfatório foi descoberto para ferroadas. Se deixado na ferida, o aparato do ferrão deve ser removido imediatamente. A injeção de epinefrina é algumas vezes necessária para neutralizar anafilaxia. (*Kits* de emergência estão disponíveis mediante prescrição para pessoas sensíveis.) Para o alívio do desconforto local é útil o uso de uma loção de calamina ou de um creme contendo corticosteroide tópico em lesões locais mais severas.

Apesar de não haver repelentes eficazes contra estes insetos, seus ninhos podem ser destruídos com qualquer dos vários componentes inseticidas comercialmente disponíveis. É recomendado para pessoas sensíveis que evitem áreas habitadas por himenópteros.

Estudo de Caso e Questões

Uma criança de 4 anos de idade foi trazida por sua mãe com uma queixa de prurido nas mãos. A criança ficou em uma creche durante o dia enquanto a mãe trabalhava. A menina vinha apresentando intenso prurido e um exantema em suas mãos e braços por cerca de 2 semanas. O prurido se tornou mais severo, interferindo no sono da criança. Ao exame físico, a criança parecia bem nutrida e bem cuidada. A pele de suas mãos, pulsos e antebraços tinha aparência vermelha e escoriada. Trilhas elevadas e serpiginosas foram notadas nas laterais de seus dedos, nos aspectos ventrais de seus pulsos e nas dobras poplíteas. Diversas trilhas estavam inflamadas e havia início de formação de pústulas. A mãe afirmou que várias outras crianças da creche estavam apresentando um problema semelhante.

1. Qual era o provável diagnóstico?

1. A apresentação clínica é consistente com o diagnóstico de escabiose.

2. Como este diagnóstico seria confirmado?

2. O diagnóstico definitivo da escabiose depende da demonstração de ácaros em raspados de pele. Os raspados são coletados com porções terminais de uma escova limpa. Os raspados são colocados em uma lâmina de microscopia limpa, onde é acrescentado KOH 20%, lamínula e a montagem é examinada em microscópio de luz com baixo aumento.

3. Como esta criança seria tratada e que conselho seria dado à mãe acerca de prevenção?

3. O tratamento padrão para escabiose é a aplicação de 1% de hexacloreto de gama-benzeno (Lindano) ou creme de permetrina a 5% (Elimite®). A prevenção primária da escabiose é obtida com bons hábitos de higiene pessoal e lavagem rotineira de roupas e roupas de cama.

4. Esta criança necessita de antibioticoterapia? Se sim, por quê?

4. O desenvolvimento de pústulas, associado com as galerias produzidas pelos ácaros, sugere infecção bacteriana secundária, a qual requer terapia com antibióticos.

5. O que deveria ser feito acerca das outras crianças da creche?

5. O tratamento simultâneo de todas as pessoas afetadas e seus contatos é necessário em uma situação epidêmica. Limpeza e desinfecção da creche serão também necessários.

Bibliografia

Binford CH, Connor DH. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases, vol 3. Washington: DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1976.

Hwang SW, et al. Bed bug infestations in an urban environment. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:533-537.

Markell EK, John DT, Krotoski WA. Markell and Voges' Medical Parasitology, 8th ed., Philadelphia: WB Saunders, 1999.

Najarian HH. Textbook of Medical Parasitology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1967.
Peters W. A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine. London: Wolfe, 1992.
Swanson DL, Vetter RS. Bites of brown recluse spiders and suspected necrotic arachnidism. *N Engl J Med*. 2005;352:700-707.
Telford SRIII, et al. Arthropods of medical importance. In Murray PR, editor: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, Washington, DC: ASM Press, 2007.
Strickland GT. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases, 8th ed., Philadelphia: WB Saunders, 2000.
Van Horn KG, et al. Copepods associated with a perirectal abscess and copepod pseudo-outbreaks in stools for ova and parasite examinations. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1992;15:561-565.

87 O Papel dos Parasitos na Doença

Um resumo dos parasitos (protozoários e helmintos) mais comumente associados à doença humana é apresentado neste capítulo. Apesar de muitos parasitos estarem associados a um único sistema de órgãos (p. ex., trato gastrintestinal) e causarem um processo de doença envolvendo este sistema, algumas das manifestações mais significativas da doença parasitária ocorrem quando o parasito deixa seu local "normal" no corpo humano. Desta forma, diversos parasitos diferentes podem produzir uma síndrome de doença semelhante. O tratamento de uma infecção parasitária específica pode diferir tremendamente dependendo do agente etiológico e muitos dos regimes de tratamento antiparasitários são bastante tóxicos. Para guiar tanto os esforços diagnósticos como terapêuticos, é útil que tenha um diagnóstico diferencial que inclua os parasitos mais prováveis.

O desenvolvimento e o prognóstico de uma infecção parasitária frequentemente dependem de fatores além da virulência inata do organismo. Na determinação da possibilidade de uma infecção parasitária, o significado de qualquer dado microbiológico, a necessidade de tratar e a escolha do agente, deve-se levar em consideração os numerosos fatores, como a história de exposição (p. ex., viagem para uma área endêmica), a dose infectante potencial e/ou carga parasitária, o uso de profilaxia (p. ex., profilaxia antimalária) e o estado imunológico do hospedeiro. A apresentação de uma determinada infecção parasitária pode ser bastante diferente em viajantes não imunes, que visitam uma área endêmica, *versus* um residente semi-imune da mesma região. Desta forma, as estratégias de tratamento e prevenção também serão diferentes.

Este capítulo proporciona uma ampla lista de vários agentes parasitários, comumente associados a infecções em locais específicos do corpo e/ou manifestações clínicas específicas (Tab. 87-1). Esta informação deve ser usada em conjunto com a Tabela 79-1, como um auxiliar no estabelecimento de um diagnóstico diferencial e na seleção das amostras clínicas mais prováveis, que irão ajudar a estabelecer um diagnóstico etiológico específico. Outros fatores que podem ser importantes na determinação da frequência relativa na qual parasitos específicos causam doença (p. ex., história de viagem e exposição, apresentações clínicas específicas) são abordadas nos capítulos individuais neste texto ou nos textos mais abrangentes sobre doenças infecciosas citados neste e em outros capítulos.

Tabela 87-1 Resumo dos Parasitos Associados à Doença Humana

Sistema Afetado e Doença	Patógenos
Sangue	
Malária	*Plasmodium* spp.
Babesiose	*Babesia* spp.
Filaríase	*Wuchereria bancrofti, Brugia malayi, Mansonella* spp., *Loa loa*

Medula Óssea	
Leishmaníase	*Leishmania donovani, Leishmania tropica*

Sistema Nervoso Central	
Meningoencefalite	*Naegleria fowleri, Trypanosoma brucei gambiense, T. b. rhodesiense, T. cruzi, Toxoplasma gondii*, Microsporídios
Encefalite Granulomatosa	*Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*
Lesão expansiva Abscesso cerebral	*T. gondii, Taenia solium, Schistosoma japonicum, Acanthamoeba* spp., *B. mandrillaris*
Meningite eosinofílica Malária cerebral	*Angiostrongylus cantonensis, Toxocara* spp., *Baylisascaris* (larva migrans neural), *Plasmodium falciparum*
Paragonimíase cerebral	*Paragonimus westermani*

Olho	
Ceratite	*Acanthamoeba* spp., Microsporídios (*Nosema* sp., *Microsporidium* spp., *Encephalitozoon hellem*), *Onchocerca volvulus*
Corioretinite Conjuntivite	*T. gondii, O. volvulus, L. loa*
Cisticercose ocular (lesão expansiva)	*T. solium*
Toxocaríase	*Toxocara* spp. (larva migrans ocular; se assemelha ao retinoblastoma)

Trato Intestinal	
Prurido anal	*Enterobius vermicularis*
Colite	*Entamoeba histolytica, Balantidium coli*
Diarreia/disenteria	*E. histolytica, Giardia lamblia* (*duodenalis*), Microsporídios, *Cryptosporidium parvum, Cyclospora cayetanensis, Isospora belli, Schistosoma mansoni, Strongyloides stercoralis, Trichuris trichiura*
Megacólon tóxico	*Trypanosoma cruzi*
Obstrução Perfuração	*Ascaris lumbricoides, Fasciolopsis buski*
Prolapso retal	*Trichuris trichiura*

Fígado, Baço	
Abscesso	*E. histolytica, Fasciola hepatica*
Hepatite	Microsporídios (*Encephalitozoon cuniculi, Nosema connori*), *T. gondii*
Obstrução biliar	*A. lumbricoides, F. hepatica, Opisthorchis* (*Clonorchis*) *sinensis*
Cirrose/hepatoesplenomegalia	*L. donovani, L. tropica, Toxocara canis* e *T. cati* (larva migrans visceral), *Schistosoma mansoni, S. japonicum*
Lesão expansiva	*T. solium, Echinococcus granulosus, E. multilocularis*

Genitourinário	
Vaginite/uretrite	*Trichomonas vaginalis, E. vermicularis*
Insuficiência renal	*Plasmodium* spp., *L. donovani*
Cistite/hematúria	*Schistosoma haematobium, P. falciparum* (febre da urina negra)

Coração	
Miocardite	Microsporídios, *T. gondii, T. cruzi*
Megacardia/bloqueio cardíaco completo	*T. cruzi*

Pulmão	
Abscesso	*E. histolytica, P. westermani*
Nódulo/massa	*Dirofilaria immitis, E. granulosus, E. multilocularis*
Pneumonite	*A. lumbricoides, S. stercoralis, Toxocara* spp., *P. westermani, T. gondii, Ancylostoma braziliense*

Linfáticos	
Linfedema	*W. bancrofti, B. malayi*, outras filárias
Linfadenopatia	*T. gondii*, tripanossomos

Músculo	
Miosite generalizada	*Trichinella spiralis*, Microsporídios, *Sarcocystis lindemanni, Toxocara* spp.
Miocardite	*T. spiralis, T. cruzi*, Microsporídios, *Toxocara* spp.

Pele e Tecido Subcutâneo	
Lesão ulcerativa	*Leishmania* spp., *Dracunculus medinensis*
Nódulos/edemas	*O. volvulus, L. loa, T. cruzi, Acanthamoeba* spp., *Toxocara* spp.
Exantemas/vesículas	*T. gondii, A. braziliense*, outros vermes que realizam migração, esquistossomos (dermatite cercariana)

Sistêmico	
Disseminação geral e disfunção múltipla de órgãos	Microsporídios, *P. falciparum, T. gondii, L. donovani, T. cruzi, Toxocara* spp., *S. stercoralis, T. spiralis*
Deficiência de ferro, anemia	Ancilostomídeos (*Ancylostoma duodenale, Necator americanus*)
Anemia megaloblástica (deficiência de vitamina B_{12})	*Diphyllobothrium latum*

Bibliografia

Cohen J, Powderly WG. Infectious Diseases, 2nd ed., St Louis: Mosby, 2004.

Connor DH, et al. Pathology of Infectious Diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange, 1997.

Cook G, Zumala A. Manson's Tropical Diseases, 21st ed., London: Elsevier Science, 2003.

Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology, 4th ed., Washington DC: American Society for Microbiology, 2001.

Respostas

Capítulo 2

1. Tamanho: como os procariontes têm tamanho muito menor, eles têm capacidade de penetrar em espaços muito pequenos. Isto também significa que as células dos procariontes têm um cromossomo muito menor que as células dos eucariontes.

Estrutura nuclear: devido a não existir membrana nuclear nos procariontes, os processos de replicação, transcrição e translação ocorrem conjuntamente. Inibição de algum destes processos de forma individual afeta todos os outros processos de forma significativa.

Cromossomo: o cromossomo bacteriano se constitui de um genoma circular único. Devido à estrutura circular do cromossomo, as topoisomerases são enzimas muito importantes na redução do estresse molecular para que suas funções sejam mantidas. Como resultado, estas enzimas (topoisomerases) são excelentes alvos moleculares para a ação de drogas antibacterianas, como, por exemplo, as quinolonas. Como existe apenas uma cópia de cada gene (genoma haploide) nos procariontes, ao invés de genomas diploides, uma única mutação irá inativar a função proteica, pois não existe "cópia de reserva".

Estruturas citoplasmáticas: procariontes não possuem organelas como nos eucariontes, mas isso não influencia significativamente nos processos de infecção e tratamento.

Ribossomas: a estrutura 70S (50S + 30S) do ribossomo dos procariontes possibilita que seja um excelente alvo para drogas antibacterianas devido ao fato de que estas moléculas diferem significativamente da estrutura 80S dos ribossomos das células eucariontes.

Membrana citoplasmática: a membrana dos procariontes contém diferentes fosfolipídios, o que as torna mais suscetíveis à ação das polimixinas.

Parede celular: a célula bacteriana é uma estrutura complexa que contém proteínas, lipídios e peptidoglicano (estrutura exclusiva da célula bacteriana). A parede celular funciona como uma barreira osmótica permitindo que a bactéria sobreviva em água destilada; ela contém estruturas que promovem a interação com tecidos e outras células do hospedeiro, o que determina os tipos de doenças infecciosas causadas pelas bactérias; as enzimas que sintetizam a parede celular são exclusivas de células bacterianas o que as torna um excelente alvo para drogas antibacterianas (beta-lactmâmicos, vancomicina e bacitracina). Os pili (ou fímbrias) são estruturas muito importantes no processo de adesão, pois permitem que as bactérias se liguem e se mantenham unidas a determinadas estruturas do corpo humano (como, p. ex., na bexiga).

2. A espessura da parede celular de bactérias Gram positivas facilita sua identificação na coloração de Gram, pois retém o corante principal (violeta de genciana) em contraste com as bactérias Gram negativas, que possuem uma estrutura mais simples e delgada de peptidoglicano, as quais não têm a capacidade de reter o corante principal durante o processo de lavagem e necessitam de um contracorante (corante de fundo) para serem visualizadas. O LPS na membrana externa é a estrutura ativadora mais potente das respostas imune e inata, podendo induzir à febre e sepse. Bactérias Gram negativas têm maior potencial de induzir febre e sepse. A presença da membrana externa em bactérias Gram negativas funciona como uma barreira importante contra a ação do complemento e entrada de moléculas grandes e hidrofóbicas, incluindo algumas drogas antibacterianas, evitando acesso ao peptidoglicano e outras estruturas internas.

3. **Proteção contra a resposta imune:**

LPS funciona como estrutura protetora contra a ação do complemento.

Cápsulas protegem contra a ação de anticorpos, complemento e fagocitose.

Proteínas podem inibir funções específicas, por exemplo, a proteína A de estafilococos liga-se à porção Fc das IgG; a proteína M de estreptococos é antifagocítica.

Proteção contra as respostas tóxicas:

O LPS possui atividade de endotoxina e é um potente ativador de receptores como o "Toll Like"

Outros componentes da parede celular como o ácido teicoico e o peptidoglicano também

são ativadores, embora fracos, de receptores “Toll Like”.

4. A inibição da produção de peptidoglicano evita a síntese da parede celular e o crescimento bacteriano. O peptidoglicano é constantemente degradado, ressintetizado e formatado. A inibição da síntese de peptidoglicano fará com que a constante degradação do mesmo, numa CÉLULA EM CRESCIMENTO, torne-o frágil, o que levará a célula à lise.

Devido à inibição da síntese e extensão do peptidoglicano (por antibióticos beta-lactâmicos, vancomicina ou bacitracina), o pentapeptídio N-acetil-glicosamina/N-acetil-murâmico (NAG-NAM), molécula precursora do peptidoglicano com um terminal D-ala-D-ala, se acumulará no citoplasma, pois a cadeia não sofrerá extensão. A translocação do bactoprenol também é inibida.

5. Esporos são mais resistentes, porque são células dormentes (ou seja, não estão em fase de crescimento), estão dessecados e cobertos com múltiplas camadas de estruturas tipo peptidoglicano, bem como com uma cobertura externa tipo queratina.

6.

a. O EDTA irá desestabilizar a membrana externa das bactérias Gram negativas mas tem efeito mínimo em bactérias Gram positivas.

b. Detergentes fracos irão afetar bactérias Gram positivas de forma mais significativa do que bactérias Gram negativas, visto que a membrana externa (que é exclusiva de Gram negativos) fornece uma etapa a mais de proteção.

c. Lisozima degrada o peptiglicano de bactérias Gram positivas causando lise quando em água; a membrana externa dos Gram negativos é uma barreira de proteção contra a ação da lisozima.

d. Transpeptidases não apresentam atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas.

e. Ampicilina inibe a síntese de peptidoglicano de ambas as bactérias Gram positivas e negativas, pois a mesma é capaz de atravessar os canais de porina da membrana externa das bactérias Gram negativas.

Capítulo 3

1. Glicólise: Durante a fermentação são produzidos 2 moles de ATP e 2 NADH.
   Ciclo ATC: são produzidos 2 moles de GTP (equivalente ao ATP) mais $FADH_2$ e 6NADH, os quais são utilizados no sistema de transporte de elétrons.
   Transporte de elétrons: o $FADH_2$ e o 6NADH do ciclo ATC geram 24 moles de ATP; e os 2 NADH a partir da glicólise geram 8 moles de ATP totalizando 38 moles de ATP.
   Condições anaeróbicas: a glicólise pode ocorrer em condições anaeróbicas em um processo denominado fermentação; o qual não é um processo eficiente.
   Condições aeróbicas: a glicólise, o ciclo ATC e o transporte de elétrons ocorrem em condições aeróbicas. Este é o processo mais eficiente para conversão de glicose em energia.

2. A fermentação anaeróbica produz ácidos, dióxido de carbono e. algumas vezes, metano. A ação deletéria destes produtos pode ser observada na gangrena gasosa.

3. $N_t = N_0 \times 2^{t/d}$
   onde N_t é o número de bactérias após determinado tempo (t), t/d é o tempo dividido pelo tempo de duplicação, e N_0 é o número inicial de bactérias; quantas bactérias existirão na cultura após 4 horas se o tempo de duplicação for 20 minutos e o inóculo bacteriano for de 1.000 bactérias?

$$N_t = 1.000 \times 2^{240\text{min}/\ 20\text{min}}$$
$$N_t = 1.000 \times 2^{12}$$
$$N_t = 1.000 \times 4.096$$
$$N_t = 4.096.000$$

4. Plasmídio é constituído de DNA extracromossomal, circular, que possui uma origem de replicação (permite replicação autônoma) e frequentemente contém genes que codificam para: resistência aos antibióticos, metabolismo de moléculas atípicas (p. ex., em Pseudomonas) e para virulência.

5. Repressão: uma molécula repressora liga-se ao operon da lactose evitando a expressão gênica a menos que a lactose esteja presente no meio. A ligação da molécula de lactose ao repressor faz com que o mesmo se dissocie do DNA permitindo a expressão gênica.
   Indução: a proteína catabólica ativadora de gene (CAP) liga-se ao AMPc formando um complexo de atividade aumentada. O AMPc é produzido quando os níveis de glicose estão diminuídos, o que indica algum problema metabólico. Isto aumentaria a expressão do operon da lactose na presença de galactose.
   Atenuação: a translação de determinada proteína pode regular a transcrição do gene, visto que não existe membrana nuclear para separar estes processos. Um aumento de triptofânio dentro da célula determinará a taxa de síntese de um determinado mRNA e o peptídeo, os quais determinarão se o mRNA irá adquirir uma configuração de anel “hairpin”. A configuração de anel “hairpin” irá parar a transcrição.

6. Tipos de mutação:
   Transição = troca de uma purina por outra purina
   Transversão = troca de pirimidina por purina
   “Missense”: alteração em aminoácido da proteína.
   “Nonsense”: mudança de códon com a inserção de um códon de terminação.
   “Frameshift”: inserção ou deleção de 1 ou 2 nucleotídeos, o que irá alterar o quadro de

leitura.

Nula: elimina a função proteica (assim como nas mutações “nonsense” e “frameshift”).

Agentes:

Substâncias químicas ativas contra DNA: causam alteração na estrutura química das bases nuleotídicas.

Mutagênicos “frameshift”: moléculas (como brometo de etídio) que se intercalam no DNA mudando a sequência como as bases pareiam dentro da dupla hélice.

Análogos das bases nucleotídicas: causam leitura errada do gene

Radiação: produz radicais livres que alteram a estrutura química das bases nucleotídicas

Luz ultravioleta (UV): causa a formação de dímeros de timidina

7. Transformação: aquisição de DNA do espaço extracelular. O DNA adquirido se torna parte da cromatina.

Transdução: infecção por um bacteriófago o qual possui DNA adquirido de outra bactéria.

Conjugação: transferência de DNA diretamente entre células bacterianas via pili sexual.

Trasposição: aquisição de tranposon o qual se insere no coromossomo.

8. A engenharia genética tem sido utilizada como ferramenta para isolamento de genes de hormônios (p. ex., hormônio do crescimento e insulina), de genes virais para vacinas (vírus da hepatite B), de genes de citocinas (interferon alfa, interferon gama) etc. Estes genes podem ser clonados em plasmídeos e expressos em grandes quantidades para produzir proteínas como medicamentos. Além disso, vacinas de DNA têm sido produzidas de forma que os genes virais (ou outros genes) são introduzidos em plasmídeos, os quais podem ser expressos dentro de células de mamíferos. A expressão destes genes e suas proteínas na pessoa vacinada levará ao desenvolvimento da ativação da resposta imune.

Capítulo 4

1.
a. Ambos são picornavírus e têm modo de replicação e estrutura semelhante. Porém, ao contrário dos poliovírus, os rinovírus são suscetíveis à ação de ácidos e temperatura.
b. Poliovírus e rotavírus possuem capsídeo e ambos são propagados pela via fecal-oral. Poliovírus tem o genoma constituído de RNA(+) e rotavírus tem genoma de RNA fita dupla.
c. Poliovírus e vírus da encefalite equina do oeste possuem genoma RNA(+) e infeccioso. O vírus da encefalite equina do oeste é um togavírus que pode gerar proteínas precoces e tardias a partir de tradução total ou parcial do genoma RNA. Este é um vírus envelopado e propagado por picada de mosquito.
d. Vírus da febre amarela e vírus da dengue são flavivírus, com genoma RNA(+), envelopados e propagados por picada de mosquito.
e. EBV e CMV são herpesvírus e, portanto, possuem grandes genomas de DNA inseridos em capsídeos icosaédricos envoltos por envelope. Estes vírus possuem sistemas complexos de replicação que são controladas ao nível de transcrição de algumas células. Ambos os vírus são estritamente humanos, sendo que EBV infecta linfócitos B, enquanto CMV tem um amplo tropismo tecidual.

2. Ver tabela abaixo.

3. Adenovírus, picornavírus, reovírus, papovavírus.

4. DNA polimerase DNA-dependente: adeno, herpes e poxvírus
DNA polimerase RNA-dependente: hepadnavírus e retrovírus
RNA polimerase RNA-dependente: todas presentes em vírus de genoma RNA, excepto retrovírus e hepadnavírus. Também poxvírus.
Integrase, protease: retrovírus

5. Complementação: Um gene do HSV-2 pode prover a atividade que está ausente no mutante.
Transcapsidação: O genoma do HSV-1 pode ser encapsidado e envelopado em uma HSV-2 partícula viral.
Recombinação: HSV-1 e HSV-2 compartilham semelhanças suficientes para permitir a recombinação dos dois genomas e a geração de um vírus híbrido.

6. Os genes precoces de togavírus são expressos a partir do seu genoma RNA(+) (42S). Após, um mRNA subgenômico (26S) é transcrito do intermediário replicativo codificando as proteínas estruturais (tardias).
O genoma dos poliomavírus é circular e os genes precoces são transcritos em uma direção enquanto os genes tardios são transcritos no sentido oposto.
Os genes imediatamente precoces (*immediate early genes*) de herpesvírus são ativados por proteínas de ligação ao DNA presentes nas células do hospedeiro. Os genes precoces são reconhecidos por proteínas virais e diferentes combinações das proteínas virais ativam a tradução das proteínas tardias. Assim, a replicação do genoma viral é iniciada.

7.

ENZIMA	EFEITO
a. Polimerase de Epstein-Barr virus	Sem produção viral
b. Timidina quinase de HSV	Produção viral ineficiente, especialmente em neurônios
c. Transcriptase reversa de HIV	Sem produção viral
d. Neuraminidase de vírus influenza B	Produção viral muito ineficiente
e. Proteína G de rabdovírus	Sem produção viral

Capítulo 5

1. Fungos diferem das bactérias em vários aspectos. Geralmente, os fungos são 10 a 100 vezes maiores que as bactérias. Os fungos são são microrganismos eucarióticos, enquanto que as bactérias são procarióticas. Deste modo, os fungos contêm um núcleo bem definido, bem como organelas como mitocôndria, golgi e retículo endoplasmático (Fig. 7-1). A maioria dos fungos apresenta respiração aeróbica, embora alguns são anaeróbicos facultativos e outros estritamente anaeróbicos. Com relação às bactérias, os fungos são de crescimento lento com tempo de duplicação em horas em vez de minutos.

Propriedade	Correlação	Família
1. Resistentes à ação de detergentes	B,F,I,J	a. Ortomixovírus
2. Resistentes ao ressecamento	B,F,I,J	b. Picornavírus
3. Replicação no núcleo	A*, G, H, I, J	c. Togavírus
4. Replicação no citoplasma	B, C, D, E, F, K*, L*	d. Paramixovírus
5. Sofre liberação celular sem causar lise da célula	A, C, D, E, G, H, L	e. rabdovírus
6. Possui bom alvo para ação de antivirais	A, G, H, L	f. reovírus
7. Pode sofrer rearranjo durante coinfecção com duas cepas	A, F	g. retrovírus
8. produz DNA a partir de um molde de RNA	G, L	h. Herpesvírus

9. Usa um molde de RNA(+) para replicar o genoma	A, D, E, F, L*	i. papovavírus
10. Seu genoma é traduzido em uma poliproteína	B, C	j. adenovírus
		k. poxvírus
		l. hepadnavírus

* Exceções às regras estruturais

2. Em contraste com outras células eucarióticas (p. ex. mamíferos), a membrana plasmática dos fungos contém ergosterol em vez de colesterol como principal esterol da membrana.

3. Em contraste com os fungos filamentosos, as leveduras são usualmente unicelulares, se reproduzem por brotamento ou fissão e produzem colônias cremosas, pastosas ou mucoides no agar. Os fungos filamentosos, por outro lado, são organismos multicelulares constituídos de estruturas tubulares chamadas hifas (Fig. 7-2) que se alongam na extremidade por um processo chamado de extensão apical. O conjunto de hifas produz uma estrutura chamada micélio. As colônias formadas pelos fungos filamentosos são descritas, algodonosas, cotonosas ou pulverulentas. As hifas podem produzir estruturas especializadas de reprodução assexual conhecidas como esporos ou conídios (Fig. 7-3).

4. A fase em que os fungos produzem esporos sexuais é chamada teleomórfica, e a forma de reprodução assexual de produção dos esporos é chamada anamórfica. Em situações clínicas é comum se referir ao organismo pela sua designação da forma assexuada. Isto ocorre porque o estado anamórfico (assexual) é o mais comumente isolado de espécies clínicas e o estado sexual ocorre em somente algumas condições especiais no laboratório.

Capítulo 6

1. Os protozoários adaptam-se a condições ambientais severas, desenvolvendo a forma cística, que é metabolicamente menos ativa. O cisto possui uma parede celular externa espessa capaz de proteger o organismo de condições físicas e químicas letais.

2. A forma de cisto é parte integral do ciclo de vida de muitos protozoários parasitas e facilita a transmissão do organismo de um hospedeiro a outro no ambiente externo. Os parasitos que não formam cistos dependem da transmissão direta hospedeiro-hospedeiro ou requerem um artrópode vetor para completar seus ciclos de vida.

3. Semelhante aos protozoários parasitas, alguns helmintos possuem a capacidade de alterar propriedades antigênicas nas suas superfícies externas e, assim, evadem a resposta imune do hospedeiro. Isso é possível em parte através da incorporação de antígenos do hospedeiro na camada cuticular externa dos parasitos. Dessa maneira, o verme evita o reconhecimento imunológico, e em algumas doenças (p. ex., esquistossomíase) esse processo permite que o parasito sobreviva no hospedeiro durante décadas.

4. Os artrópodes podem estar envolvidos diretamente como causa de doença invasiva ou superficial (infestação) ou indiretamente, como hospedeiros intermediários e vetores de muitos agentes infecciosos, incluindo protozoários e metazoários parasitas.

Capítulo 7

1. O corpo humano pode ser colonizado por muitos microrganismos (bactérias, fungos, alguns parasitas), os quais formam a população comensal (microbiota) normal. Estes microrganismos vivem na superfície da pele, e em todas as membranas mucosas (desde a boca até o ânus e trato genitourinário). Estas bactérias vivem nestas superfícies e protegem os humanos de colonização com microrganismos altamente patogênicos. Os microrganismos da microbiota normal também estimulam a resposta imune protetora bem como produzem fatores de crescimento essenciais. Se estes microrganismos forem introduzidos em sítios estéreis do corpo, ou se o indivíduo for exposto a microrganismos muito patogênicos, eles poderão causar doença. Então, é importante distinguir entre colonização, um processo natural e doença (ou infecção).

2. Patógenos estritos são microrganismos que quase sempre são encontrados onde existe doença. Alguns exemplos de patógenos estritos são: *Mycobacterium tuberculosis, Clostridium tetani, Neisseria gonorrhoeae, Francisella tularensis, Plasmodium falciparum*, e o vírus da raiva. A maioria das infecções em seres humanos é causada por microrganismos oportunistas; estes microrganismos podem colonizar o corpo humano sem evidência de doença, mas podem também causar doença quando forem introduzidos em sítios ou tecidos estéreis ou em pacientes com imunidade diminuída. Alguns exemplos de patógenos oportunistas incluem: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*, e *Candida albicans*.

3. Os fatores que determinam a população de microrganismos que colonizam os seres humanos são complexos e incluem: idade, sexo, estado hormonal, saúde e higiene pessoal.

Capítulo 8

1. Não existe uma definição padrão para esterilização e desinfecção. Geralmente o termo esterilização indica a destruição total dos microrganismos incluindo as formas mais resistentes, como os esporos bacterianos, as micobactérias, os vírus não envelopados e os fungos. Exemplos de agentes utilizados para esterilização são: óxido de etileno, gás formaldeído, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e glutaraldeído. Desinfecção resulta da destruição da maioria dos microrganismos embora os micróbios mais resistentes possam sobreviver a processos de desinfecção. Exemplos de desinfetantes incluem: calor úmido, peróxido de hidrogênio e compostos fenólicos. Antissepsia é o termo utilizado para procedimentos que reduzem o número de microrganismos na superfície da pele. Exemplos de agentes antissépticos incluem: álcoois, iodofor, clorexidina, paraclorometaxylenol e triclosan.

2. Os processos de desinfecção podem ser divididos em níveis: alto, nível intermediário e baixo. Desinfetantes de alto nível incluem: calor úmido, glutaraldeído, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e compostos clorados. Desinfecção de nível intermediário inclui: álcoois, compostos de iodo, e compostos fenólicos. Desinfetantes de baixo nível incluem: compostos de amônio quaternário. Um mesmo agente pode ser utilizado tanto em processos de esterilização e desinfecção conforme sua concentração e tempo de duração do seu uso. Os tipos de desinfetantes para cada situação são definidos conforme a forma de uso do produto bem como pela natureza do material a ser desinfetado. Se o material a ser desinfetado é utilizado para procedimentos invasivos, mas não pode ser submetido a processos de esterilização (p. ex., endoscópios, instrumentos cirúrgicos que não podem ser autoclavados), deve-se utilizar um desinfetante de alto nível. Desinfetantes de nível intermediário são usados para limpar superfícies e instrumentos nos quais a contaminação com microrganismos mais resistentes é incomum. Desinfetantes de baixo nível são usados para limpar instrumentos e equipamentos “não críticos” (ou seja, bomba de medir pressão, eletrodos e estetoscópios).

3. O calor úmido tem sua maior efetividade quando é utilizado sob pressão, pois o aumento da pressão causa aumento de temperatura. Outros fatores que determinam a efetividade do calor úmido são a duração do tempo de exposição bem como a penetração do vapor dentro do material contaminado (determinados pela quantidade de material e a taxa de fluxo do vapor). Calor seco é efetivo quando aplicado em altas temperaturas por um período longo. Esterilização por óxido de etileno é um processo lento o qual é influenciado pela concentração do gás, umidade relativa, tempo de exposição e temperatura. A efetividade aumenta com a concentração do óxido de etileno, aumento da temperatura e umidade relativa de 30%.

4. Compostos de iodo precipitam proteínas e oxidam enzimas essenciais. Exemplos incluem tintura de iodo, iodo povidina (iodo complexado com polivinilpirrolidona). Compostos clorados são agentes oxidantes fortes, embora seu mecanismo de ação ainda não tenha sido bem definido. Exemplos incluem cloro elementar, ácido hipoclorídrico e íons hipoclorito. O composto comercial de cloro mais conhecido é a solução de hipoclorito. Compostos fenólicos agem pela destruição dos lipídios de membrana, o que causa perda de conteúdo celular. Exemplos incluem o próprio fenol (ácido carbólico), orto-fenilfenol, orto-benzil-para-clorofenol e para-tert-amil-fenol. Os compostos de amônio quaternário também têm capacidade de desnaturar membranas e incluem cloreto de banzalcônio e cloreto de cetilpiridínio.

Capítulo 9

1. O macrófago é um fagócito o qual quando ativado por interferon gama se torna capaz de eliminar micróbios fagocitados, bem como produzir citocinas.

2. O linfonodo é um repositor de células B e T. Na evidência de infecção, células linfáticas ou dendríticas bem como outras células apresentadoras de antígeno “informam” o linfonodo o qual ativa as células T que por sua vez se comunicam com outras células através das citocinas (como um rádio), encaminhado-as para “resolver o problema”.

3. As células CD4 T são comunicadas sobre o “problema microbiológico” pela célula apresentadora de antígeno e então determina que outras células “se responsabilizem” pela produção de citocina.

4. As células CD8 T é ativada no linfonodo e então se move para a periferia para “patrulhar” vírus infectados ou células tumorais e assim “prende o infrator”, inativando-o com um “abraço” de apoptose.

5. Células B e pré-B alteram o DNA dos seus genes de imunoglobulinas produzindo “projetos” de um anticorpo específico. Estas alterações são pequenas modificações (mutações somáticas) ou mudança de classe de imunoglobulina e ocorrem quando o “mercado” (células T ativadas por citocinas) informa-lhes que é necessário, mas sem modificar o “tema geral” do produto (mudanças na região variável e manutenção da região constante).

6. O plasmócito é uma fábrica de produção de imunoglobulina com um pequeno “escritório” (núcleo) e muitas “linhas de produção” (ribossomas) para “montagem” de anticorpo.

7. Os mastócitos possuem receptores Fc para IgE os quais vais “desengatilhar” a liberação de histaminas e outros agentes, conforme a sinalização de algum alérgeno.

8. O neutrófilo é muito eficiente na fagocitose e morte bacteriana.

9. A célula dendrítica fagocita os antígenos “conduzindo-os” até os linfonodos para “mostrá-las” as células CD4 e CD8 T.

Capítulo 10

1. Móleculas de IgM são muito grandes para saírem do plasma e cruzarem a placenta.

2. Moléculas de imunoglobulinas nativas e os fragmentos $F(ab')_2$ são divalentes ou multivalentes e podem se ligar a mais de uma superfície celular; isto fará uma ligação cruzada de superfícies celulares.

3. A IgG é somente produzida após aproximadamente 6 dias depois da primeira infecção e requer células T auxiliares. IgG poderia estar presente devido a uma infecção prévia. IgM é produzida na fase precoce da infecção como parte de uma resposta primária e é um bom indicador de infecção que esteja ocorrendo pela primeira vez.

4. Embora perforinas sejam produzidas por células T e sejam similares à C9, os componentes do complemento são sintetizados pelo fígado e outras células, assim deficiência em células T não deverá afetar os níveis de complemento. Além disso, IgM fixa complemento de forma muito eficiente e é produzida na ausência de células T.

5. A diferenciação da célula B requer recombinação da região variável VDJ, mas isso ocorre sem células T auxiliares.

6. A porção Fc do gene da imunoglobulina produz imunoglobulinas da magnitude de IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. Seria improvável que a ausência de expressão em IgD pudesse ocorrer sem perda de todos os outros genes.

Capítulo 11

1.
a. MHC Classe I: perda de células CD8 T; reduzirá dramaticamente a habilidade de destruir células virais infectadas e células tumorais.
b. MHC Class II: deficiência de células CD4 T ou de suas funções; imunodeficiência, deficiência de célula T auxiliar na produção de anticorpos, inabilidade de ativar células CD4 T e células B contra antígenos.
c. TCRγ/δ: aumento da suscetibilidade à infecção bacteriana
d. Receptor IL-2: reduz a habilidade de ativar e expandir o número de células T
e. CD4: deficiência de células CD4 T; imunodeficiência; deficiência de células T auxiliares para produção de anticorpos; inabilidade de ativar células CD4 T e células B contra antígenos.
f. B7-1 e B7-2: reduz a capacidade de ativar células T devido à perda de correceptores nas células apresentadoras de antígenos
g. IFN-γ: reduz a função dos macrófagos, aumenta a suscetibilidade à infecção bacteriana, similar à doença granulomatosa crônica (a qual é tratada com IFN-γ), aumenta a incidência e severidade de infecções bacterianas intracelulares, virais e fúngicas.
h. IL-1: aumenta suscetibilidade à infecção bacteriana devido a deficiências nas respostas de fase aguda.
i. CD40L: o CD40L na célula T fornece o sinal de ativação para as células B apresentadoras de antígeno, macrófagos ou células dendríticas, o qual aumenta a ativação e é necessário para a troca de classe das células B. A deficiência de CD40L resulta na síndrome HiperIgM, uma falta de todos anticorpos com exceção de IGM.

2.
a. Uma resposta TH2 é definida pela produção de IL4, IL5, IL6 e IL10. IL4 e IL10 irão impedir a produção de IFN-γ. Isso irá evitar o desenvolvimento das respostas Th1 as quais são necessárias para controlar as infecções bacterianas intracelulares (lepra lepromatosa ocorrerá ao invés da forma mais branda: lepra tuberculosa).
b. Uma resposta TH1 over-reativa irá resultar em prurido intenso.
c. Recém-nascidos são suscetíveis a infecções de risco à vida por vírus envelopados, pois estes vírus conseguem impedir a ação de anticorpos (p. ex., anticorpos maternos). A resposta protetora dependerá da estimulação de IFN-γ dos macrófagos bem como de Th1 a qual é mantida por uma alça de IL12- IFN-γ.
d. IL-2, GM-CSF e IFN-γ irão estimular a resposta Th1 para o HIV gp 120. Estima-se que estas proteínas ajam como adjuvantes, promovendo resposta protetora pela ativação das células T e células dendríticas.

3.
a. O bloqueio da TAP impede a distribuição de peptídeos antigênicos dentro do retículo endoplasmático os quais são necessários para a ligação das moléculas de MHC I. Este mecanismo de evasão da resposta imune é utilizado pelo vírus herpes simples que codifica para uma proteína a qual bloqueia a TAP das células humanas.
b. Inibição da expressão da cadeia não variável resultará na aquisição de peptídeos antigênicos endógenos pelas moléculas MHC II no retículo endoplasmático no endossoma. A cadeia não variável preenche o espaço do peptídeo antigênico ligante à molécula MHC II até ser clivado e removido no endossoma onde MHC II adquire peptídeos de proteínas fagocitadas.
c. A falta de beta-2-microglobulina evitará a expressão de moléculas de MHC I na superfície da célula. A ligação de beta-2-microglobulina à cadeia pesada de MHC I é necessária para a saída da molécula do retículo endoplasmático. Beta-2-microglobulina é também expressa em outras proteínas as quais serão afetadas no caso de sua deficiência.

d. Inibição das proteases lisossomais irá impedir a produção de peptídeos que ocupam moléculas MHC II e isto, por consequência, impedirá a geração de resposta de células CD4 T àquelas proteínas.

Capítulo 12

1.

a. Uma resposta TH2, a qual é predominante do tipo anticorpo, será gerada à proteína toxoide do tétano, que é apresentada de uma maneira “não natural”. A linfa irá levar o antígeno até os linfonodos onde células dendríticas irão apresentá-lo ás células CD4 T. As células CD4 T irão produzir IL4, IL5, IL6 e IL10 para apresentar o antígeno às células B. Isso irá promover uma troca de classe de TH2 relacionada à produção de anticorpo. Respostas de memória não serão efetivas.

b. A vacina da pólio inativada irá gerar uma resposta similar à resposta da toxina tetânica.

c. Inicialmente uma resposta TH1 será gerada por células infectadas com o vírus atenuado a qual irá naturalmente progredir para respostas TH2 e de memória. As células NK e NKT irão produzir pequenas quantidades de interferon gama. Células dendríticas serão ativadas, processarão o vírus do sarampo, apresentando o antígeno às células CD4 T e CD8 T, enquanto produzirão IL12 para promover a produção de mais interferon gama. A produção de IL2 por células CD4 T irá promover o crescimento de células T e B, incluindo células CD8 T. Interferon gama irá promover uma troca de classe de células B de IgM para produção de IgG. Mais tarde a resposta irá trocar para um resposta TH2 o que irá maturar a resposta de IgG.

2. Ver tabela a seguir.

Capítulo 13

1. Vacinas inativadas são usadas quando vacinas atenuadas não podem ser geradas de forma segura ou quando a resposta de anticorpos é suficiente para proteção. Embora vacinas inativadas sejam as mais predominantemente usadas, uma vacina viva para influenza foi licenciada.

2. Tratamento por imunização passiva com anticorpos é como tratar a infecção com, por exemplo, uma droga que bloqueia a ação da toxina tetânica: tem reação imediata, mas dura aproximadamente apenas 2 meses, tempo em que o anticorpo é eliminado do sistema. Imunização ativa produz células as quais, por sua vez, produzem uma resposta imune que é mais duradora e intensa, mas que leva tempo para ser estabelecida.

3. A vacina inativada da pólio promove uma resposta de anticorpos TH2. Este anticorpo não previne infecção, mas é suficiente para bloquear a progressão do vírus da pólio na corrente sanguínea e alcançar seus tecidos-alvo (músculos ou cérebro) e, portanto, evita a doença.

A vacina oral infecta o indivíduo com mutantes atenuados dos três tipos de poliovírus para que se inicie uma resposta natural para cada vírus, incluindo uma reposta de IgA secretora. O desenvolvimento de células de memória é mais forte e mais permanente.

4. Rinovírus: Existem muitos sorotipos de rinovírus para os quais vacinas deveriam ser desenvolvidas e, além disso, este vírus não causa doença que ameaça a vida.

Vírus do herpes simples: embora uma vacina viva fosse o ideal (pela importância de promover uma reposta TH1 protetora), um vírus verdadeiramente atenuado o qual é incapaz de estabelecer uma infecção latente-recorrente não foi desenvolvido. Uma subunidade de vacina capaz de iniciar produção de anticorpos está em fase de teste, mas parece ser efetiva apenas em mulheres.

Vírus sincicial respiratório: uma vacina de eliminação do vírus foi desenvolvida a qual exacerba, ao invés de curar, a doença, devido ao desenvolvimento de resposta imune inapropriada. Desenvolvimento de um vírus atenuado é difícil por causa da rápida taxa de mutação deste, e de outros, vírus de RNA. Além disso, não há um bom método de cultura de tecido para crescimento deste vírus.

5. Estes agentes causam morbidade e mortalidade significativa em indivíduos infectados. Há um limitado número de sorotipos destes agentes sendo que vacinas estáveis, seguras e relativamente de baixo custo podem ser desenvolvidas.

Doença de imunodeficiência	Defeito imune	Suscetibilidade a infecções específicas
Síndrome de Chédiak-Higashi	Prejuízo na liberação dos conteúdos do lisossomo dentro do fagossomo, o que retarda a destruição das bactérias fagocitadas.	Infecções piogênicas (estafilococos e estreptococos)
Doença granulomatosa crônica	Incapacidade de gerar peróxido de hidrogênio para destruir bactérias fagocitadas	Infecções recorrentes com bactérias Gram positivas e Gram negativas, especialmente *S. aureus* e *P. aeruginosa*.
Deficiência de complemento C5	Diminuição da quimiotaxia e destruição bacteriana	Infecções bacterianas
Deficiência de complemento C3	Inibição da cascata do complemento. C3 é parte central tanto da rota clássica quanto da rota da properidina	Estafilocos, estreptococos e outras infecções por bactérias Gram positivas
Deficiência de complemento C1	Inibição da rota clássica do complemento	Infecções bacterianas
Deficiência de IgA	Células B deficientes, produção insuficiente de citocinas, mutação nas cadeias J e secretoras	Infecções respiratórias e gastrointestinais
Agamaglobulinemia ligada ao X	Deficiência em CD40 (alterações nas células T auxiliares); defeito na maturação de células pré-B	Infecções bacterianas e outras
Deficiência de célula T ligada ao X	Várias possibilidades: p. ex., defeito de sinalização de citocinas devido à falta de receptor de função; síndrome de hiperIgM (deficiência de CD40L)	Infecções intracelulares: virais, bactérias intracelulares, fungos. No caso de hiperIgM: *Pneumocystis jiroveci*
AIDS	Depleção de células CD4 T	Infecções intracelulares: virais, bactérias intracelulares, fungos
Síndrome de DiGeroge	Defeito no desenvolvimento do timo	Infecções intracelulares: virais, bactérias intracelulares, fungos
Deficiência de IgE	Mutação no gene da IgE	Nenhuma deficiência evidente

Sarampo e varíola são os principais vírus que podem matar aqueles que possuem apenas um sorotipo. Além disso, o sarampo sempre causa uma doença visível, o que permite colocar o paciente em quarentena, facilitando o sucesso dos programas de vacinação.

Caxumba é problemática, mas normalmente não ameaça a vida; existe somente um sorotipo, sendo que uma vacina viva efetiva foi desenvolvida a qual pode ser administrada juntamente com as vacinas do sarampo e da rubéola.

A vacina da rubéola foi desenvolvida para reduzir o desenvolvimento da doença congênita. A rubéola também tem apenas um sorotipo.

A vacina do tétano é uma proteína toxoide a qual produz anticorpos que evitam a ação da toxina. Tétano é uma doença de considerável prevalência que ameaça a vida.

Uma vacina acelular contra pertussis previne o desenvolvimento da coqueluche, uma doença que pode ser mortal para crianças pequenas. O aumento da incidência desta doença em adolescentes e adultos promoveu o desenvolvimento de doses de reforço.

Capítulo 14

1. Na microscopia de campo claro uma luz visível passa através do condensador, em seguida pelo objeto a ser observado e, finalmente, por uma série de lentes que aumentam a imagem. Este método é a técnica mais comum de microscopia usada para examinar materiais fixados em lâminas de vidro.

A microscopia de campo escuro usa as mesmas lentes de aumento da microscopia de campo claro; no entanto, um condensador especial é usado para iluminar o objeto através de um ângulo oblíquo. Assim, o objeto aparece iluminado (claro) contra um fundo escuro. Este método é utilizado para visualizar organismos que são muito finos para serem observados na microscopia de campo claro (p. ex., o *Treponema* – agente etiológico da sífilis).

A microscopia de contraste de fase ilumina o objeto com raios de luz paralelos o que faz com que o objeto "mude de fase" em relação a cada tipo de raio. Isso permite que o objeto possa ser visto de forma tridimensional, o que é útil para a análise de estruturas internas.

Microscopia fluorescente usa lâmpadas de mercúrio, xenon ou halogênio de alta pressão as quais emitem luz de baixo comprimento de onda para iluminar o objeto. Uma série de filtros bloqueia o calor e a luz infravermelha selecionando um comprimento de onda específico emitido pelo objeto. Esta "fluorescência" é observada como um objeto altamente luminoso contra um fundo escuro. Esta técnica é muito útil para os organismos com fluorescência natural (p. ex., *Legionella*) e organismos corados com corantes fluorescentes específicos (p. ex., *Mycobacterium*).

2. Métodos de microscopia direta incluem o exame de amostras suspensas em água (exame direto de fungos, por exemplo) ou com um corante de contraste (azul de lactofenol para fungos ou iodo para parasitas).

Colorações diferenciais são as mais usadas para observação de bactérias (coloração de Gram e álcool-ácidorresistência), parasitas (coloração da hematoxilina férrica e do tricromo), e patógenos sanguíneos (Giemsa para *Borrelia* e *Plasmodium*). Uma grande quantidade de métodos de colorações ácidorresistentes foi desenvolvida (Ziehl-Neelsen, Kinyoun, fluorocrômica) para detecção de bactérias (M*ycobacterium, Nocardia, Rhodococcus*) e parasitas (*Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora*). Colorações fluorescentes usuais têm sido desenvolvidas para detectar fungos (coloração calcoflúor) e organismos ácidorresistentes (coloração auramina-rodamina).

Capítulo 15

1. Os três fatores que afetam o sucesso da cultura bacteriana são:
    I) Transporte adequado da amostra clínica até o laboratório
    II) Seleção adequada dos meios de cultura para semeadura
    III) Incubação em condições adequadas

2. Exemplos de meios enriquecidos, não seletivos:
    I) Agar Sangue
    II) Agar Chocolate
    III) Agar Mueller Hinton
    IV) Caldo tioglicolato
    V) Agar Sabouraud Dextrose

3. Exemplos de meios seletivos e diferenciais:
    I) Agar MacConkey: enterais Gram negativos
    II) Agar Sal Manitol: estafilococos
    III) Agar Heckton: enterais Gram negativos
    IV) Agar Lowenstein Jensen: micobactérias
    V) CHROMagar: Candida

Capítulo 17

1. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para separar as proteínas e Western-blot para identificar as proteínas do HIV.

2. Métodos genômicos de detecção tais como hibridização *in situ* na própria lâmina com esfregaço de Pap; método de reação em cadeia da polimerase (PCR) em células obtidas durante o procedimento em vista que proteínas virais seriam indetectáveis.

3. Efeitos citopatológicos tais como sincício ou corpúsculos de inclusão de Cowdry tipo A podem ser visualizados em esfregaços de Pap. Métodos genômicos de detecção, tais como hibridização *in situ* na própria lâmina com esfregaço de Pap, o método PCR de DNA celular ou métodos imunológicos para detectar o antígeno viral, podem ser utilizados.

4. A técnica de Ouchterlony de difusão de anticorpo ou ELISA podem ser utilizadas para a detecção de antígenos fúngicos.

5. A técnica de citometria de fluxo utilizando imunofluorescência é, provavelmente, o melhor método de identificação e quantificação de células de CD4 T e CD8 T.

6. A técnica de ELISA é utilizada para detectar a presença e estabelecer o título de anticorpos como método de triagem em bancos de sangue. O método de Western blot no soro do paciente é usado como técnica qualitativa de confirmação do teste de ELISA.

7. Polimorfismo migratório de fragmentos de restrição ou PCR podem ser utilizados para detectar diferenças genéticas entre cepas ou tipos de HSV.

8. PCR com transcriptase reversa pode ser utilizada para distinguir entre os dois tipos de vírus de parainfluenza.

9. Rotavírus nas fezes podem ser quantificados pela técnica de ELISA. Microscopia eletrônica é um método qualitativo.

10. Detecção de estreptococo do grupo A pode ser feita por ELISA o que inclui métodos rápidos (tipo os testes comerciais de detecção de gravidez) para detecção das estreptolisinas O e S. Técnicas mais sofisticadas, como eletroforese em campo pulsado do cromossoma e PCR, podem ser utilizadas para distinguir entre cepas diferentes.

Capítulo 18

1. (Para obter as respostas, consulte a Tabela 18.1)
   Ingestão: Salmonella spp, Shigella spp, Bacillus cereus, E. coli, Vibrio spp
   Inalação: *Mycobacterium* spp, *Mycoplasma pneumonia, Legionella* spp, Bordetella, *Streptococcus* spp, *Chlamydophila pneumoniae*
   Picadas de artrópodes: *Rickettsia, Ehrlichia, Coxiella, Francisella, Borrelia burgdorferei*

2. (Para obter respostas, consulte o Quadro 18-4)
   Encapsulamento antifagocítico: *Streptococcus pneumoniae*
   Crescimento intracelular: *Francisella tularensis*
   Produção de proteases anti-imunoglobulinas: *Neisseria gonorrhoeae*
   Proteínas de ligação IgG: *Staphylococcus* proteína A.
   Inibição da fusão fagolisossoma: *Legionella, Mycobacterium tuberculosis*
   Resistência às enzimas lisossômicas: *Salmonella typhimurium*

3. Exotoxinas:
   Enzimas degradativas: Alfa-toxina (Fosfolipase C de *C. perfringens*)
   Toxinas A-B: Toxina tetânica
   Superantígenos: Toxina da Síndrome do Choque Tóxico de *Staphylococcus aureus*

Capítulo 19

1. O sucesso em obter uma hemocultura positiva de um paciente com bacteremia ou fungemia é diretamente relacionado ao volume de sangue processado. A maioria dos pacientes clinicamente sépticos possui menos de um organismo por mL de sangue. A recomendação para garantir uma ótima recuperação de organismos é coletar 20 mL de sangue de um paciente adulto para cada hemocultura e volumes proporcionalmente menores para crianças e neonatos. Duas a três hemoculturas devem ser coletadas num período de 24 horas.

2. *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* do grupo A) é a causa mais comum de faringite bacteriana. Outras bactérias que podem causar faringites incluem *Streptococcus dysgalactiae* (*Streptococcus* grupo C ou G), *Arcanobacterium haemolyticum, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydophila pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae. Corynebacterium diphtheriae* e *Bordetella pertussis* também podem causar faringite, mas não são comumente isoladas nos Estados Unidos.

3. Organismos que causam infecções do trato respiratório inferior (exemplos: pneumonia, bronquite, abscesso pulmonar) são frequentemente originados do trato respiratório superior. A amostra apropriada para o diagnóstico de infecções do trato respiratório inferior deve ser livre de contaminação do trato respiratório superior. Estas características podem ser acessadas no laboratório clínico pela avaliação da amostra clínica quanto à presença de células epiteliais escamosas. Amostras contendo muitas células epiteliais escamosas e nenhuma bactéria predominante em associação com leucócitos não devem ser processadas para cultura.

4. Atualmente, os testes de amplificação de ácidos nucleicos são usados para detectar *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydophila trachomatis* em espécimes clínicas. Uma variedade de sistemas comerciais vem sendo desenvolvida com este propósito. Estes métodos são mais sensíveis que as técnicas convencionais de cultura. A sífilis, causada por *Treponema pallidum*, é mais comumente diagnosticada por métodos sorológicos. A microscopia de campo escuro também pode ser realizada, mas poucos laboratórios possuem experiência suficiente para utilizar esta técnica. O organismo é muito fino para ser observado pelo método de coloração de Gram.

Capítulo 20

1. A penicilina interfere na síntese da parede celular pela ligação específica às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), as enzimas reguladoras (exemplo: transpeptidases, transglicosilases, carboxipeptidases) responsáveis pela construção da camada de peptidoglicano da parede celular. A vancomicina também interrompe a síntese do peptidoglicano na parede celular, neste caso em bactérias Gram positivas. Porém, isto só é realizado quando a vancomicina interage com a terminação D-alanina-D-alanina das cadeias pentapeptídicas laterais, que interferem na formação das pontes que ligam as cadeias do peptidoglicano. A isoniazida inibe a síntese de ácidos micólicos, um importante componente da parede celular de micobactérias. A gentamicina, tetraciclina e eritromicina inibem a síntese proteica em bactérias. A gentamicina se liga de forma irreversível às proteínas da região 30S do ribossomo. Esta ligação aos ribossomos produz dois efeitos: a produção de proteínas anômalas como resultado dos erros de leitura do RNA mensageiro (mRNA) e a interrupção da síntese proteica por conta do ribossomo liberar prematuramente o mRNA. A tetraciclina liga-se de forma reversível à unidade 30S do ribossomo, bloqueando assim a ligação do aminoacil-RNA de transferência (RNAt) ao complexo ribossômico 30S-RNAm. A eritromicina, um antibiótico da classe dos macrolídeos, liga-se de forma reversível à região 23S do RNA ribossomal, bloqueando a extensão do polipeptídio. As polimixinas inserem-se nas membranas bacterianas como detergentes, interagindo com os lipopolissacarídeos e os fosfolipídios na membrana externa, produzindo aumento da permeabilidade celular e, eventualmente, a morte celular. A ciprofloxacina, que é uma fluoroquinolona, inibe as enzimas DNA topoisomerase tipo II (girase) das bactérias, que são necessárias para a replicação do DNA, recombinação e reparo. O sulfametoxazol é um antimetabólito que interfere com a síntese do ácido fólico.

2. As bactérias podem se tornar resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos pela (1) hidrólise do antibiótico por beta-lactamases, (2) modificação do alvo de ligação do antibiótico (PBP), por intermédio de uma nova PBP adquirida pelo organismo ou uma PBP existente alterada, que produz uma PBP enzimaticamente ativa e que não é reconhecida pelo antibiótico, ou (3) prevenção do acesso ao alvo, criando uma barreira de permeabilidade (exemplo: mudança nas porinas da parede celular de Gram negativos). *Staphylococcus aureus* se tornam resistentes à oxacilina e beta-lactâmicos relacionados, pela aquisição de uma nova PBP que é enzimaticamente ativa (p. ex., pode ser usada para construir a camada de peptidoglicano na parede celular), mas não é ligada e inativada pelo antibiótico. *Streptococcus pneumoniae* se torna resistente à penicilina quando adquire uma PBP alterada (por recombinação). *Pseudomonas aeruginosa* pode se tornar resistente ao imipenem por um ou dois mecanismos: (1) aquisição de beta-lactamases que degradam os antibióticos da classe dos carbapenens; ou (2) alteração da membrana externa da parede celular (mutação da porina) que impede a entrada de antibióticos dentro da célula.

3. Os organismos podem se tornar resistentes aos aminoglicosídeos pela: (1) modificação enzimática do antibiótico (o método mais comum), (2) redução da entrada de antibiótico na célula bacteriana, (3) aumento na eliminação do antibiótico de dentro da célula ou, (4) mutação no sítio de ligação do ribossomo.

4. As bactérias se tornam resistentes às quinolonas por mutações cromossômicas em genes estruturais da DNA girase e da topoisomerase tipo IV. Outros mecanismos menos comuns incluem a superexpressão de bombas de efluxo que eliminam o antibiótico de dentro da célula e diminuem a entrada dos mesmos por mutações nos genes que regulam a permeabilidade da membrana.

5. O trimetoprim interfere com o metabolismo do ácido fólico pela inibição da dihidrofolato redutase, impedindo a conversão do dihidrofolato para tetrahidrofolato. As sulfonamidas competem com o ácido *p*-aminobenzoico, impedindo também a síntese do ácido fólico, mas

em uma etapa diferente.

Capítulo 21

1. Este paciente possui artrite séptica causada por *S. aureus*. O organismo pode ter sido introduzido nas juntas por extensão direta da superfície da pele ou por disseminação hematogênica. Embora a bacteremia transitória causada por *S. aureus* possa ocorrer, ela não é comum. Portanto, sem evidência de infecção causada por *S. aureus* em outro sítio (exemplo: endocardite), a fonte mais provável deste organismo é a extensão direta da superfície da pele. Mesmo que a superfície da pele esteja sem lesões, traumas localizados podem introduzir organismos nos tecidos profundos da pele.

2. Doenças estafilocócicas podem ser subdivididas em duas categorias: infecções piogênicas localizadas e infecções disseminadas mediadas por toxinas. Infecções cutâneas (exemplos: impetigo, foliculite, furúnculos, carbúnculos), infecções de feridas, endocardite, pneumonia, epiema, osteomielite e artrite séptica são exemplos de infecções piogênicas localizadas. Cada uma é caracterizada pela destruição de tecidos localizados e pela formação de abscessos. A síndrome da pele escaldada estafilocócica (SSSS), síndrome do choque tóxico (TSS) e intoxicação alimentar estafilocócica são exemplos de infecções mediadas por toxinas. Cada uma caracterizada pela disseminação de sintomas e ausência de purulência.

3. *S. aureus* produz uma variedade de toxinas potentes. As doenças disseminadas mediadas por toxinas são caracterizadas pela produção de uma toxina específica ou um grupo de toxinas que se espalham sistematicamente no sangue e são responsáveis pelos sintomas clínicos: SSSS – toxina esfoliativa (ETA, ETB), TSS – toxina-1 da síndrome do choque tóxico; alimento contaminado – enterotoxinas (A-E, G-I). Cinco grupos de toxinas citolíticas são responsáveis pela destruição de tecidos característica de infecções estafilocócicas piogênicas: toxina alfa, toxina beta (esfingomielinase C), toxina delta, toxina gama (cinco toxinas bi-componentes diferentes), e Leucocidina Panton-Valentine (PVL). PVL está associada com infecções pulmonares e de feridas fulminantes. Uma variedade de enzimas estafilocócicas também tem sido implicada em doenças, entre elas a coagulase (ligada e livre), catalase, hialuronidase, fibrinolisina (estafiloquinase), lipases, nuclease e beta-lactamases.

4. Os estafilococos são protegidos da fagocitose pelas suas cápsulas; uma camada limosa frouxamente ligada à célula e que consiste em monossacarídeos, proteína e pequenos peptídeos; e proteína A.

5. O tratamento efetivo de infecções estafilocócicas requer uma drenagem de materiais purulentos e antibióticos efetivos. Pelo fato de a resistência aos antibióticos ser comum, testes de sensibilidade aos antimicrobianos devem ser realizados. Quase 90% dos estafilococos produzem beta-lactamases e, por isto, a penicilina G não é efetiva. Penicilinas resistentes à beta-lactamase (exemplo: oxacilina, nafcilina, dicloxacilina) são efetivas e consideradas o tratamento de escolha, se os antibióticos são ativos contra a bactéria. Se a resistência é determinada (lugar-comum em vários hospitais), a vancomicina deverá ser usada para tratar infecções estafilocócicas sérias.

Capítulo 22

1. Doenças causadas por *S. pneumoniae* são mais comuns em crianças e idosos, populações que não são capazes de produzir anticorpos contra pneumococos encapsulados. Além disto, pacientes com doenças pulmonares como a DPOC deste paciente, ou com um antecedente viral de infecção respiratória que comprometa a proteção do epitélio respiratorio ciliado, são susceptíveis à pneumonia causada por este organismo. Outras infecções causadas por *S. pneumoniae* incluem otite média (primariamente em crianças jovens), sinusites (em todos os grupos etários), meningites (em todos os grupos etários, mas primariamente em crianças e idosos) e bacteremia (usualmente secundária à pneumonia ou meningite). Pacientes com condições que interferem na eliminação bacteriana, como o alcoolismo, insuficiência cardíaca congestiva, diabetes melito, doença renal crônica e disfunção esplênica, apresentam um risco maior para contrair doença disseminada.

2. *S. pneumoniae* é capaz de adquirir por transformação (troca de DNA entre bactérias) um DNA que codifica proteínas ligadoras de penicilina alteradas (exemplos: PBP2x, PBP2b, PBP1a). Estas novas PBPs tornam a bactéria menos sensível às penicilinas e a algumas cefalosporinas.

3. *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* grupo A) causam doenças supurativas e não supurativas e são a causa mais comum de faringite bacteriana e de complicações sistêmicas causadas pela escarlatina. Outras doenças supurativas incluem pioderma, erisipela, celulite, fasciite necrosante, linfagite e pneumonia. Doenças não supurativas incluem febre reumática e glomerulonefrite aguda. *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* do grupo B) é um patógeno importante em neonatos e causam doença neonatal de início precoce (bacteremia, pneumonia, meningites) e doença neonatal de início tardio (bacteremia, meningites). *S. agalactiae* também causa doenças em mulheres grávidas, mais comumente infecções do trato urinário, mas também endocardites, meningites e osteomielites. Homens e mulheres idosos são também susceptíveis a apresentarem pneumonia, infecções em articulações, ossos, pele e tecidos moles. *Streptococcus dysgalactiae* é mais comumente associado à faringite e ocasionalmente à glomerulonefrite aguda (mas não febre reumática como nos casos de *S. pyogenes*). *Streptococcus anginosus* causam abscessos em tecidos profundos e estreptococos viridans causam uma variedade de doenças, entre elas, as mais comumente diagnosticadas são a endocardite bacteriana subaguda, cáries dentárias e formações de abscessos.

4. O maior fator de virulência de *S. pneumoniae* é a cápsula responsável pela proteção antifagocitária. As proteínas adesinas da superfície da bactéria facilitam a colonização da orofaringe pela ligação às células do epitélio. A fosfocolina presente na célula bacteriana liga-se à superfície de uma variedade de células (endotelial, leucócitos, plaquetas) e permite a entrada nestas células onde as bactérias são protegidas por opsonização e fagocitose. Ácido teicoico, fragmentos de peptidoglicano e pneumolisinas estimulam a resposta inflamatória levando a formação de abscessos. *S. pyogenes* possui muitos fatores de virulência. Antígenos bacterianos (exemplos: ácido lipoteicoico, proteínas M, proteínas F) mediam a aderência às células do hospedeiro. Proteínas M também funcionam para impedir a opsonização e fagocitose da bactéria. A bactéria também produz uma variedade de toxinas e enzimas citolíticas, incluindo exotoxinas pirogênicas, estreptolisinas (S e O), estreptoquinases (A e B), desoxirribonucleases (A to D), C5a peptidase e hialuronidase. *S. agalactiae* primariamente produz doença em hospedeiros que não são capazes de produzir uma resposta de anticorpos anticapsulares (neonatos, idosos). O papel das enzimas hidrolíticas (exemplo: desoxirribonucleases, hialuronidase, neuraminidase, proteases, hemolisinas) é desconhecido.

5. O choque tóxico estreptocócico é definido como qualquer infecção causada por *S. pyogenes* associada ao choque e à falência dos órgãos (incluindo diminuição da função,

coagulopatias, envolvimento do fígado, doenças pulmonares, necrose de tecidos moles, rompimento eritematoso generalizado). Em contraste com o choque tóxico estafilocócico, que é mediado pelo TSST-1, a doença estreptocócica é caracterizada pela presença de bactérias no sangue e nos tecidos envolvidos.

6. Febre reumática e glomerulonefrite aguda são complicações da doença causada por *S. pyogenes*. A febre reumática é associada com faringite estreptocócica, mas não com infecções cutâneas. A glomerulonefrite aguda é associada com infecções da faringe e pioderma, mas as cepas específicas responsáveis pela complicação são diferentes.

Capítulo 23

1. O fator que influenciou a susceptibilidade deste paciente à infecção por *Enterococcus* foi o tratamento prévio com vancomicina (não foi efetiva contra este organismo em particular) e cefalosporina (não é efetiva contra enterococos). A hospitalização prolongada também aumentou o risco de infecção deste paciente, assim como a idade do mesmo. Porém, estes fatores aumentam o risco de infecções por vários organismos e não especificamente por enterococos.

2. A origem mais provável deste organismo é o trato gastrointestinal. Não é comum encontrá-lo no trato respiratório.

3. O mais importante fator de virulência de enterococos é a resistência destes organismos aos antibióticos. Enterococos não produzem toxinas potentes e as enzimas hidrolíticas deles não são associadas com nenhuma patologia específica.

Capítulo 24

1. Culturas de sangue é o método mais sensível para detectar antraz, uma vez que pacientes que se contaminam por este organismo por inalação desenvolvem sepse. Doenças causadas por *Bacillus anthracis* é uma das poucas doenças que uma lâmina de sangue corada pelo método de Gram revela o organismo. Pacientes com antraz adquirido por inalação podem também desenvolver sintomas meníngeos. Por este motivo, o fluído cerebrospinal também deve ser coletado para cultura e microscopia corada pelo método de Gram. Embora secreções respiratórias sejam frequentemente coletadas, o rendimento destas amostras para o diagnóstico de antraz é relativamente baixo.

2. *B. anthracis* possui genes que codificam três proteínas: antígeno protetor (PA), fator de edema (EF) e fator letal (LF). O antígeno protetor combinado com o fator edema forma a toxina edema, que causa um aumento nos niveis de AMPc e subsequente edema. O antígeno protetor combinado com o fator letal forma a toxina letal, que causa a morte celular por mecanismos completamente desconhecidos. O outro fator de virulência produzido pelo *B. anthracis* é a cápsula polipeptídica, que consiste de poli-D-ácido glutâmico, que interfere com a fagocitose.

3. PA liga-se a receptores especificos do hospedeiro, que estão presentes em várias células e tecidos (exemplo: cérebro, coração, intestino, pulmão, músculo do esqueleto, pâncreas, macrófagos). Depois de ligados aos receptores, a protease do hospedeiro cliva a PA, retendo um fragmento de 63 kDa na superfície da célula. Estes fragmentos associados à superfície celular formam um complexo de sete fragmentos em forma de anel (poro precursor ou preporo). Esse complexo heptâmero, em seguida, pode ligar-se a até três moléculas de LF e ou EF. LF ou EF são transportadas para dentro da célula onde liberam seus efeitos. LF é uma protease zinco-dependente que é capaz de clivar uma proteína quinase mitógeno-ativada, levando a morte celular por um mecanismo ainda não conhecido completamente. EF é uma adenilato ciclase calmodulina-dependente que aumenta os níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMP_c), resultando em edema.

4. *B. cereus* produz duas enterotoxinas. A enterotoxina termo-estável, resistente à proteólise, é responsável pela forma emética da doença e a enterotoxina termo-lábil é responsável pela forma diarreica. A enterotoxina termo-lábil assemelha-se à enterotoxina produzida pela *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae*, estimulando o sistema adenilato ciclase monofosfato de adesinosina cíclico (AMPc) nas células epiteliais intestinais, levando assim a uma profusa diarreia aquosa. Ainda é desconhecido o mecanismo de ação da enterotoxina termo-estável.

5. As condições associadas a infecções oculares causadas por *B. cereus* são: (1) Traumática, normalmente ocorrem após lesões traumáticas, por intermédio de um objeto contaminado com o solo, que penetra e machuca os olhos, e (2) Infecções disseminadas com manifestações oculares, que podem se desenvolver em usuários de drogas intravenosas contaminadas por *B. cereus*.

Capítulo 25

1. O cocobacilo Gram positivo mais comum que causa meningite em pacientes imunocomprometidos é *Listeria monocytogenes*. *Streptococcus pneumoniae*, a causa mais comum de meningites bacterianas nos EUA, também deve ser considerado. Embora este organismo seja um diplococo Gram positivo, as células elongadas podem ser confundidas com pequenos bacilos Gram positivos (cocobacilos), por microscopistas inexperientes. Porém, *Listeria* é movel e produz beta hemólise fraca em meio de agar sangue, diferentemente de *S. pneumoniae*.

2. As fontes mais comuns deste organismo são queijos, requeijão e carnes frias, mal cozidas. *Listeria* pode se multiplicar nestes produtos alimentares em altas concentrações, mesmo quando armazenados no refrigerador. Outras fontes deste organismo incluem leite contaminado, legumes crus e repolho.

3. *Listeria* é um patógeno intracelular, que o protege da fagocitose. Cepas virulentas também produzem fatores de aderência celular e hemolisinas. A habilidade do organismo de crescer em baixas temperaturas o torna capaz de se multiplicar em diferentes lugares até atingir concentrações que causam a doença.

4. O tratamento de infecções causadas por *Listeria* é complicado pelo fato de o organismo ser naturalmente resistente a vários antibióticos comumente utilizados, incluindo as cefalosporinas. O tratamento de escolha para infecções graves é a combinação de ampicilina ou penicilina com um aminoglicosídeo. Testes de susceptibilidade aos antimicrobianos devem ser realizados, uma vez que o aumento de resistência destes organismos vem sendo notado.

Capítulo 26

1. *C. jeikeium* é um patógeno oportunista que acomete principalmente os pacientes imunocomprometidos que apresentam doenças hematológicas ou fazem uso de cateteres intravasculares. Este organismo pode ganhar acesso pela pele ou mucosas chegando até o sangue, onde, então, estabelecem a doença.

2. Esta espécie de *Corynebacterium* é relativamente resistente aos antibióticos. O antibiótico mais confiável para o tratamento de infecções graves causadas por este organismo é a vancomicina.

3. Duas espécies de *Corynebacterium* resistentes aos antibióticos são *C. jeikeium* e *C. urealyticum*, importantes patógenos do trato urinário.

4. As cepas de *Corynebacterium diphtheriae* responsáveis pela difteria são infectadas por um bacteriófago lisogênico que carrega o gene *tox*. Este gene codifica a exotoxina diftérica, responsável pela doença. Depois da transcrição do gene, a sequência líder é clivada pela toxina proteica e secretada pela célula bacteriana. A molécula de toxina é subsequentemente clivada em dois polipeptídeos (A e B) que permanecem unidos por uma ponte dissulfeto (esta proteína é um exemplo clássico de uma exotoxina do tipo A-B). A subunidade B da exotoxina adere-se a receptores presentes na superfície de várias células eucarióticas (incluindo células cardíacas e nervosas) e a sequência de translocação é inserida na membrana endossomal, facilitando a internalização da região catalítica da subunidade A no citosol. A subunidade A então bloqueia a síntese de proteínas da célula hospedeira pela inativação do fator de alongamento 2 (EF-2), um fator envolvido na movimentação das cadeias peptídicas originadas nos ribossomos.

Capítulo 27

1. *Nocardia* é uma bactéria de crescimento relativamente lento. Embora seja possível que o crescimento seja observado depois de dois dias de incubação, na maioria dos casos, as culturas podem precisar de até sete dias de incubação para o crescimento ser detectado. Isto é particularmente problemático com espécimes de escarro, onde as bactérias de crescimento rápido da orofaringe podem esconder as colônias de *Nocardia*. Portanto, se existe a suspeita de *Nocardia*, a cultura deverá ser incubada por um período prolongado.

2. Os tecidos mais comuns envolvidos na disseminação de infecções por *Nocardia* são a pele e o sistema nervoso central.

3. *N. brasiliensis* é mais comumente associada a infecções cutâneas primárias (exemplo: abscessos formados no lugar do trauma, micetoma).

4. Infecção causada por *Rhodococcus* em humanos ocorre mais comumente em pacientes imunocomprometidos (exemplo: pacientes infectados com o vírus HIV ou pacientes transplantados) que usualmente apresentam doença pulmonar invasiva (exemplo: nódulos pulmonares, solidificação, abscessos pulmonares).

5. *Rhodococcus* e *Nocardia* são bacilos Gram positivos fracamente álcool-acidorresistentes. Esta propriedade é melhor visualizada em colônias cultivadas em meios para micobactérias (exemplo: meio de Lowenstein-Jensen e agar Middlebrook). Outros gêneros fracamente álcool-acidorresistentes são: *Tsukamurella* e *Gordonia*.

6. Bactérias e fungos selecionados podem causar micetomas. A causa mais comum de micetoma bacteriano nos Estados Unidos é *Nocardia brasiliensis*. As outras espécies de *Nocardia* são menos comuns.

Capítulo 28

1. As micobactérias são as únicas bactérias que possuem na parede celular, longas cadeias (60 a 90 carbonos) de ácidos micólicos. Esta característica única das micobactérias de possuírem uma complexa parede celular rica em lipídios é responsável por muitas das propriedades características da bactéria, como, por exemplo: acidorresistência, resistência a detergentes, resistência aos antibióticos antibacterianos comuns e resistência a vários procedimentos de desinfecção.

2. Em um hospedeiro normal, a replicação de micobactérias estimula as células T "helper" (CD4+) e citotóxicas (CD8+). As células T liberam interferon gama e outras citocinas que ativam os macrófagos e que podem destruir as micobactérias. Como os pacientes HIV positivos possuem uma contagem baixa de células T CD4+, a destruição de micobactérias por via imunológica é diminuída. Por isto, estes pacientes possuem uma progressão mais rápida da doença quando comparados a pacientes imunocompetentes.

3. A população de pacientes é que determina a definição de um teste PPD positivo. Para pacientes com um sistema imunológico prejudicado (exemplo: por infecção causada pelo HIV ou durante recebimento de terapia imunossupressora), para pessoas que tiveram contato recente com pacientes com tuberculose, ou exposição à micobactéria num passado distante, uma reação de 5 mm ou mais de endurecimento da pele é considerada positiva. Uma reação de 10 mm ou mais é considerada positiva em imigrantes recentes de países com alta prevalência de tuberculose, ou em usuários de drogas intravenosas, residentes e funcionários de locais considerados de alto-risco, pessoas com condições de alto risco e crianças expostas a adultos considerados de alto risco. Uma reação de 15 mm ou maior é considerada positiva em pessoas com baixo risco para adquirir tuberculose.

4. A apresentação clínica da lepra varia da forma tuberculoide à forma lepromatosa. A lepra tuberculoide é uma forma mais branda, caracterizada por manchas da pele não pigmentadas. Os pacientes apresentam uma forte reação imune celular (teste da pele positivo), com muitos linfócitos e granulomas presentes nos tecidos e relativamente poucos bacilos. A forma lepromatosa está associada a lesões de pele desfigurantes, nódulos, placas, espessamento da derme e envolvimento da mucosa nasal. Os pacientes com lepra lepromatosa apresentam uma forte resposta de anticorpos, mas um defeito específico na resposta imune celular aos antígenos de *M. leprae*. Como a resposta imune celular é responsável pela eliminação dos bacilos, este defeito é associado a uma abundância de bactérias tipicamente observada nos tecidos infectados.

5. As micobactérias são organismos que se multiplicam relativamente devagar. Assim, terapias prolongadas são necessárias para eliminarem as bactérias. Acredita-se que aproximadamente uma a cada 100.000 ou 1.000.000 de bactérias irá desenvolver resistência a um antibiótico utilizado no tratamento. Como números grandes de bacilos estão tipicamente presentes numa infecção, se um único antibiótico for utilizado no tratamento, a resistência poderá se desenvolver rapidamente. Por isto, os pacientes devem tomar múltiplos antibióticos por um longo período de tempo, garantindo o sucesso no tratamento de infecções causadas por micobactérias.

Capítulo 29

1. A abundância de leucócitos no líquido cefalorraquidiano (LCR), a concentração alta de proteínas e os baixos níveis de glicose são consistente com meningite bacteriana. Os agentes causadores mais comuns de meningite em adultos jovens saudáveis são *Streptococcus pneumoniae* (diplococos Gram positivos) e *Neisseria meningitidis* (diplococos Gram negativos). A morfologia observada na lâmina corada pelo método de Gram é consistente com *N. meningitidis*.

2. A exposição de indivíduos saudáveis a pacientes infectados por *N. meningitidis* é um evento médico assustador, uma vez que a progressão da doença é muita rápida. A quimioprofilaxia é recomendada para indivíduos que tiveram contato de perto com o paciente infectado. Isto deve ser restrito a: contatos na mesma casa ou de pessoas que moram no mesmo lugar, particularmente crianças jovens; para crianças que frequentam a mesma creche ou para crianças que são cuidadas pela mesma pessoa ou, ainda, para crianças que brincam junto com outras crianças que foram infectadas; para contatos sociais próximos, indivíduos que foram expostos à secreção oral em até uma semana antes do diagnóstico (exemplos: beijos, uso dos mesmos utensílios de alimentação ou da mesma escova de dente); profissionais médicos que estão mais próximos aos pacientes (exemplos: ressuscitação boca a boca ou exposição a secreções durante a entubação endotraqueal). Os antibióticos atualmente recomendados para quimioprofilaxia são: rifampicina, ciprofloxacina (adultos) ou ceftriaxona.

3. Outras doenças causadas por *N. meningitidis* incluem: septicemia (meningococcemia), pneumonia, artrite e uretrite. Meningococcemia pode progredir para coagulação intravascular disseminada com choque e destruição bilateral das glândulas suprarrenais (síndrome de Waterhouse-Frederichsen).

4. O gênero *Neisseria* possui dois patógenos muito bem conhecidos – *N. meningitidis* e *N. gonorrhoeae* – e uma variedade de espécies menos patogênicas. Ambas as espécies patogênicas são capazes de aderir e penetrar dentro das células do hospedeiro. Dentro das células elas evitam a morte intracelular, multiplicam-se e então passam através das células para o espaço subepitelial, onde a resposta inflamatória e a subsequente destruição do tecido são iniciadas pela endotoxina bacteriana.

Capítulo 30

1. As infecções gastrointestinais são associadas à *Escherichia, Salmonella, Shigella* e *Yersinia*. Ambas *Escherichia* e *Shigella* podem causar colites hemorrágicas.

2. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e *Shigella dysenteriae* produzem a toxina Shiga, que é uma exotoxina A/B. As cinco subunidades B da molécula de toxina se ligam ao glicolipídio (GB_3) da célula hospedeira e facilitam a transferência da subunidade A para dentro da célula. Uma elevada concentração de receptores GB_3 é encontrada nas vilosidades intestinais e nas células endoteliais renais. Após internalização, a subunidade A é clivada em duas moléculas, produzindo o fragmento A1 que se liga ao ácido ribonucleico ribossomal 28S rRNA e causa o bloqueio da síntese de proteínas. Uma complicação séria da doença é a síndrome urêmica hemolítica (HUS). Nesta situação as células glomerulares endoteliais são destruídas. Danos às células endoteliais levam à ativação de plaquetas e deposição de trombina, que por sua vez resulta na diminuição da filtração glomerular e falha renal aguda.

3. *E. coli* pode causar gastroenteritis em uma variedade de formas. As características das cepas de EHEC estão descritas anteriormente. As cepas de *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) produzem duas classes de enterotoxinas: toxinas termo-lábeis (LT-I, LT-II) e toxinas termo-estáveis (STa e STb). Estas toxinas produzem níveis elevados de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) ou monofosfato de guanosina cíclica (cGMP) com subsequente hipersecreção de fluidos (diarreia aquosa). A infecção causada por *E. coli* enteropatogênica (EPEC) começa com a ligação da bactéria às células do epitélio do intestino delgado, com subsequente destruição das microvilosidades [lesão A/E ("attachment/effacement" – adesão/obliteração ou destruição)]. As cepas de *E. coli* enteroagregativa (EAEC) também causam diarreia aquosa devido à autoaglutinação destas bactérias no epitélio do intestino delgado. As cepas de *E. coli* enteroinvasora (EIEC) são capazes de invadir e destruir o epitélio do cólon, produzindo uma doença caracterizada inicialmente pela diarreia aquosa. A doença pode progredir para uma forma de disenteria, consistindo de febre, cólicas abdominais, sangue e leucócitos nos espécimes fecais.

4. As infecções causadas por *Salmonella* podem resultar em colonização assintomática, gastroenterite, septicemia e febre entérica (febre tifoide ou paratifoide).

5. Doenças causadas por *Salmonella typhi* começam pela ingestão do organismo. Depois, as bactérias atravessam as células que revestem o intestino e são engolfadas pelos macrófagos. Dentro dos macrófagos as células são transportadas para o fígado, baço e medula óssea, onde elas se multiplicam, ainda dentro dos macrófagos. Duas semanas após a ingestão das bactérias, os pacientes gradualmente experimentam febre crescente com reclamações não específicas de dores de cabeça, mialgias, mal-estar e anorexia. A partir do fígado, a bactéria consegue se disseminar pela vesícula biliar e volta ao intestino, onde a doença diarreica é desenvolvida. Infecções causadas por *Shigella sonnei* são tipicamente restritas ao intestino, onde a bactéria adere-se e invade as células M localizadas nas placas de Peyer. Neste momento, a bactéria inicia a multiplicação intracelular e dissemina-se diretamente de célula a célula. Com a morte das células infectadas do hospedeiro, a integridade da parede intestinal é desestabilizada levando a destruição do tecido localizado e a colites hemorrágicas.

6. Existem duas formas de infecção por *Y. pestis*: a peste urbana, para a qual o rato é o reservatório natural, e a peste silvestre, que causa infecções em esquilos, coelhos, ratos do campo e gatos domésticos. A peste silvestre é difícil ou impossível de ser eliminada por causa do reservatório de mamíferos e vetores de pulgas que estão disseminados. Assim, os padrões cíclicos de doenças em humanos ocorrem à medida que as oportunidades para contato com populações reservatório aumentam ou diminuem. A peste urbana permanece nas populações de ratos e é transmitida entre os ratos, ou entre ratos e humanos pelas pulgas infectadas. A

peste urbana pode ser eliminada das comunidades pelo controle efetivo de ratos e pela melhora das condições de higiene.

Capítulo 31

1. Infecções causadas por *Vibrio cholerae* podem variar de infecções assintomáticas a diarreias graves e fatais. As manifestações clínicas da cólera começam em torno de 2 a 3 dias após a ingestão da bactéria, com um início abrupto de diarreia aquosa e vômito. A grave perda de eletrólitos e fluidos pode levar à desidratação, dolorosas câimbras musculares, acidose metabólica (perda de bicarbonato), hipocalemia e choque hipovolêmico (perda de potássio), com arritmia cardíaca e falha renal. Os sintomas podem ser resolvidos após alguns dias com diarreia.

2. O fator de virulência mais importante responsável pela cólera é a toxina colérica (toxina A-B). Um anel de cinco subunidades B idênticas as da toxina colérica liga-se ao gangliosídeo GM1, um receptor localizado nas células do epitélio intestinal, formando um poro que facilita o transporte da subunidade A para dentro da célula. A porção ativa da subunidade A é internalizada e interage com as proteínas G que controlam a adenilato ciclase, levando à conversão catabólica do trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). O resultado é uma hipersecreção de água e eletrólitos. Outros fatores de virulência de *V. cholerae* incluem pilus corregulado com a toxina, toxina da zonula occludens, enterotoxina acessória da cólera e fator de colonização.

3. O paciente provavelmente adquiriu esta infecção pela ingestão de água ou comida contaminada. Uma alta dose do organismo é necessária para estabelecer a infecção e, por isto, a doença é primariamente restrita a comunidades onde as condições sanitárias são precárias. Infecções causadas por *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* ocorrem primariamente pelo consumo de frutos do mar crus ou mal cozidos, particularmente ostras.

4. A cólera pode ser controlada em áreas endêmicas pelo melhoramento das condições sanitárias da comunidade (exemplos: tratamento adequado de esgotos, uso de sistemas de purificação para eliminar contaminações nos suprimentos de água e implementação de ações apropriadas para evitar a contaminação de alimentos).

Capítulo 32

1. Infecções por *Campylobacter jejuni* têm sido associadas com uma grande variedade de alimentos; entretanto, a fonte mais comum é o frango contaminado. Cozinhar completamente todo o frango e desinfetar as superfícies onde o frango cru foi preparado pode evitar infecções.

2. As três espécies mais comuns de *Campylobacter* associadas com gastrinterites são *C. jejuni, C. coli* e *C. upsaliensis*. *C. fetus* é a espécie mais comumente associada com septicemia.

3. Doenças causadas por *Helicobacter pylori* incluem gastrinterites, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma de mucosa gástrica associado à célula B (MALT). *Helicobacter cinaedi* e *Helicobacter fenelliae* colonizam o trato gastrintestinal e têm sido associados com proctites, proctocolites e enterites em homossexuais.

4. *H. pylori* produz uma proteína inibidora de ácidos que induz a hipocloridria durante a infecção aguda através do bloqueio da liberação da secreção ácida das células parietais. *H. pylori* produz urease que também neutraliza os ácidos gástricos através da transformação da ureia em amônia. *H. pylori* produz uma variedade de adesinas que favorecem a ligação ao epitélio gástrico, incluindo ligação ao ácido siálico, antígenos do grupo sanguíneo de Lewis e várias outras hemaglutininas. Mucinase e fosfolipases causam dano à mucosa gástrica, enquanto superóxido dismutase e catalase interferem com a morte fagocitária.

Capítulo 33

1. *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno oportunista. Pacientes com condições que comprometem a imunidade (p. ex., leucemia e terapia imunossupressora) têm risco aumentado para infecção por este microrganismo. Da mesma forma, devido à resistência de *P. aeruginosa* a muitos antibióticos, o tratamento prévio com antibióticos de amplo espectro pode fazer seleção para colonização e subsequente infecção com *P. aeruginosa*.

2. *P. aeruginosa* é um patógeno oportunista particularmente efetivo devido a vários fatores de virulência. A bactéria pode aderir às células do hospedeiro através de pili e outras adesinas. A cápsula também funciona como fator de aderência, além de interferir na fagocitose. Como outras bactérias Gram negativas, *P. aeruginosa* possui endotoxina. Além disso, a bactéria produz exotoxina A (ETA) que interfere na síntese proteica e tem sido implicada no dano tecidual observado em infecções cutâneas, oculares e pulmonares. Uma variedade de outras enzimas (exoenzima S e T, elastases, protease alcalina, fosfolipase C) contribui para o dano tecidual característico das infecções por *Pseudomonas*. A resistência a antibióticos torna o tratamento difícil.

3. A mutação de porinas pode interferir na penetração de muitas classes de antibióticos através da membrana externa da célula bacteriana. *Pseudomonas* também produz uma variedade de beta-lactamases que podem inativar antibióticos beta-lactâmicos, incluindo carbapenens como imipenem e meropenem. Menos frequentemente *Pseudomonas* pode aumentar o efluxo do antibiótico, reduzindo a concentração intracelular a níveis não efetivos.

4. Complexo *Burkholderia cepacia* - este é um complexo de espécies que tem sido associado a infecções respiratórias em pacientes com FC, infecções do trato urinário em pacientes cateterizados, septicemia em pacientes com cateter intravascular e infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos. As infecções podem ser tratadas com sulfametoxazol-trimetoprim. *Stenotrophomonas maltophilia* - este é um agente oportunista que causa infecções (bacteremia, pneumonia, infecções de tecido e do trato urinário) em pacientes debilitados com defesas diminuídas. Resistência a antibióticos é comum, sendo sulfametoxazol-trimetoprim o agente mais efetivo. Levofloxacim e ceftazidima também podem ser usados para tratar as infecções. *Acinetobacter baumannii* - também é um patógeno oportunista que causa principalmente infecções do trato respiratório, e tem sido implicado em infecções de tecido e do trato urinário. Tem sido relatada resistência a muitos antibióticos de modo que a terapia efetiva depende de testes de suscetibilidade *in vitro*. Terapia empírica para infecções sérias deve combinar um beta-lactâmico de amplo espectro (ceftazidima, imipenem) e um aminoglicosídeo. *Moraxella catarrhalis* – este organismo é uma causa comum de bronquite e broncopneumonia em pacientes idosos com doença pulmonar crônica, de sinusites e otites. Quase todos os isolados são resistentes à penicilina; a bactéria é uniformemente suscetível a outros antibióticos.

Capítulo 34

1. Meningite causada por *Haemophilus influenzae* é relativamente infrequente desde a introdução da vacina contra *H. influenzae* tipo B. A doença ainda é observada em crianças não vacinadas e menos frequentemente em pacientes idosos com imunidade diminuída. Mais comumente doenças por *H. influenzae* são causadas por cepas não tipáveis que colonizam a orofaringe e são capazes de invadir o sistema nervoso central após trauma (p. ex., ferimento na cabeça após acidente de carro). Meningites por *S. pneumoniae* e *N. meningitidis* são mais frequentes em pacientes muito jovens ou idosos, embora a doença seja descrita em todas as faixas etárias. Diferentemente do *H. influenzae*, a vacinação pouca eficácia no controle destas infecções.

2. Este caso de *H. influenzae* provavelmente é causado por uma cepa não tipável, em contraste com *H. influenzae* tipo B que causava doença pediátrica antes da vacinação.

3. Cepas não tipáveis de *H. influenzae* são comumente associadas com sinusite, otite e doença broncopulmonar. As duas primeiras são observadas em indivíduos previamente saudáveis, enquanto a última é mais frequente em indivíduos com doença pulmonar crônica. Outras espécies de *Haemophilus* que têm sido associadas com doença clínica incluem *H. aegyptius* (conjuntivite, febre purpúrica brasileira), *H. ducreyi* (cancroide) e *H. aphrophilus* (endocardite).

4. *H. influenzae* requer NAD (fator V) e heme (fator X). Embora ambos estejam presentes no sangue dos meios de cultura, o agar sangue de carneiro (o agar sangue mais comumente usado) deve ser aquecido para destruir os inibidores do fator V. Este agar aquecido (agar chocolate) é usado para crescimento do *H. influenzae*. Algumas espécies de *Haemophilus* (p. ex., *H. ducreyi, H. aphrophilus*) não necessitam fator V e crescem em agar sangue.

5. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* é um importante patógeno responsável por periodontite e menos comumente por endocardite bacteriana subaguda. Este organismo é um habitante normal da orofaringe humana.

6. *Pasteurella multocida* é associada à mordida de animal, exacerbação de doenças pulmonares crônicas e infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos (especialmente pacientes com doença hepática). Este organismo faz parte da microbiota oral de cães e gatos.

Capítulo 35

1. Os testes usados para confirmar o diagnóstico clínico incluem microscopia, amplificação do ácido nucleico (PCR) e sorologia. O teste de maior sensibilidade e especificidade é o PCR, que é o teste de escolha. A microscopia tem valor limitado. A coloração de Gram não é útil, e não deve ser realizada, porque as bactérias (cocobacilos Gram negativos) são difíceis de detectar em espécimes clínicos. Teste de imunofluorescência direta (IFD) é útil, mas tem sensibilidade de 50% e tem sido relatada reação cruzada com outros organismos. A cultura é limitada pela qualidade do espécime coletado (melhor aspirado de nasofaringe) e do meio de cultura (deve ser usado meio de Regan-Lowe com carvão). Menos de metade dos pacientes com coqueluche tem a doença confirmada pela cultura positiva. A sorologia também tem valor limitado porque depende da observação do aumento de anticorpos, o que pode levar semanas a meses.

B. pertussis é extremamente sensível à dessecação. O melhor espécime para diagnóstico é o aspirado de nasofaringe, que deve ser inoculado imediatamente, ou colocado em meio de transporte e enviado rapidamente para o laboratório.

2. Pertactina (proteína P69) e hemaglutinina filamentosa promovem a ligação com as células do hospedeiro. Toxina pertussis (toxina A-B) produz um aumento nos níveis do AMPc com consequente produção de muco e aumento nas secreções respiratórias. Adenilatociclase/hemolisina inibe a quimiotaxia de leucócitos, fagocitose e morte bacteriana. Citotoxina traqueal em baixa concentração causa ciliostase e em alta concentração causa destruição das células ciliadas, com posterior rompimento dos mecanismos normais de limpeza do trato respiratório.

Após 7 a 10 dias de incubação a doença progride em três estágios. O estágio catarral se assemelha a um resfriado comum. Após 1 a 2 semanas inicia o estágio paroxístico com acessos de tosse característicos (uma série de tosses repetitivas seguidas por ruído inspiratório). Após 2 a 4 semanas inicia o estágio de convalescença, no qual a tosse diminui mas ocorrem complicações secundárias. A doença é prevenida com vacinação dos indivíduos suscetíveis. A persistência da imunidade tem sido questionada e vacinação de reforço em adultos está sob consideração. Isso é dificultado pelo alto nível de complicações devido à vacina em indivíduos idosos.

Capítulo 36

1. O diagnóstico clínico de tularemia pode ser confirmado por microscopia, cultura, PCR ou sorologia. A microscopia é limitada pelo fato de os organismos serem extremamente pequenos e frequentemente passarem despercebidos em espécimes clínicos. Teste de imunofluorescência direta (IFD) está disponível, mas raramente é usado em laboratórios clínicos. A cultura tem sido considerada com baixa sensibilidade; entretanto, na experiência deste autor, o teste é sensível se for utilizado o meio adequado (agar carvão com extrato de levedura) com incubação prolongada. As culturas devem ser manuseadas com muito cuidado porque os organismos são extremamente infecciosos. Testes baseados no PCR são sensíveis e específicos, mas não estão amplamente disponíveis. Maioria dos diagnósticos é feita retrospectivamente, através de métodos sorológicos. Reação cruzadas podem ocorrer (p. ex., com Brucella), mas isso normalmente não constitui um problema diagnóstico.

2. As fontes mais frequentes de tularemia nos Estados Unidos são o manuseio de animais (coelhos) ou carrapatos infectados. Os carrapatos necessitam de um contato longo para transmitir a bactéria, e a exposição a animais inclui tanto ingestão como exposição a aerossóis infecciosos durante a retirada do pelo do animal.

3. Várias formas de tularemia são reconhecidas. Doença pulmonar após exposição a um aerossol infectante é a forma mais severa da doença. Outras formas são a doença ulcero-glandular (úlcera cutânea no local da inoculação com aumento dos linfonodos), óculo-glandular (envolvimento do olho com aumento dos gânglios cervicais), doença tifoide (septicemia e doença pulmonar) e doença gastrintestinal (após ingestão da bactéria).

Capítulo 37

1. Uma variedade de testes laboratoriais pode ser usada para diagnosticar infecções por *Legionella*, incluindo microscopia, cultura, testes com antígenos, PCR e sorologia. A coloração de Gram (usada neste caso) geralmente é negativa porque os bacilos Gram negativos são delgados demais para serem observados em espécimes clínicos. Testes diretos com anticorpos fluorescentes, antes usados, foram abandonados pela maioria dos laboratórios devido à baixa sensibilidade e reações cruzadas com outros organismos. Cultivo em meio apropriado (BCYE) com incubação prolongada é um teste sensível e específico. A maioria dos pacientes terá cultura positiva quando as culturas forem incubadas por pelo menos uma semana. Uma vez que esta bactéria requer L-cisteína e sais de ferro para isolamento primário, não haverá crescimento em agar sangue ou agar chocolate. Foi desenvolvido um antígeno urinário específico e sensível para *Legionella pneumophila* sorogrupo 1. Este é o sorogrupo mais frequentemente implicado na doença. O teste pode ter reação com outros grupos, mas não deve ser usado sem outros testes diagnósticos (cultura ou PCR). O teste de escolha é o PCR por ser sensível e específico; entretanto muitos laboratórios não realizam esse teste de rotina. A sorologia pode ser usada para confirmar exposição prévia à *Legionella* ou infecção corrente, se for observado um aumento significativo de anticorpos. A soroconversão pode demorar até 6 meses. Reações cruzadas podem ocorrer, de modo que a sorologia tem valor limitado na confirmação da infecção por *Legionella*.

2. *Legionella* é capaz de penetrar nas células, inicialmente ligando o complemento a uma porina de membrana e depois com receptores na superfície dos fagócitos mononucleares. Após a fagocitose as bactérias inibem a fusão com o lisossomo. Assim, o organismo é capaz de se replicar nos vacúolos intracelulares sem exposição ao superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila tóxicos.

3. *Legionella* é capaz de sobreviver em reservatórios naturais de água, e em biofilme em unidades de ar condicionado e sistemas como chuveiros e canos de banheiras. A bactéria pode sobreviver à exposição com água quente e desinfetantes. Na natureza a bactéria parasita amebas de vida livre e pode sobreviver neste nicho protegido. Ainda que o organismo não possa ser eliminado das fontes naturais, os sistemas de água devem ser limpos usando hipercloração, superaquecimento ou ionização contínua do suprimento de água (para questões sérias como infecções nosocomiais documentadas).

Capítulo 38

1. A maioria dos casos de doença da arranhadura do gato é causada por *Bartonella henselae*. Geralmente poucos organismos estão presentes nos tecido, de modo que a microscopia e a cultura raramente são úteis. Em contraste, nas infecções em pacientes HIV as culturas têm valor na confirmação de septicemia por *Bartonella*. O diagnóstico definitivo da doença da arranhadura do gato é feito por evidência sorologia de uma infecção recente. Podem ocorrer infecções cruzadas com *Coxiella* e *Chlamydia*.

2. *Bartonella quintana* causa febre das trincheiras, endocardite bacteriana subaguda e angiomatose bacilar. *B. henselae* causa doença da arranhadura do gato, angiomatose bacilar, peliose hepática, endocardite bacteriana subaguda e bacteremia crônica em pacientes imunocomprometidos. A doença da arranhadura do gato (como sugere o nome) está associada com a exposição a gatos (arranhões, mordidas, contato com mosca do gato). *Bartonella* está na orofaringe do gato e é transferida para as garras durante procedimentos de limpeza e manuseio. Não existe reservatório animal de *B. quintana*, as infecções são transmitidas de pessoa a pessoa através do piolho humano.

3. *Cardiobacterium* (como o nome sugere) causa endocardite. *Streptobacillus* é um dos agentes etiológicos da febre da mordedura do rato. O consumo de alimentos ou água contaminada pode produzir uma doença (febre de Haverhill) caracterizada por faringite e vômito.

Capítulo 39

1. O diagnóstico de tétano é baseado na apresentação clínica e dados clínicos (p. ex., história de ferimento penetrante em indivíduo não imune). Testes laboratoriais que podem ser usados para confirmar o diagnóstico incluem microscopia (útil se positivo, mas geralmente não são observadas bactérias no tecido) e cultura (baixa sensibilidade porque os organismos são extremamente sensíveis ao oxigênio). Sorologia não é útil (não se desenvolvem anticorpos contra a toxina).

2. O tratamento deve iniciar imediatamente na suspeita de tétano. Ele inclui desbridamento da ferida primária, uso de metronidazol, imunização passiva com imunoglobulina humana e vacinação com toxoide tetânico. O desbridamento do tecido e a terapia antibiótica eliminam as células vegetativas que produzem toxina, a imunização passiva inativa a toxina livre (a toxina ligada não pode ser eliminada), e a vacinação protege o paciente de futura exposição à toxina. O prognóstico depende do local do ferimento inicial e da rapidez dos procedimentos de tratamento adequados. No EUA a mortalidade é relativamente baixa porque o diagnóstico geralmente é rápido e medidas adequadas estão disponíveis. Em países menos desenvolvidos a mortalidade associada ao tétano é alta.

3. Tetanoespasmina e toxina botulínica são ambas toxinas A-B. A subunidade B da tetanoespasmina se liga a receptores do ácido siálico e glicoproteínas adjacentes na superfície dos neurônios motores. As toxinas são então internalizadas em vesículas endossomais e transportadas pelo axônio até o corpo do neurônio motor localizado na coluna espinhal. Neste local o endossomo se torna acidificado, levando a alteração da conformação da cadeia B, facilitando o transporte da cadeia A para o citoplasma da célula. A cadeia A é uma endopeptidase que degrada proteínas que regulam os transmissores inibitórios glicina e ácido amino-gama-butírico. Isto ocasiona excitação desregulação da atividade sináptica do neurônio motor. A toxina botulínica também se liga a receptores siálicos específicos e glicoproteínas na superfície nos neurônios motores (alvos diferentes da tetanoespasmina) e se internaliza. A toxina botulínica permanece no endossomo na junção neuromuscular (ao invés de se mover para a coluna espinhal), onde após acidificação, a endopeptidase A inativa as proteínas que regulam a liberação de acetilcolina. Como a acetilcolina não é liberada, a neurotransmissão é bloqueada resultando em paralisia flácida.

4. *Clostridium perfringens* produz numerosas toxinas e enzimas citotóxicas. A toxina mais importante é a alfa toxina, uma fosfolipase responsável pela lise de eritrócitos, plaquetas, leucócitos e células endoteliais. Isto leva à hemólise intensa e destruição tecidual característica da devastação que esta doença ocasiona no organismo. Outras toxinas citotóxicas produzidas pelo *C. perfringens* incluem a toxina beta, épsilon e iota. Este microrganismo também produz colagenases, proteases, hialuronidase, neuraminidase e enterotoxina.

5. *C. perfringens* causa uma variedade de doenças incluindo infecções de tecido mole (celulite, fasciite, mionecrose), intoxicação alimentar, enterite necrotizante e septicemia primária.

6. *Clostridium difficile* é o agente etiológico de doenças gastrintestinais, de diarreias associadas a antibiótico e a colite pseudomembranosa de risco. A infecção pode ser de difícil manejo. Ainda que as formas vegetativas do bacilo sejam suscetíveis a metronidazol ou vancomicina, os esporos são resistentes. Assim, o tratamento irá eliminar as formas vegetativas, mas os esporos podem persistir no intestino e germinar, formando células produtoras de toxina, quando a terapia for descontinuada. Além disso, os esporos podem contaminar quartos hospitalares, servindo como fonte de infecção para outros pacientes.

Capítulo 40

1. O diagnóstico de actinomicose pode ser de difícil confirmação. O material deve ser colhido evitando a contaminação oral porque *Actinomyces* fazem parte da microbiota normal da orofaringe. Além disso, relativamente poucos organismos estão presentes no espécime e a cultura deve ser incubada por no mínimo uma semana. Por estes motivos, muitos diagnósticos de actinomicose não são confirmados. Os grânulos presentes no material (chamados grânulos de enxofre) devem ser esmagados e examinados microscopicamente. Bacilos Gram positivos embebidos em substância mineral amorfa deve ser observada.

2. *Actinomyces* coloniza a orofaringe, trato gastrintestinal e vagina. As infecções geralmente são crônicas, de desenvolvimento lento, ocorrendo após trauma que introduz o organismo da mucosa para tecidos profundos. A infecção é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões granulomatosas crônicas que se tornam supurativas e formam abscessos. Actinomicose pélvica é frequentemente associada com a presença de um dispositivo intrauterino. A pouca higiene oral deste paciente predispõe a actinomicose cervical.

3. *Propionibacterium acnes* é responsável pela acne e infecções oportunistas em pacientes com próteses ou linhas intravasculares. *Propionibacterium propionicus* causa canaliculite lacrimal (inflamação do canal lacrimal) e abscesso. Ambos colonizam a superfície da pele e membranas mucosas.

Capítulo 41

1. A formação de abscesso nesta situação clínica é provavelmente causada por *Bacteroides fragilis*. A cápsula polissacarídica estimula a migração de leucócitos e formação de abscesso.

2. *B. fragilis* coloniza o cólon em pequeno número. Entretanto, este organismo é altamente virulento e tem sido implicado em doenças em vários sítios, como pulmão (abscessos pulmonares), sistema nervoso central (abscessos cerebrais), abdome (abscessos intraintestinais), trato geniturinário (abscessos pélvicos), trato gastrintestinal (gastrenterite), sistema cardiovascular (tromboflebite e septicemia) e tecidos moles (mionecrose).

3. Metronidazol é uniformemente ativo contra *Bacteroides* e carbapenens (imipenem, meropenem) são ativos contra a maioria das cepas. *E. coli* geralmente é suscetível aos carbapenens e cefalosporinas de amplo espectro. Tratamento de infecções enterocócicas sérias necessita do uso de um antibiótico ativo contra a parede (beta-lactâmico, vancomicina) com um aminoglicosídeo.

4. Outros bacilos Gram negativos associados com doença no ser humano incluem *Prevotella, Porphyromonas* e *Fusobacterium*.

Capítulo 42

1. O início dos primeiros estágios da doença de Lyme é caracterizado por pequenas máculas no local da mordida, que aumentam durantes as próximas semanas. A lesão tem bordo plano com clareamento central, ainda que eritematosa; pode ocorrer formação de vesícula ou de necrose. Este “rash” (eritema migratório [migratório porque lesões adicionais podem se desenvolver]) é acompanhado de mal-estar, fadiga, cefaleia, febre, tremores, dores musculares e linfadenopatia. Em pacientes não tratados estes sinais e sintomas podem progredir, causando disfunção cardíaca (bloqueio cardíaco, miopericardite, falência cardíaca congestiva) e neurológica (paralisia facial, meningite, encefalite). Manifestações tardias da doença de Lyme tipicamente se apresentam como artrite intermitente envolvendo uma ou mais juntas.

2. A confirmação laboratorial da doença de Lyme é difícil. Poucos microrganismos estão presentes no sangue ou tecido infectados, de modo que a microscopia é praticamente sem valor. A cultura de *Borrelia burgdorferi* tem sucesso limitado. O cultivo necessita de meios especiais e só tem sensibilidade durante o estágio inicial de eritema migratório; entretanto a lesão é patognomônica, tornando a confirmação laboratorial desnecessária. O dilema clínico ocorre quando um paciente com artrite não tem história de manifestações da doença de Lyme. Neste estágio as culturas são sempre negativas. Amplificação de ácidos nucleicos também é insensível. Testes sorológicos em pacientes com as manifestações tardias geralmente são fortemente positivos se o paciente não recebeu tratamento com antibiótico. Entretanto, a sorologia é menos confiável no estágio inicial da doença. Reações cruzadas ocorrem principalmente em pacientes com outras doenças por espiroquetas, como sífilis. A observação de *Borrelia* no sangue é diagnóstica para febre recorrente. Cultura e sorologia não são úteis para esta bactéria.

3. O diagnóstico laboratorial da sífilis geralmente é realizado usando um teste sorológico não treponêmico para triagem e um teste treponêmico mais específico para confirmação. O VDRL é um exemplo de teste não treponêmico e FTA-ABS (teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente) e TP-PA (teste de aglutinação de partículas) são exemplos de testes treponêmicos. Os testes não treponêmicos têm sensibilidade de 75%-85% para pacientes com sífilis primária e quase 100% para pacientes com sífilis secundária e latente. A sensibilidade destes testes é baixa (cerca de 70%) em pacientes com manifestações tardias de sífilis. Os testes treponêmicos têm sensibilidade de aproximadamente 85% na sífilis primária e quase 100% nos demais estágios, incluindo a sífilis tardia.

4. O reservatório da sífilis é o ser humano. A transmissão é tanto por contato sexual como congênita. A exposição ao sangue contaminado é atualmente uma fonte rara. A febre recorrente endêmica é uma doença zoonótica sendo os reservatórios mais comuns roedores e carrapatos moles. O vetor são carrapatos infectados. O reservatório da febre epidêmica ou doenças transmitidas por piolhos é o ser humano, com disseminação através de piolhos infectados. Nos EUA, o reservatório primário da doença de Lyme é o camundongo de patas brancas e o cervo de cauda branca. Carrapatos são os vetores. O principal hospedeiro reservatório de leptospiras são os roedores. A doença se dissemina pela exposição à água contaminada com urina ou exposição ocupacional a animais infectados.

5. O diagnóstico da leptospirose é difícil. As leptospiras são finas demais para serem observadas no microscópio ótico. Microscopia de campo escuro pode ser usada para examinar o sangue de indivíduos contaminados; entretanto, este método é relativamente insensível e artefatos do sangue podem levar a erros diagnósticos. Assim, a microscopia não é recomendada. Leptospiras podem ser cultivadas a partir do sangue, líquido cerebrospinal ou urina, usando meios especiais e incubação prolongada (até 4 meses). Uma vez que estes procedimentos não são adequados para diagnóstico de rotina, a sorologia é o método de

escolha. O método de referência é o teste de aglutinação microscópica (MAT). Entretanto, este procedimento requer o uso de leptospiras vivas sendo restrito a laboratórios de referência. Testes alternativos de aglutinação e ELISA estão disponíveis, mas são menos sensíveis e específicos.

Capítulo 43

1. A paciente tem pneumonia atípica causada por *Mycoplasma pneumoniae*. O organismo pode ser cultivado a partir de lavados de garganta, lavados brônquicos ou escarro. A coleta de escarro não é possível porque geralmente os pacientes não têm tosse produtiva (como é neste caso). Lavado de garganta pode ser um espécime sensível e não invasivo. A cultura tem sensibilidade relativamente baixa e requer incubação por até 6 semanas. Por esta razão, poucos laboratórios utilizam este procedimento. A sorologia (utilizada neste caso) é o procedimento mais usado, mas também tem baixa sensibilidade. O teste diagnóstico de escolha atualmente é o PCR, entretanto os testes não são amplamente disponíveis no momento.

2. *Mycoplasma* spp. são únicos entre as bactérias pela ausência de parede celular e presença de esteróis em sua membrana celular. A ausência da parede celular confere resistência a penicilinas, cefalosporinas, vancomicina e outros antibióticos que interferem na sua síntese.

3. Pneumonia causada por *M. pneumoniae* ocorre durante todo o ano. Embora mais comum em crianças de idade escolar e adultos jovens, pode ocorrer em todas as faixas etárias. As infecções são transmitidas de pessoa a pessoa através de secreções respiratórias infecciosas. A idade deste paciente e sua apresentação clínica são características de infecção por *M. pneumoniae*.

4. *M. hominis* tem sido implicado em pielonefrite, doença inflamatória pélvica e febre após o parto. *M. genitalium* tem sido ligado a alguns casos de uretrite, e *M. fermentans* associado com pneumonia e doenças gripais. Devido à dificuldade de diagnosticar infecções por micoplasmas, é possível que o verdadeiro espectro de doenças causadas por estas bactérias não seja devidamente avaliado.

Capítulo 44

1. Infecções por Rickettsias são tratadas com tetraciclinas (doxiciclina) ou fluoroquinolonas (ciprofloxacim). Ainda que cloranfenicol tenha atividade *in vitro*, uma grande incidência de recaídas é associada a este antibiótico. Antibióticos beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenens), aminoglicosídeos e sulfametoxazol-trimetoprim são inativos.

2. Carrapatos são os vetores para as seguintes espécies e suas doenças: *R. rickettsii*, febre maculosa das montanhas Rochosas; *R. africae*, febre africana da mordida do carrapato; *R. australis*, tifo australiano por carrapato; *R. conorii*, febre maculosa do Mediterrâneo; *R. japonica*, febre maculosa japonesa e *R. sibirica*, tifo siberiano. Somente *R. rickettsii* é comumente encontrada nos EUA. Piolhos são associados com *R. prowazekii* (tifo endêmico); ácaros com *R. akari* (rickettsiose vesicular) e *Orientia tsutsugamushi* (tifo rural) e moscas são associadas com R. typhi (tifo murino).

3. Rickettsias são pequenas e coram fracamente com Gram, porque sua camada de peptidoglicano é mínima.

Capítulo 45

1. O diagnóstico de infecção por *Coxiella burnetii* pode ser feito por cultura, amplificação de ácido nucleico (PCR) ou sorologia. *Coxiella* cora fracamente no Gram e relativamente poucos organismos estão presentes no sangue, de modo que este teste não tem valor diagnóstico. *Coxiella* são patógenos intracelulares obrigatórios de modo que o cultivo necessita de cultura de células. Este procedimento apresenta risco ao técnico e poucos laboratórios realizam culturas. Testes de PCR são sensíveis e específicos para infecções agudas, sendo o teste de escolha em áreas endêmicas. Entretanto, já que poucos organismos estão presentes no sangue de pacientes com endocardite, a sensibilidade do teste é baixa. Assim, a sorologia é o teste de escolha para pacientes com endocardite. Sendo esta uma infecção crônica, altos títulos de anticorpos estão presentes quando há suspeita de infecção. *Coxiella* sofre variação de fase durante a replicação, de modo que os anticorpos serão formados contra os antígenos expostos em ambas as fases. Em pacientes com endocardite, altos níveis de anticorpos são detectados contra antígenos de fase I. Podem ocorrer reações cruzadas em pacientes com infecções por *Bartonella*, então testes sorológicos específicos contra este organismo também devem ser realizados para excluir esta infecção.

2. *Coxiella* causa infecções zoonóticas, sendo animais de fazenda, como gado, ovelhas e cabras, a fonte mais comum de infecções humanas. Animais domésticos como coelhos também estão associados. A bactéria alcança altas concentrações na placenta do gado infectado. Placentas secas deixadas no chão após o parto, bem como fezes e urina podem contaminar o solo. A bactéria é relativamente estável, podendo permanecer viável por longo tempo. O homem adquire a infecção quando inala a bactéria em aerossol. Carrapatos são importante fonte de infecções animal, mas têm papel insignificante na infecção humana.

3. Doxiciclina é usada para tratar infecções por *Coxiella*. Em infecções crônicas como neste paciente, uma combinação de antibióticos, como rifampicina juntamente com dociclina ou sulfametoxazol-trimetoprim, deve ser usada. O sucesso do tratamento requer tempo prolongado de terapia.

Capítulo 46

1. *Chlamydiae* não tem a camada de peptidoglicano encontrada na maioria das bactérias e, portanto é resistente aos agentes beta-lactâmicos e vancomicina. A infecção deste paciente pode ser tratada com azitromicina ou doxiciclina.

2. O ciclo de desenvolvimento das clamídias envolve dois estágios: o corpúsculo elementar (CE), metabolicamente inativo, estável e infeccioso, e o corpúsculo reticular (CR), metabolicamente ativo, lábil e não infeccioso. Os pacientes são infectados com a forma CE, que se liga aos receptores da célula do hospedeiro e é internalizado. No interior do fagossomo o CE se converte em CR e inicia a replicação por divisão binária. Após 18-24 horas de replicação os CRs se reorganizam em CEs, a célula é lisada e libera os CEs infecciosos.

3. Três espécies de clamídias são clinicamente importantes: *Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae* e *Chlamydophila psittaci*. *C. trachomatis* e *C. pneumoniae* são patógenos humanos primários enquanto *C. psittaci* é patógeno animal, sendo o ser humano um hospedeiro secundário. *C. trachomatis* tem dois biovares (LGV e tracoma), *C. pneumoniae* tem um biovar (TWAR) e *C. psittaci* tem muitos biovares. A morfologia dos CEs de *C. pneumoniae* difere das outras duas espécies: uma única inclusão corada por iodo é observada em células infectadas por *C. trachomatis* comparando com múltiplos corpúsculos de inclusão não corados em células infectadas pelas outras espécies. Somente *C. trachomatis* é suscetível a sulfonamidas.

4. Infecções respiratórias causadas por *C. trachomatis* são observadas principalmente em crianças que foram infectadas no nascimento. Inicialmente é observada uma rinite seguida de tosse seca característica. *C. pneumoniae* é uma importante causa de bronquite, pneumonia e sinusite, mais frequente em adultos. A maioria das infecções é assintomática ou branda com mal-estar e tosse persistente. *C. psittaci* também produz uma infecção respiratória com sintomas iniciais de cefaleia, febre alta, tremores, mal-estar e mialgia. Os sinais pulmonares incluem tosse não produtiva, estertores e consolidação.

Capítulo 48

1. Ver tabela abaixo

2. O vírus da varicela é inalado, inicia a replicação no pulmão ativando interferon e a resposta inflamatória local. A viremia se inicia propagando o vírus para as células T e chegando aos linfonodos, fígado e baço. Na segunda etapa da viremia o vírus espalha-se para a pele, causando lesões.

3. Anticorpos protetores são gerados contra as proteínas de ligação viral ou outras estruturas.
   Adenovírus: proteína da fibra
   Vírus infelunza A: hemaglutinina
   Poliovírus: estrutura do capsídeo em forma de vale
   Vírus da raiva: glicoproteína G

4. Interferon alfa e beta: ativa a expressão de proteínas para promoção do estado antiviral, por exemplo, PKR (uma proteína quinase RNAds-dependente) e a polimerase 2′5′ A (também chamada de 2′-5′-oligo-adenilate sintetase). Também promovem ativação das células NK.
   Interferon gama: ativa macrófagos, tornando-os aptos para realizar citólise e produzir IL12, um indutor de respostas Th1.
   Macrófagos: células apresentadoras de antígenos e, sob ativação do interferon gama, promovem citólise de células infectadas. Células *Natural Killer*: promovem citólise de células infectadas independente do MHC e dependente de anticorpos.
   Células T CD4: células T Helper que promovem a resposta antiviral através da produção de citocinas. Promovem a apoptose de células infectadas através da interação FAS-FAS ligante.
   Células T CD8: promove citólise de células infectadas (citólise restrita às células que possuem MHC I).
   Anticorpos: neutralização e opsonização de virus.

5. Os interferons α e γ são produzidos pelas células infectadas, enquanto o interferon γ é produzido por NK ou células T, como parte das respostas imune inata ou celular.

6. A nucleoproteína do vírus influenza é a proteína predominante do vírus, que é degradada pelo proteossoma de células dendríticas e convertida em peptídeos pequenos para passar através da TAP para o retículo endoplasmático e preencher a fenda peptídeo antigênico da molécula MHC I. A ligação do antígeno é necessária para o movimento das moléculas MHC I em direção à superfície celular e apresentação do antígeno como parte da resposta das células T CD8.

7. Durante o pródromo de uma infecção por vírus respiratório, a replicação viral ocorre no pulmão e interferon alfa e beta são produzidos, gerando sintomas de gripe e cansaço. O vírus se replica e se espalha para outros locais no pulmão. O dano tecidual é reparado após o controle da replicação viral pelas respostas inata e imune.

8. Ver tabela a seguir

Método de Transmissão	Características virais que promovem a transmissão
Fecal-oral	Estrutura de capsídeo impermeável aos ácidos biliares e do trato gastrointestinal
Artrópodes	Estabelecimento de viremia suficiente para possibilitar a aquisição do vírus pelos artrópodes durante uma picada.
Fômites	Estabilidade ao ressecamento e ao calor (vírus não envelopados).
Leite materno	Secreção de partículas virais no leite
Atividade sexual	Longo período assintomático de liberação viral que permite a transmissão antes do conhecimento da infecção.

9. Oncogênese rápida: Incorporação do oncogene viral no cromossomo hospedeiro estimulando o crescimento celular. (Não existem vírus humanos descritos que agem desta maneira.) Exemplo: vírus do sarcoma de Rous em frangos.

Oncogênese lenta: Integração viral próxima de um gene envolvido no crescimento celular permitindo que os promotores na repetição terminal longa do vírus ajam induzindo uma grande expressão destes genes levando estímulo ao crescimento. Exemplo: vírus linfotrópico 1 da célula T humana (HTLV-1 – *human T-lymphotropic virus 1*) – promove a transativação de genes promotores de crescimento, por exemplo, IL2 e receptor IL2.

Via de Transmissão	Barreiras	Exemplos de vírus
Oral	Saliva, IgA, mucosas	Poliovírus
Respiratória	IgA, mucosas	Influenza
Contato	Pele, mucosas	vírus herpes simples, papilomavírus humano
Sexual	Mulheres: IgA, mucosas; Homens: pele	vírus herpes simples, HIV, papilomavírus humano
Injeção, sangue e derivados, transplante.	Anticorpos e células T	Citomegalovírus, HIV, HTLV, hepatites B, C, D,
Picada de inseto ou animal (zoonose)	Anticorpos, interferon	Virus da encefalite equina do leste, vírus da febre amarela, raiva.

Capítulo 49

1. Etapas da replicação viral que dependem de processos celulares são geralmente alvos pobres para drogas antivirais. Estes incluem: a síntese de proteínas, a síntese de mRNA e processamento (*splicing, capping*etc.)

2. Viroses tratáveis:
   Vírus DNA:
   - vírus herpes simples – tratamento com análogo de nucleotídeo
   - vírus varicela zóster - tratamento com análogo de nucleotídeo
   - citomegalovírus - tratamento com análogo de nucleotídeo
   - varíola - tratamento com análogo de nucleotídeo
   - vírus da hepatite B - tratamento com análogo de nucleotídeo

   Vírus RNA:
   - Picornavírus
   - Influenza A
   - Influenza A e B
   - vírus sincicial respiratório: tratamento com análogo de nucleotídeo
   - vírus da hepatite C: tratamento com análogo de nucleotídeo
   - vírus da imunodeficiência humana: tratamento com análogo de nucleotídeo

3. Aciclovir: DNA polymerase, timidina quinase (de HSV ou HZV)
   Ara-A: DNA polimerase (HSV)
   Fosfonoformato (ácido fosfonofórmico): DNA polimerase de herpesvírus (exemplo, CMV).
Amantadina: Proteína M2 do vírus influenza A
   AZT: DNA polimerase dependente de RNA de HIV

4. Amantadina e rimantidine inibem a replicação do vírus influenza A, impedindo o desnudamento do vírus no citoplasma. Esses medicamentos são eficazes como profiláticos e devem ser administrados antes das respostas inflamatória e imune.
   Oseltamivir e zanamivir são inibidores da neuraminidase, que inibem tanto vírus influenza A como B, impedindo a liberação do vírus pela célula infectada.

Capítulo 50

1. Infecção pelo vírus da raiva pode ser identificada através da observação de corpúsculos de inclusão de Negri e da presença de proteínas virais por imunofluorescência.

2. O genoma do HPV pode ser detectado e tipado por hibridização *in situ* usando sondas ou por PCR usando *primers* espécie-específicos. A imunofluorescência não é usada porque as proteínas virais são expressas em poucas células.

3. HSV1 e HSV2 podem ser diferenciados pelo uso de anticorpos específicos para cada um dos dois vírus. O anticorpo pode ser utilizado em um teste de neutralização, mas melhores resultados são conseguidos com uso de ELISA ou imunofluorescência. A técnica de PCR também possibilita distinguir entre HSV 1 e 2.

Cepas diferentes de vírus podem ser diferenciadas pelo uso da técnica de PCR com *primers* para regiões variáveis do genoma ou pelo polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP - r*estriction fragment length polymorphism)*.

4. A figura mostra que o título do soro convalescente testado 3 semanas após o soro agudo é diferente apenas por um tubo de diluição (duas vezes). Para que um resultado seja significativo, quando se trata de título de anticorpos, preconiza-se uma diferença de pelo menos de quatro vezes entre os dois soros. Portanto, o paciente não foi infectado pelo vírus H3N2.

5. Infecção recente pode ser indicada pela detecção do genoma do HIV, realizada por RT-PCR (transcrição reversa seguida de PCR) ou outra técnica de biologia molecular. A técnica de PCR, por exemplo, amplifica o genoma que pode estar presente na amostra. Ainda, demonstrar a presença da proteína viral p24 também seria uma indicação de infecção recente. É muito cedo para se obter uma indicação confiável de infecção pela presença de anticorpos contra o HIV.

Capítulo 51

1. O HPV que causa verrugas é transmitido pelo contato com a pele e mucosas contendo o vírus e só iniciaria verruga em um outro local pelo contato com o sítio primário. Este vírus não se espalha sistemicamente.

2. Embora as verrugas possam desaparecer, o genoma viral pode permanecer nas células na base do local da verruga.

3. HPVs são controlados pela maquinaria de transcrição do hospedeiro e requerem uma célula em crescimento para fornecer DNA polimerase ativa e desoxirribonucleotídeos como substrato para replicar o genoma. Células que não se encontram em crescimento não permitem a replicação do genoma viral. Além disso, a expressão de mRNA tardios (p. ex., genes que determinam as proteínas do capsídeo) é controlada pelos mesmos promotores que controlam certos genes de queratina e, portanto, vinculados aos estágios de diferenciação dos queratinócitos. Assim, partículas do vírion completo são produzidas apenas nas células da pele com diferenciação terminal e liberadas quando estas células morrem.

4. A melhor maneira de identificar um tipo de HPV é a análise do genoma viral por PCR ou hibridização *in situ* ou *Southern blot*. Para isso é necessário utilizar sondas ou *primers* específicos para os diferentes tipos de HPV.

5. É improvável que o tipo viral causador da verruga comum esteja associado com o desenvolvimento de câncer. Os HPVs predominantemente associados com câncer são: HPV 11 (câncer de laringe e colo do útero), 16 e 18 (carcinoma do colo do útero).

Capítulo 52

1. O paciente apresenta sinais e sintomas que levam à suspeita de febre faringoconjuntival.

2. A fonte mais provável desse surto é a água não clorada do lago do acampamento. O vírus é muito resistente e pode suportar condições ambientais relativamente severas.

3. O capsídeo do adenovírus protege-o de condições severas de secagem e até mesmo da ação de bile e ácidos presentes no trato gastrointestinal. Isso permite que o adenovírus seja transmitido por via fecal oral, respiratória, contato e em fômites.

4. Contaminação da lagoa seria de difícil eliminação. Não existe vacina para proteger as pessoas que acampam no local. No entanto, um maior cuidado com esgoto pode evitar maior contaminação da lagoa. Além disso, as pessoas no acampamento não devem compartilhar toalhas ou outros itens que podem entrar em contato com o vírus.

5. Um *swab* com secreção ocular, uma amostra de fezes ou secreção nasal coletadas da criança infectada poderiam ser testadas para o vírus. Água da lagoa pode ser concentrada para permitir a detecção de vírus como uma fonte comum de infecção. A presença de adenovírus e seu tipo devem ser detectados por PCR.

Capítulo 53

1° caso

1. O diagnóstico pode ser confirmado pelo esfregaço de Tzanck feito com células retiradas da base das lesões. Neste teste a presença de HSV é evidenciada por seus efeitos citopatológicos como produção de sincícios, citoplasma vacuolado e inclusões intranucleares do tipo Cowdry A. A amostra também pode ser analisada por imunofluorescência. Ainda, o líquido das vesículas pode ser cultivado e os efeitos citopatológicos característicos observados ou a presença viral podem ser demonstrados pela pesquisa do genoma do HSV por PCR neste líquido.

2. Imunofluorescência usando anticorpos tipo-específicos ou PCR são técnicas utilizadas para a distinção entre HSV-1 e HSV-2.

3. Respostas inatas, como o interferon alfa e as células NK, são ativadas precocemente para limitar a propagação de vírus. Posteriormente, células T e anticorpos produzem uma resposta imunológica. As células T são essenciais para a resolução da infecção e os anticorpos auxiliam nesta diminuição das partículas virais, mas não são suficientes para proteção contra novas infecções.

4. A latência é estabelecida no gânglio trigeminal. Recorrências futuras são desencadeadas por estresses, como exposição à radiação UVB, estresse físico ou emocional.

5. A criança foi infectada por contato com uma pessoa infectada ou através da partilha de algum item (p. ex.: talheres ou copo) com uma pessoa portadora de lesão ativa.

6. As drogas mais eficazes no combate ao HSV são os análogos de nucleotídeos que quando ativados pela ação da timidina quinase viral inibem a DNA polimerase e, portanto, a replicação do vírus. Estes incluem valaciclovir, aciclovir, penciclovir e famciclovir. Porém, eles não estão indicados para uso neste caso devido à infecção estar em fase adiantada trazendo um efeito antiviral limitado ao medicamento e também por esta infecção não trazer maiores riscos à criança.

2° caso

1. O teste mais simples seria a pesquisa de anticorpos heterófilos, que é específico para EBV. A sorologia para antígenos de EBV também pode confirmar o diagnóstico. Estes testes também distinguem entre uma infecção por EBV atual ou pregressa.

2. Mononucleose se refere à expansão do número de células T após estimulação pelas células B que são as infectadas por EBV. Síndromes *mononucleose-like* podem acompanhar outras infecções de linfócitos, incluindo as causadas por CMV e HIV.

3. Linfoadenopatia e fadiga são causadas pela ativação da resposta imune em larga escala, como indicado pela expansão do número de células T.

4. Em pessoas imunodeprimidas a infecção por EBV poderá induzir leucemia e linfoma. Isso pode ocorrer porque na ausência de células T funcionais, células B estimuladas pelo EBV podem entrar em multiplicação de maneira descontrolada. É o caso, por exemplo, de meninos com doença de Duncan (uma imunodeficiência ligada ao X) que devido à imunodeficiência podem morrer por uma imunoproliferação semelhante à leucemia quando infectados pelo EBV.

Capítulo 54

1. Poxvírus têm uma estrutura grande e complexa com muitas membranas, corpos laterais e outras estruturas. A síntese e montagem destas estruturas complexas são difíceis.

2. Poxvírus são vírus de genoma DNA e a replicação do DNA viral no citoplasma exige que o vírus codifique as enzimas necessárias para a síntese de mRNA (RNA polimerase DNA-dependente, enzimas para adição do 5′ cap no mRNA etc.) e para a síntese de DNA (DNA polimerase DNA-dependente), pois estas enzimas estão normalmente presentes no núcleo das células.

3. Imunidade à infecção da varíola compreende desde respostas inatas locais até as mais sistêmicas, como anticorpos e respostas de células T. As respostas imunes não se desenvolvem até 6 a 10 dias após a infecção, quando já é tarde demais para parar a propagação do vírus. Quando o vírus já está disseminado pelo organismo, infectando muitos tecidos, a resposta imune (especialmente a imunidade celular) na tentativa de eliminar as células infectadas pode causar grandes danos.

Em uma pessoa vacinada, o anticorpo está presente na corrente sanguínea para bloquear a disseminação do vírus por viremia. As respostas mediadas pelas células T são ativadas dentro de 2-4 dias a partir de células de memória e essas respostas podem limitar e resolver a infecção com êxito.

4. Eliminação da varíola foi possível graças a vários fatores: produção de uma excelente vacina, ação efetiva da Organização Mundial da Saúde e algumas propriedades virais. Dentre as propriedades virais destacam-se: não há necessidade de controlar vetores, existência de um único sorotipo viral (tanto no vírus que infecta humanos como nos que infectam animais) e presença de sintomas nos indivíduos infectados, o que facilitou os procedimentos de quarentena.

5. O vírus vacínia foi desenvolvido em laboratório como um vírus atenuado, não causando doença no homem (em hospedeiros imunocompetentes). Seu genoma contém muitos genes que não são necessários para a replicação do vírus e, portanto, estes podem ser substituídos por genes de outros microrganismos. Se o gene apropriado é incorporado em um híbrido de vírus vacínia com o objetivo de produzir uma vacina, esta poderia estabelecer uma resposta imune natural, incluindo ativação das células T CD8 e formação de memória imunológica, o que seria adequado para os vírus, que exigem respostas imunes Th1 para o seu controle. A vacina usando um híbrido de vírus vacínia poderia ser apropriada para vários vírus como HIV, HPV, HSV, CMV, EBV, entre outros. Porém esta vacina poderia ter segurança questionável devido ao potencial de reversão ou potencial oncogênico.

Capítulo 55

1. A natureza bifásica da doença e a erupção na face são sintomas característicos de infecção por parvovírus B19, porém não são exclusivos. Parvovírus B19 também provoca artralgia em adultos devido à formação de complexos imunes. Sinais e sintomas semelhantes poderiam ocorrer na infecção por HHV6 que induz exantema súbito (roséola), embora o curso temporal da infecção apresenta-se diferente.

2. A criança esteve contagiosa durante os sinais iniciais da doença, ou seja, durante o quadro semelhante a um resfriado leve. A erupção é mediada pelo sistema imune e não pela presença viral.

3. Os sintomas iniciais não específicos são causados pelo interferon e outras respostas imunes inatas. A erupção é causada por respostas imunes induzidas, provavelmente associados com presença de anticorpos e formação de imunocomplexos.

4. A erupção da filha e da artralgia da mãe são devido à presença de anticorpos contra o parvovírus B19, formação de complexos imunes e reações de hipersensibilidade do tipo 2 e 3.

5. Indivíduos com anemia hemolítica crônica, por exemplo, anemia falciforme, estão sob risco de doença grave por parvovírus B19. Isso porque o parvovírus se replica em células precursoras de hemácias, impedindo o desenvolvimento de novos eritrócitos e reduzindo a meia-vida destas células. Mulheres grávidas infectadas por parvovírus B19 estão sob risco de perda do feto e ocorrência de hidropsia fetal.

6. Quarentena não seria eficaz porque o vírus é transmitido antes do aparecimento dos sinais clássicos do eritema infeccioso (ou quinta doença).

Capítulo 56

1. Os principais sinais e sintomas foram dores de garganta, febre, exantema fraco, sonolência excessiva, letargia, dores de cabeça, dor ao virar a cabeça. A presença de linfócitos no líquor e níveis normais de glicose e proteínas excluem o diagnóstico de uma infecção bacteriana.

2. Este quando deve ser diferenciado de meningite asséptica causada por HSV, ou por um arbovírus das famílias *Bunyaviridae, Togaviridae* ou *Flaviviridae*. *Cryptococcus neoformans* (fungo), *Mycobacterium tuberculosis* ou *Borrelia burgdorferi* também são possíveis. No entanto, a presença de um prurido e dor de garganta antes dos sinais de meningite reforça a possibilidade de uma infecção por enterovírus, como o vírus coxsackie A ou vírus ECHO. Alguns anos antes (cerca de 30 anos), a poliomielite também seria incluída no diagnóstico diferencial.

3. O prurido e dor de garganta no período prodrômico e a presença de neutrófilos e linfócitos no LCR distinguem uma meningite causada por enterovírus de meningite por outras causas microbianas.

4. A análise do LCR por RT-PCR (transcrição reversa seguida de PCR) poderia identificar o genoma de enterovírus na amostra e confirmar o diagnóstico.

5. Enterovírus são disseminados pela via fecal-oral.

6. Os tecidos-alvo iniciais para os enterovírus são o epitélio muco-ciliado, amídalas, faringe e as placas de Peyer na mucosa intestinal. O vírus é citolítico.

Capítulo 57

1. Gastroenterite por rotavírus geralmente ocorre em crianças e não adultos. Nesta descrição é provável que a infecção seja causada por um norovírus, como o vírus Norwalk.

2. A transmissão desse vírus se dá por via fecal-oral e provavelmente ocorreu por ingestão de alimentos contaminados.

3. Os norovírus são vírus que possuem capsídeo. O capsídeo viral é que possibilita a resistência à ação de ácidos, detergentes e ressecamento.

4. Lavar as mãos após ir ao banheiro é a melhor maneira de limitar a disseminação viral.

Capítulo 58

1° caso

1. Tosse, conjuntivite, coriza, erupção cutânea e manchas de Koplik (lesões brancas na boca) são características de sarampo. Fotofobia também pode estar presente.

2. O diagnóstico geralmente é feito com base nos sinais da doença. Os testes laboratoriais que podem confirmar o diagnóstico incluem PCR (após transcrição reversa) para detecção do genoma viral ou imunofluorescência para detecção de antígenos virais nas células presentes em secreções do trato respiratório, urina ou sangue.

3. Não existem medicamentos antivirais disponíveis para o sarampo, mas imunoglobulina pode limitar a severidade da doença.

4. O paciente apresentou a forma contagiosa cerca de 7 dias antes e 3-4 dias após o aparecimento dos sinais da doença.

5. Esta é uma doença que está se tornando rara devido a um programa de imunização efetivo.

6. O paciente pode ter tido uma resposta imunológica insuficiente para impedir a propagação do vírus do sarampo e início da doença. Isso pode ocorrer se o indivíduo não foi imunizado ou não recebeu a dose de reforço da vacina quando adolescente. Na ausência de doença natural, as nossas respostas imunológicas (inclusive aqueles estabelecidos pela imunização) podem cair abaixo do limiar de proteção.

2° caso

1. Esta doença é chamada de laringotraqueobronquite (ou crupe) e é causada por parainfluenza vírus.

2. *Haemophilus influenzae pode* causar uma epiglotite que teria sinais clínicos semelhantes. Ainda vírus sincicial respiratório, metapneumovírus e influenza podem causar uma doença semelhante a crupe, chamada *crupe-like*.

3. O vírus pode ser identificado a partir de lavados nasais submetidos ao cultivo celular. Na cultura celular o vírus provoca o aparecimento de células gigantes multinucleadas (sincícios). Também estas secreções nasais podem ser submetidas à RT-PCR para detectar e identificar o vírus.

4. Não existe medicamento antiviral para esta doença, mas nebulização fria ou quente pode ajudar a abrir as vias aéreas.

5. A criança está contagiosa durante o período sintomático. Este vírus é transmitido por via respiratória.

Capítulo 59

1. Sintomas semelhantes podem ser causados por vírus parainfluenza, metapneumovírus, vírus sincicial respiratório ou por adenovírus.

2. O diagnóstico pode ser confirmado por reação de hemaglutinação e confirmado pela inibição da hemaglutinação quando se utiliza anticorpos específicos contra vírus influenza. Ainda pode-se submeter às amostras clínicas (em geral secreção de nasofaringe) a RT-PCR para detecção do genoma viral.

3. Amantadina e rimantidina inibem o desnudamento do vírus por bloqueio da proteína M2 que age formando um canal na vesícula de captação endossomal. O bloqueio de M2 impede o fluxo de prótons através do canal e a dissociação subsequente do nucleocapsídeo. Terapia antigripal com a amantadina ou a inibidores da neuraminidase é eficaz antes da infecção ou durante suas primeiras 48 horas quando a replicação viral está ocorrendo, mas antes da lesão tecidual extensa causada pelo vírus e pela resposta imune do hospedeiro a sua presença. Os contatos da pessoa gripada podem tomar amantadina como uma droga profilática.

4. O paciente estava em fase contagiosa aproximadamente 1 dia antes e até 5 dias após o início dos sinais da infecção. O vírus é transmitido por via respiratória.

5. Os membros muito jovens e muito velhos da família estão em maior risco. Os jovens podem não ter imunidade prévia e os idosos podem ter deficiências em seu sistema imune. Ainda os indivíduos mais idosos também têm dificuldade em reparar os danos causados pelo vírus influenza ou por uma superinfecção bacteriana do pulmão (pneumonia), que muitas vezes acompanha a infecção por influenza.

6. Os vírus influenza sofrem mutação (*drift*) produzindo novas cepas virais. Ainda, o influenza A pode sofrer rearranjo dos seus segmentos do genoma com cepas que infectam animais (especialmente aves) criando novos vírus (*shift*). Ambos os processos, *drift* e *shift*, podem criar novos sorotipos do vírus. A composição da vacina contra a gripe é reavaliada anualmente na tentativa de se acrescentar proteção às novas cepas virais geradas.

Capítulo 60

1. Raiva é sugerida pelo fato de o garoto se recusar a beber água (hidrofobia), alucinações, ansiedade, salivação, dificuldade de respirar e febre.

2. Raiva tem um longo período de incubação porque não é causada por um vírus de ação muito citolítica. Também este vírus fica relativamente oculto ao sistema imune por estar dentro da célula neuronal. Os sinais característicos da doença ocorrem somente quando o vírus chega ao cérebro e começa sua replicação causando os danos.

3. Imediatamente após a mordida de cão, a criança deveria ter recebido imunoglobulina específica antirraiva o mais próximo possível do local do ferimento. A imunização com a vacina antirrábica inativada também deveria ter sido iniciada o mais rapidamente possível.

4. Ao contrário de outras doenças neurológicas virais, infecção rábica é indetectável até atingir o cérebro (muito tarde para o tratamento) e, então, infecta as glândulas salivares tornando doloroso o ato de engolir.

Capítulo 61

1. Diarreia infantil também pode ser causada por adenovírus, norovírus e *E. coli* (enteroagregativa). Em adolescentes ou adultos são mais comuns outras cepas de *E. coli*, norovírus, *Vibrio cholerae* e outras bactérias. Rotavírus provoca perda de líquido de forma semelhante à toxina da cólera tornando as fezes muito líquidas.

2. A detecção laboratorial de rotina para o rotavírus é realizada através da técnica de ELISA. Antes do desenvolvimento do ELISA, a visualização por microscopia imunoeletrônica de um grande número de partículas virais nas fezes e sua caracterização morfológica é que permitiam a detecção da presença viral.

3. A transmissão viral se dá pela rota fecal-oral e o paciente é contagioso durante a diarreia. O pico máximo de excreção viral pode ocorrer até 2-5 dias após o início da diarreia.

4. Crianças em países subdesenvolvidos e crianças desnutridas estão sob maior risco de desfechos graves das infecções por rotavírus. A recuperação requer hidratação e nutrição.

Capítulo 62

1° caso

1. A infecção pelo vírus da dengue é indicada por sinais como febre alta, dor de cabeça intensa, dores nas articulações e costas. Sua viagem para a Malásia teria aumentado seu risco de exposição aos mosquitos do gênero *Aedes*, vetores do vírus.

2. Os mosquitos do gênero *Aedes* (vetores do vírus da dengue) são endêmicos na Malásia que também possui alta prevalência do vírus.

3. O vírus foi transmitido de forma independente por mosquitos diferentes para pai e filho.

4. Petéquias e equimoses são indicadores de doença hemorrágica.

2° caso

1. A infecção pelo vírus da rubéola é indicada pela artralgia e, especialmente, pelo exantema. Estes sintomas são causados por reação do sistema imunológico ao processo de replicação viral e disseminação do vírus. Esta presença viral é indutora de interferon, substância que produz sintomas semelhantes aos de uma síndrome gripal.

2. A exposição ao vírus da rubéola é pouco provável de ocorrer nos EUA devido ao efetivo programa de vacinação existente neste país.

3. Se o homem tivesse sido imunizado com a vacina MMR (*measles, mumps, rubella* - sarampo, caxumba, rubéola) e recebido também dose de reforço, ele estaria imunologicamente protegido contra rubéola.

4. Rubéola é um togavírus transmitido por aerossóis de modo semelhante aos vírus respiratórios.

5. Todos os indivíduos não imunizados estão sob risco para esta infecção. Porém, as evoluções mais graves são observadas em fetos quando a mãe é infectada antes da vigésima semana gestacional. A rubéola causa grave síndrome congênita.

6. Pela imunização populacional (especialmente crianças) obtém-se a prevenção da síndrome congênita grave.

Capítulo 63

1° caso

1. A dor de cabeça severa, a rigidez de nuca e fotofobia são sintomas de meningite acompanhados pelos sintomas semelhantes à síndrome gripal que são provocados pela viremia.

2. O vírus foi transmitido pelas fezes e urina dos roedores que viviam na casa. É provável que ela tenha respirado aerossóis contaminados.

3. Esta infecção viral requer respostas imunes mediadas por células (Th1) para controlar a infecção.

2° caso

1. A encefalite pelo vírus La Crosse é sugerida pelos sintomas de meningoencefalite, presença de células inflamatórias no líquido cefalorraquidiano (provavelmente com predomínio de linfócitos e níveis normais de glicose) e a época do ano na qual a bandeirante esteve no ambiente do mosquito *Culex* vetor do vírus La Crosse.

2. O diagnóstico diferencial incluiria outras encefalites virais como Encefalite Equina do Oeste e do Leste, Encefalite do Oeste do Nilo e encefalite por LCM (vírus da coriomeningite linfocítica). Sua recuperação a partir do episódio minimiza a possibilidade de encefalite de HSV, que geralmente provoca um dano permanente e grave.

3. A paciente foi infectada pela inoculação do vírus pelo mosquito *Culex* através da picada.

4. Transmissão poderia ser evitada pela redução da exposição ao mosquito vetor, por pulverização de substâncias para matar os mosquitos e drenando os locais de reprodução desses mosquitos.

5. Os programas de detecção de aves portadoras do vírus da encefalite (hospedeiros) e os mosquitos (vetores) podem ajudar a identificar a presença do vírus La Crosse nos ambientes de acampamento de verão. As aves podem ser testadas para a presença do anticorpo contra o vírus, ou ainda, sangue de aves e mosquitos pode ser analisado por RT-PCR para pesquisa do genoma viral.

Capítulo 64

1. O diagnóstico da AIDS é confirmado pela demonstração da presença do HIV e um nível de linfócitos T CD4 abaixo de 200 células/mL. A presença do HIV é demonstrada pelos anticorpos anti-HIV detectados através da técnica de ELISA ou *Western blot*. Também demonstrar a presença de genoma viral em amostras do paciente comprova a presença do HIV no organismo. O genoma viral pode ser detectado por técnicas de biologia molecular como a RT-PCR ou outras. Os níveis de células T CD4 são medidos pela técnica de citometria de fluxo.

2. O comportamento de risco descrito para este homem é ser viciado em heroína e partilhar agulhas com outros usuários. Também sexo sem uso de preservativos e com múltiplos parceiros são fatores de risco.

3. A diminuição das células T CD4 reduz a capacidade do organismo de produzir interferon gama, substância necessária para ativação de macrófagos e outras respostas imunes do tipo TH1. Estas respostas imunes são necessárias para controle e proteção contra infecções causadas por vírus, fungos e bactérias intracelulares.

4. As amostras devem ser manipuladas com as precauções universais para manipulação de sangue, ou seja, uso de luvas, óculos de proteção e jaleco.

5. O componente viral mais importante a ser incorporado em uma vacina para gerar anticorpos protetores é a glicoproteína gp120 ou sua precursora, a glicoproteína gp160. A gp120 é a proteína de ligação do vírus a célula, e anticorpos contra esta proteína neutralizariam o vírus. Interessantemente, as respostas imunes citotóxicas mediadas por células T CD8 são geradas contra outras proteínas, como as proteínas gag. Uma vacina capaz de induzir neutralização viral seria adequada para pessoas em risco de infecção, incluindo profissionais de saúde, indivíduos com múltiplos parceiros sexuais e viciados em drogas injetáveis.

Capítulo 65

1. Em cada caso, o tempo e a natureza do início da doença seriam úteis para distinção de cada hepatite viral. A hepatite A tem um início agudo da doença, enquanto que o aparecimento de hepatites B e C são mais lentos e mais insidiosos.

2. Os testes sorológicos seriam úteis para determinar a exposição recente para cada uma dos três vírus da hepatite e também para determinar o estágio da hepatite B. O vírus da hepatite C também pode ser detectado por RT-PCR (detecção do genoma viral).

3. O paciente A provavelmente tem hepatite A e foi infectado por ingestão de alimentos contaminados. A paciente B pode ter hepatite B ou C adquirida por partilhar agulhas/seringas contendo sangue contaminado. O paciente C pode ter adquirido o vírus da hepatite C após uma transfusão de sangue quando ainda não se fazia triagem dos doadores para este vírus.

4. As infecções pelos vírus das hepatites A e B podem ser prevenidas pela vacinação. O risco de infecção pelos vírus da hepatites C e B pode ser reduzido pela triagem dos doadores de sangue, uso de seringas e agulhas descartáveis e esterilização cuidadosa dos equipamentos cirúrgicos. Cuidados com higiene pessoal, higienização correta dos alimentos e serviços de alimentação, locais de suprimentos de água propriamente desinfectados são importantes limitadores da disseminação dos vírus da hepatite A e E.

5. Pacientes infectados com HBV e, especialmente, com HCV, são suscetíveis à doença crônica. A maioria dos indivíduos infectados com HCV progride para hepatite crônica.

6. A hepatite B aguda e crônica são sorologicamente discriminadas. A presença do antígeno de superfície (HBsAg) e antígeno “e” (HBeAg) do HBV combinados com a ausência de anticorpos para este antígenos (Anti-HBsAg e Anti-HBeAg) são bons indicadores de hepatite B crônica.

7. A infecção por HBV pode ser prevenida por procedimentos adequados de manuseio de sangue e componentes sanguíneos, uso de seringas e agulhas descartáveis e não compartilhamento destas entre usuários de drogas injetáveis, sexo com uso de preservativos e vacinação. A infecção crônica por HBV pode ser tratada com antivirais como a lamivudina, adefovir, dipivoxil e famciclovir. O interferon-α (IFN-α) também pode ser efetivo.

Capítulo 66

1. Os sinais da doença e seu início insidioso sugerem uma encefalopatia espongiforme causada por príon, como Creutzfeldt Jakob. A ausência de inflamação distingue esta doença da encefalopatia multifocal progressiva causada pelo poliomavírus JCV.

2. A ausência de inflamação e a vacuolização do tecido cerebral são indicadores fortes de doença causada por príon.

3. A falta de inchaço ou inflamação distingue as doenças causadas por príons de outras doenças neurológicas.

4. Os príons são muito resistentes à maioria dos procedimentos de desinfecção. O patologista deve seguir as precauções habituais para desinfecção de materiais contaminados com sangue. Todos os materiais contaminados devem ser desinfetados em solução de hipoclorito de 5% ou autoclavados durante pelo menos uma hora.

Capítulo 67

1. O HSV é um vírus envelopado e, por isso, é rapidamente inativado por detergentes, calor ou ressecamento. Soluções de hipoclorito (15%), etanol (70%), glutaraldeído (2%), formaldeído (4%) ou uso de autoclave podem ser necessários para inativação de HAV e rinovírus (vírus não envelopados) ou do HBV (vírus envelopado, porém mais resistente à ação de detergentes).

2. A melhor maneira de prevenção contra infecção por HBV ou influenza é a vacinação. Para prevenção contra o HSV (paroníquia herpética) o uso de luvas é essencial. Proteção contra infecção pelo HIV envolve as precauções universais para o manuseio de sangue e secreções, ou seja, uso de luvas, óculos de proteção e avental.

3. Condições predisponentes que poderiam agravar uma infecção por influenza A incluiriam ser imunodeprimidos ou não ter imunidade prévia e, assim sendo, incapaz de reparar o dano tecidual causado pelo vírus. Por exemplo, idosos e pessoas que possuem problemas respiratórios crônicos.

Para VZV, condições que incluem imunossupressão, especialmente de respostas imunes envolvendo as células T. Além disso, os adultos são suscetíveis à doença mais grave do que são as crianças, devido a uma resposta imune-inflamatória mais exacerbada.

Para rotavírus, as condições que incluem a desnutrição e a falta ou mau abastecimento de água. Rotavírus pode causar gastroenterite levando um indivíduo à desidratação severa e é especialmente mortal para crianças.

4. O exantema do sarampo é maculopapular e causado por respostas imunes mediadas por células contra as células endoteliais (infectadas pelo vírus) que revestem os pequenos vasos, o que acaba causando derramamento sanguíneo para a pele. Já no exantema causado pelo VZV, o vírus se espalha para a pele por viremia e se replica na camada epidérmica, matando as células e liberando o vírus no líquido das vesículas. No episódio recorrente (zóster), o vírus replica ao longo do comprimento do nervo causando lesões vesiculares ao longo do dermátomo inteiro. O HSV se replica na camada epidérmica da pele, mata essas células e libera o vírus no líquido das vesículas. Durante um episódio de recorrência, o vírus percorre o neurônio para infectar as células no final do nervo e causar uma lesão vesicular. No caso da febre amarela, o vírus infecta as células endoteliais dos capilares enfraquecendo estes vasos e causando derramamento de sangue e fluidos na superfície da pele e em outros órgãos do indivíduo infectado.

5. O EBV infecta linfócitos B e pode imortalizar estas células. Na ausência de uma resposta eficiente imune mediada por células T, as células imortalizadas pelo EBV podem proliferar causando um linfoma ou leucemia. Com a redução da terapia imunossupressora, o número de células T ativas pode ser suficiente para controlar a imortalização e crescimento dos linfócitos B. Ainda, a terapia imunossupressora coloca o paciente em risco de infecções recorrentes por herpes vírus, especialmente HSV, VZV, CMV e EBV; também poliomavírus como o JCV (causador da leucoencefalopatia multifocal progressiva) e BKV.

Capítulo 68

1. Patógenos primários são capazes de causar infecção em indivíduos imunocompetentes. Patógenos primários possuem fatores de virulência que lhes permitem ativamente uma violação das defesas do hospedeiro, que geralmente restringem o crescimento do invasor de outros organismos. Em contraste, patógenos oportunistas geralmente apenas causam infecção quando ocorre ruptura nas barreiras de proteção da pele e membranas mucosas ou quando defeitos no sistema imune do hospedeiro lhes permitem penetrar, colonizar e reproduzir no hospedeiro.

2. Todos os fungos patógenos primários sistêmicos são agentes de infecção respiratória. Cada um deles possui uma fase filamentosa saprófita caracterizada por hifas septadas encontradas no solo, vegetação ou materiais em decomposição onde produzem partículas aéreas que podem infectar. Da mesma forma, a fase parasitária destes fungos podem se adaptar ao crescimento a 37°C e se reproduzir assexuadamente como alternativa ao nicho ambiental na mucosa respiratória do hospedeiro. Esta habilidade de existir em diferentes formas (dimorfismo) é uma das várias características especiais (fatores de virulência) que permitem estes fungos se reproduzirem nas condições ambientais hostis do hospedeiro.

3. A mais importante linha de defesa contra os fungos dimórficos endêmicos são os macrófagos pulmonares.

4. Fungos patógenos primários e oportunistas são capazes de se replicar a 37°C.

Capítulo 69

1. O conhecimento do agente etiológico específico tem importantes implicações no prognóstico e pode influenciar diretamente na terapia antifúngica.

2. A identificação dos fungos leveduriformes, ao nível da espécie, muitas vezes exige a determinação do perfil bioquímico e fisiológico do organismo, além da avaliação da morfologia microscópica. Em contraste, a identificação definitiva dos fungos filamentosos é baseada quase inteiramente na sua morfologia microscópica.

3. Os patógenos endêmicos dimórficos podem ser identificados por suas características morfológicas microscópicas, pela demonstração do dimorfismo térmico e por pesquisa de exoantígenos e testes com sondas de ácido nucleico.

4. As vantagens do exame microscópico direto de material clínico para o diagnóstico de infecção fúngica incluem o baixo custo e a rapidez do diagnóstico. Em certos casos, o fungo pode não só ser detectado, mas identificado por microscopia devido ao fato de que ela possui uma morfologia diferenciada. A detecção microscópica de fungos no tecido serve para orientar o laboratório na escolha dos meios mais adequados para a cultura da amostra e também é útil para determinar o significado do resultado da cultura.

Capítulo 70

1. Os agentes antifúngicos da classe das equinocandinas inibem a complexa síntese de enzimas da formação do α-(1,3)-glucano resultando em uma produção deficiente da parede celular. Como as células dos mamíferos não contém α-(1, 3)-glucano, esta classe é seletiva na sua toxicidade para os fungos. A maioria dos outros agentes atua sistemicamente em alvos que, de certo modo, são compartilhados por mamíferos e, portanto, podem apresentar toxicidade para fungo infectante, mas também para o hospedeiro.

2. A resistência aos azólicos em *Candida albicans* pode ser causada por mutação ou superexpressão de 14 α-demetilase e superexpressão de bombas de efluxo, genes CDR e genes MDR.

3. A atração da terapia combinada é que, usando combinações de antifúngicos, pode ser capaz de alcançar um melhor resultado clínico do que com a monoterapia. O sinergismo pode ser obtido através da combinação de dois agentes, como a terbinafina e um dos azólicos, que tanto atuam nas vias de esteróis em diferentes pontos, resultando em uma inibição da síntese das mais eficazes de ergosterol e rompimento da membrana da célula fúngica.

Capítulo 71

1. Ambos parecem estar sofrendo de uma dermatofitose. Dada a uma evidência clínica e epidemiológica, poderia esperar a infecção por um patógeno zoofílico como *Microsporum canis* ou *Trichophyton* spp.

2. O primeiro passo para fazer o diagnóstico seria examinar raspados de pele e cabelo utilizando KOH e calcoflúor. O diagnóstico etiológico específico exige cultura de cabelo e raspado de pele seguida de uma avaliação da aparência e microscopia do fungo em cultura. No caso dos dermatófitos, a identificação ainda pode ser feito pela avaliação das necessidades nutricionais do fungo utilizando meios especiais.

3. Esta infecção, tinea da barba, vai exigir uma terapia com terbinafina ou itraconazol. Além disso, o paciente deve ser orientado a evitar o contato íntimo (beijo) com o cachorro.

4. A transmissão usual de um dermatófito zoofilico é a forma animal para o humano.

Capítulo 72

1. O diagnóstico diferencial deste processo inclui um processo bacteriano subagudo devido a bactérias aeróbias e anaeróbias Gram positivas e Gram negativas, infecção devido à micobactéria não tuberculose, micetoma actinomicótico, ou um micetoma eumicótico.

2. A lista dos fungos mais prováveis envolvidos em tal processo é extensa e inclui *Acremonium, Fusarium, Scedosporium, Madurella, Exophiala* spp., entre outros.

3. A avaliação deste processo deve incluir radiografias da extremidade e exame microscópico direto de qualquer liquido de drenagem. Se fístulas estão presentes, elas devem ser examinadas para a presença de grânulos. Na ausência de drenagem ou de grânulos, uma biópsia cirúrgica profunda deve ser obtida. Rotina H&E, Gram, acidorresistência e colorações para fungos (p. ex., PAS ou GMS) devem ser realizadas. Drenagem, grânulos e material de biópsia devem ser cultivados para bactérias de rotina, BAAR e fungos (meios seletivos e não seletivos).

4. O tratamento de micetoma eumicótico geralmente é malsucedido, enquanto que a terapia (com agentes antibacterianos) é geralmente eficaz em casos de micetoma actinomicótico. A progressão de um micetoma eumicótico pode ser retardada pela administração de antifúngicos ativos sistemicamente como anfotericina B, terbinafina, cetoconazol e itraconazol. Eventualmente a amputação é o único tratamento definitivo, mas deve ser avaliada junto com a taxa de progressão, a sintomatologia, a disponibilidade de prótese adequada e o estado geral do paciente.

Capítulo 73

1. Em suas viagens, eles foram expostos ao *Histoplasma capsulatum* (cavernas no Missouri e galinheiros em Iowa), *Blastomyces dermatitidis* (Wisconsin), *e Coccidiodes posadasii* (immitis) (Arizona).

2. Fungos dimórficos são organismos que existem em uma forma filamentosa na natureza ou em laboratório a 25°C a 30°C (fase saprófita) e sob a forma de levedura ou forma esférula em tecidos ou quando cultivadas em meio enriquecido em laboratório a 37°C (fase parasitária).

3. Além do dimorfismo todos os agentes das micoses endêmicas possuem a capacidade de replicar a 37°C.

4. Em geral, os ciclos de vida de todos os seis agentes patogênicos dimórficos envolvem a inalação de esporos de natureza infecciosa, seguida de transformação dentro do pulmão para a fase de levedura, onde escapam da destruição pelos fagócitos, tanto no meio intracelular e extracelular. A especificidade de cada uma é mostrada nas Figuras 73-5, 73-6, 73-12 e 73-14.

5. A pneumonia da paciente Jane muito provavelmente seja uma histoplasmose pulmonar aguda. O diagnóstico pode ser feito por sorologia (detecção de antígeno na urina e / ou anticorpos no soro), a cultura de secreções respiratórias e pelo exame microscópico de escarro ou lavado broncoalveolar.

6. A maioria das infecções agudas é resolvida com cuidados de suporte e não requerem tratamento antifúngico específico. Em casos raros, geralmente após a exposição pesada, síndrome da angústia respiratória aguda pode ser vista. Tratamento antifúngico específico com itraconazol mais suporte pode ser necessário em casos graves.

7. O diagnóstico diferencial do nódulo pulmonar de Joan inclui câncer de pulmão, histoplasmose (nódulos únicos são raros), coccidioidomicose (comum), ou um nódulo devido a uma infecção transmitida pelo cão (*Dirofilaria immitis)*. A tuberculose também deve ser considerada. Devido à possibilidade de malignidade, a biópsia associada à histopatologia é necessária. Culturas para fungos e micobactérias devem ser realizadas, mas pode não ser necessário se os elementos característicos de fungos forem observados no exame histopatológico. Dada a sua exposição, o nódulo representa muito provável coccidioidomicose (granuloma). Este não requer tratamento antifúngico.

Capítulo 74

1. O diagnóstico diferencial de febre, pneumonia e sinusite em um paciente transplantado com medula com GVHD é muito amplo e inclui infecção bacteriana, infecção viral (especialmente CMV), infecção fúngica. A combinação de sinusite e infiltrado em um paciente recebendo profilaxia com voriconazol é fortemente sugestiva de infecção devido a um fungo filamentoso diferente de *Aspergillus* spp. As possibilidades incluem infecção devido à zigomicetos ou outro fungo hialino com suscetibilidade diminuída ao voriconazol como *Fusarium* sp. A forma localizada mais sinusite faz com que infecção por *Pneumocystis jirovecii* seja improvável.

2. Fungos com diminuída suscetibilidade ao voriconazol incluem *Candida glabrata*, zigomicetos, *Scedosporium prolificans, Scedosporium apiospermum*, e algumas cepas de *Fusarium* sp.

3. Sempre que possível, uma biópsia do tecido deve ser realizada para o diagnóstico. Material do seio e pulmão devem ser obtidos e analisados microscopicamente. Cultura para fungos também devem ser realizadas, embora seja muitas vezes negativa neste cenário, especialmente se a infecção causada por zigomicetos.

4. A terapêutica deve incluir redução da imunossupressão, se possível, juntamente com a excisão cirúrgica de material infectado e terapia sistêmica com anfotericina B. Se a infecção é devida a zigomicetos, a terapia com posaconazol pode ser considerada.

Capítulo 75

1. O diagnóstico diferencial de nódulo pulmonar solitário inclui câncer, infecções por micobactérias, dirofilariose (verme do coração do cão) e fungos (aspergilose, coccidioidomicose, histoplasmose, adiaspiromicose).

2. Estes três agentes podem ser diferenciados pelo diâmetro da esférula, espessura das paredes, presença e tamanho de endósporos, a reação do hospedeiro e coloração com mucicarmim (Tabela 76.2).

3. Os conídios de *Emmonsia crescens* são inalados para os pulmões, onde se transformam em estruturas esféricas. A célula sofre ampliação maciça, mas não mostra evidência de replicação. A resposta do hospedeiro ao agente é fibrogranaluomatosa na natureza e no granuloma a expansão pode causar sintomas devido à compressão e deslocamento distal das vias aéreas e parênquima alveolar. A severidade da doença parece ser inteiramente um resultado do número de conídios inalados.

4. Apenas *Prototheca wickerhamii* podem ser identificados por sistemas de identificação de leveduras disponíveis comercialmente. Nem *L. loboi* nem *R. seeberi* podem ser cultivados em cultura e *P. insidiosum* devem ser identificados pela demonstração de zoosporos biflagelados.

5. Ambos os agentes da chlorellosis e prototecose são algas. A principal diferença é que a *Chlorella* contém cloroplastos, que são verdes e pigmentados, considerando *Prototheca*, que não contêm cloroplastos e são incolores.

Capítulo 76

1. Aflatoxina é o mais potente agente carcinogênico entre as quatro micotoxinas listadas.

2. Aflatoxicose aguda pode resultar em morte por hepatite aguda. Aflatoxicose crônica pode produzir imunossupressão e carcinoma hepatocelular.

3. As duas formas são de ergotismo convulsivo e gangrenoso. A forma gangrenosa é marcada por vasoconstrição periférica e necrose da extremidade distal e está associada à ingestão de grãos contaminados com *Claviceps purpurea* e que contenham alcaloides do grupo ergotamina. Além de infarto e necrose dos tecidos, a forma de ergotismo gangrenoso é associada com edema, prurido e sensações, variando de picada a dor muscular grave. Ergotismo convulsivo tem sido associado com a ingestão de milho contaminado com *Claviceps fusiformis* e contendo alcaloides do grupo Clavine. Ergotismo neurológico ou ergotismo convulsivo é marcado por espasmos musculares, convulsões e alucinações.

4. Uma associação tem sido relatada, porém, a relação de causa e efeito não foi comprovada.

Capítulo 78

1. Os meios mais comuns de entrada são ingestão oral ou penetração direta pela pele ou outras superfícies (Tabela 78.1).

2. Dois importantes fatores que determinam as consequências da interação entre parasito e hospedeiro são a via de exposição e o tamanho do inóculo.

3. A lectina de adesão galactose-inibida de *E. histolytica* é um bom exemplo de uma adesina que está diretamente relacionada à virulência de um parasito. A ligação desta lectina a carboidratos presentes na superfície da célula hospedeira é necessária para os trofozoítas de *E. histolytica* exercerem sua atividade citolítica.

4. Três mecanismos patológicos gerais em doenças parasitárias são (i) a produção de produtos tóxicos pelo parasito; (ii) dano tecidual mecânico; e (iii) reações imunopatológicas do hospedeiro (Tabela 78.3).

5. Os parasitos podem resistir à depuração imunológica através de variação antigênica (ex., tripanossomas, plasmódios), mimetismo molecular (ex., esquistossomas), encobrimento do sítio antigênico (mascaramento) (ex., filárias, esquistossomas), localização intracelular (ex., plasmódios, leishmanias), e imunossupressão (ex., tripanossomas) (Tabela 78.5).

6. Os quatros tipos de reações imunológicas que ocorrem em doenças parasitárias são anafiláticas (Tipo 1, infecção helmíntica), citotóxicas (Tipo 2, infecção por *T. cruzi)*, imunocomplexos (Tipo 3, malária), e mediadas por células (Tipo 4, leishmaníases) (Tabela 78.4).

Capítulo 79

1. O ciclo de vida dos parasitos define a forma e a localização do parasito no hospedeiro. Essas características determinam o tipo de amostra a ser coletada para o diagnóstico, quando a amostra deve ser coletada e o tipo de método de diagnóstico ser utilizado para a amostra.

2. Visto que a maioria dos exames e identificações parasitológicas é baseada integralmente no reconhecimento das características morfológicas dos organismos, condições que podem obscurecer ou distorcer o aspecto morfológico do parasito podem resultar em identificação errônea ou diagnóstico equivocado. Por exemplo, a coleta e a manipulação inadequadas de uma amostra antes de sua chegada ao laboratório podem resultar em lise de protozoários parasitas. Da mesma forma, a contaminação de espécimes fecais com urina pode destruir trofozoítas móveis e provocar a eclosão de ovos de helmintos. Amostras fecais não devem conter bário, bismuto ou outros medicamentos contendo óleo mineral, antibióticos, antimaláricos ou outras substâncias químicas, porque tais espécimes comprometem a detecção de parasitos intestinais.

3. Amostras fecais devem ser coletadas em frascos limpos, com abertura ampla, impermeáveis e hermeticamente fechados para assegurar o teor de umidade adequado. As amostras devem ser livres de substâncias interferentes apontadas na questão 2 acima. Amostras fecais frescas devem ser levadas ao laboratório dentro de 2 horas após a coleta ou devem ser preservadas com formalina 10%, álcool polivinílico ou acetato de sódio-formalina se o transporte for prolongado. Amostra fecais podem ser estocadas a 4°C mas não devem ser incubadas ou congeladas. Para o exame parasitológico de rotina um total de três amostras separadas coletadas por um período não superior a 10 dias é recomendado. O exame parasitológico das fezes de pacientes que apresentam diarreia adquirida no hospital não é recomendado, considerando a rara frequência de aquisição de infecções parasitárias no ambiente hospitalar.

4. Parasitos detectados no sangue incluem *Plasmodium, Babesia, Trypanosoma* e espécies de filárias.

5. As alternativas à microscopia incluem sorologia (detecção de antígeno e anticorpo), diagnóstico molecular, cultura, inoculação em animais e xenodiagnóstico.

Capítulo 80

1. Existem numerosos obstáculos para o tratamento e a prevenção efetivos de doenças parasitárias em países em desenvolvimento, incluindo fármacos tóxicos e ineficazes, necessidade de administração prolongada, ciclos de vida parasitários complexos, presença de múltiplas infecções e infecções recorrentes, elevados números de indivíduos imunocomprometidos, pobreza, carência na higiene e no saneamento básico.

2. Em muitos casos a meta da terapia antiparasitária é semelhante à da terapia antibacteriana: erradicar o organismo rápida e completamente do hospedeiro infectado. Em contraste, em muitos casos em países em desenvolvimento, os agentes e regimes de tratamento usados para doenças parasitárias são propostos para simplesmente reduzir o impacto parasitário e para prevenir complicações sistêmicas da infecção crônica. A diferença nas estratégias de tratamento é influenciada pela severidade da doença, a toxicidade dos agentes antiparasitários e a possibilidade de reinfecção.

3. A principal importância dos análogos de aminoquinolina é o emprego na profilaxia e tratamento da malária, especialmente causada por *P. falciparum*.

4. A estratégia para o uso de fármacos anti-helmínticos é diferente da estratégia para o uso de outros fármacos para o tratamento da maioria das infecções causadas por protozoários. Enquanto os fármacos direcionados contra protozoários agem nos alvos jovens, nas células mais rapidamente proliferadoras, a maioria dos fármacos anti-helmínticos apresenta como alvo organismos adultos não proliferadores. Portanto, muitos agentes antiprotozoários exercem uma atividade cidal relativamente rápida contra o parasito. Em contraste, agentes anti-helmínticos frequentemente impedem a função neuromuscular e microtubular, resultando na expulsão do verme do hospedeiro ou impedindo a produção de ovos e o desenvolvimento larvário.

Capítulo 81

1. A história e o quadro clínico sugerem infecção por *Cryptosporidium parvum*.

2. Considerando a ocupação da paciente, a mais provável fonte foi aquisição zoonótica de um de seus pacientes animais.

3. Além da criptosporidiose, pacientes infectados com HIV estão em risco para infecção com *E. histolytica, Giardia, Isospora* e *Microsporidia*. Ambos *Isospora* e *Microsporidia* produzem um quadro clínico semelhante ao da criptosporidiose.

4. A criptosporidiose pode ser diagnosticada por coloração imunofluorescente e por detecção de antígeno.

5. Em indivíduos imunocompetentes a criptosporidiose é autolimitada e não requer terapia antimicrobiana específica. Atualmente, não existe terapia eficaz para criptosporidiose em pacientes imunocomprometidos. Espiramicina, nitazoxanida, azitromicina e paromomicina representam promessas em diferentes grupos de pacientes. A terapia consiste primariamente de medidas paliativas para reestabelecer a severa perda de fluidos devido à diarreia aquosa.

Capítulo 82

1. O diagnóstico diferencial para esta paciente incluiu linfoma do sistema nervoso central (SNC), um processo bacteriano, um processo fúngico ou toxoplasmose. O mais provável processo infeccioso é a toxoplasmose.

2. O teste mais apropriado foi realizado. Teste sorológico é também geralmente realizado. A PCR do fluido espinhal pode ser considerada quando a biópsia não pode ser realizada.

3. Sintomas de cefaleia, náusea e vômito claramente sugerem um processo envolvendo o SNC. Esses sintomas em um paciente profundamente imunocomprometido, como, por exemplo, com coração transplantado, causariam suspeitas de linfoma do SNC ou de um processo infeccioso. A toxoplasmose seria a primeira consideração.

4. Nesta paciente, reduzir a terapia imunossupressora realmente não é uma opção. O tratamento prolongado com pirimetamina e sulfadiazina ou sulfametoxazol-trimetoprim será necessário com a administração de corticosteroides, se indicados para controlar o edema cerebral. É pouco provável que essa terapia seja curativa, considerando o estado imunocomprometido persistente. A supressão por longos períodos (ex., indefinidos) será necessária.

Capítulo 83

1. Os nematoides, que podem infectar o trato intestinal de humanos, incluem Ascaris, Enterobius vermicularis, Trichuris trichiura, Ancylostoma duodenale, Necator americanus e Strongyloides stercoralis (Tabela 84.1).

2. O nematoide mais provável neste caso é *Ascaris lumbricoides*. Entre os nematoides intestinais, aqueles que podem aparecer como vermes nas fezes, incluem *E. vermicularis, A. lumbricoides* e *S. stercoralis* (forma larvária). Os ovos de *A. duodenale, N. americanus, T. trichiuris, E. vermicularis* e *A. lumbricoides* também podem ser encontrados nas fezes.

3. A via mais provável de aquisição é a via fecal-oral.

4. Pacientes infectados com *A. lumbricoides* não estão sob risco de autoinfecção.

5. O ciclo de vida do *Ascaris* inclui eliminação dos ovos férteis nas fezes seguida por um período de maturação no solo. Esse último é necessário para o ovo tornar-se infectante. O estágio de infecção é então ingerido e a forma larvária é liberada e migra via corrente sanguínea até o fígado, coração e circulação pulmonar. Nos alvéolos pulmonares as larvas crescem, sofrem mudas e finalmente são tossidas e deglutidas, e retornam ao intestino delgado. Os vermes adultos machos e fêmeas maturam no intestino delgado, copulam e iniciam a produção de ovos.

6. O *Ascaris* pode produzir uma variedade de sintomas extraintestinais, variando de uma pneumonite à obstrução intestinal e perfuração. A migração dos vermes adultos ao trato biliar e fígado pode produzir severo dano tecidual e sintomatologia adjacente. A invasão extraintestinal pode ser estimulada em resposta à febre, por fármacos não indicados para tratar a ascaríase e por anestésicos.

Capítulo 84

1. O diagnóstico diferencial da hematúria neste indivíduo inclui câncer de bexiga, nefrolitíase, tuberculose urinária e esquistossomíase.

2. O mais provável agente etiológico do processo urológico deste paciente é *Schistosoma haematobium*.

3. Como ocorre com as outras formas de esquistossomíase, a infecção com *S. haematobium* é adquirida através do contato com água que contém o molusco hospedeiro intermediário apropriado.

4. As principais complicações desta infecção são uropatia obstrutiva e câncer de células escamosas da bexiga.

5. O tratamento de escolha é praziquantel.

Capítulo 85

1. Este paciente apresenta sinais neurológicos focais. O diagnóstico diferencial baseia-se em uma lesão massiva, incluindo abscessos tumorais, bacterianos ou fúngicos ou cisticercose.

2. O mais provável parasito causador desta condição é a tênia do porco, *Taenia solium*.

3. Os testes diagnósticos incluem imagem radiográfica revelando cisticercos calcificados. Em lesões no SNC como estas, geralmente não é realizada biópsia. Estudos sorológicos demonstrando anticorpos para *T. solium* podem ser úteis.

4. Os fármacos de escolha para cisticercose são praziquantel ou albendazol. Administração concomitante de esteroides pode ser necessária para minimizar a resposta inflamatória às larvas mortas. Devido às múltiplas lesões, a excisão cirúrgica não é uma opção terapêutica viável.

5. A cisticercose é geralmente adquirida por transmissão fecal-oral (ingestão de ovos) ou por autoinfecção onde uma proglote grávida é regurgitada do intestino delgado para o estômago, permitindo que os ovos eclodam e liberem a oncosfera infectante.

6. Outros locais que podem estar envolvidos incluem olhos e músculos esqueléticos. O envolvimento ocular pode ser detectado pelo exame direto do olho e roentgenogramas de tecidos moles podem detectar os cisticercos calcificados.

Capítulo 86

1. A apresentação clínica é consistente com o diagnóstico de escabiose.

2. O diagnóstico definitivo da escabiose depende da demonstração de ácaros em raspados de pele. Os raspados são coletados com porções terminais de uma escova limpa. Os raspados são colocados em uma lâmina de microscopia limpa, onde é acrescentado KOH 20%, lamínula e a montagem é examinada em microscópio de luz com baixo aumento.

3. O tratamento padrão para escabiose é a aplicação de 1% de hexacloreto de gama-benzeno (Lindano) ou creme de permetrina a 5% (Elimite®). A prevenção primária da escabiose é obtida com bons hábitos de higiene pessoal e lavagem rotineira de roupas e roupas de cama.

4. O desenvolvimento de pústulas, associado com as galerias produzidas pelos ácaros, sugere infecção bacteriana secundária, a qual requer terapia com antibióticos.

5. O tratamento simultâneo de todas as pessoas afetadas e seus contatos é necessário em uma situação epidêmica. Limpeza e desinfecção da creche serão também necessários.

Índice

Nota: Os números de página seguidos por “f” se referem a figuras; aqueles seguidos por “q” se referem a quadros; e aqueles seguidos por “t” se referem a tabelas.

A

A-B toxinas, 182, 183f, 184t, 261, 315, 375

Abelhas, 882

Abertura numérica, do microscópio, 155

Abiotrophia, 246

Abscesso(s)
- *Actinomyces*, 387
- amebiano, 797
- anaeróbico, 394
- cerebral, 271, 393
- coleta de amostra de, 192
- de Brodie, 220
- em micetoma eumicótico, 708
- hepático, 797
- *Nocardia*, 271
- *Rhodococcus*, 273

Absidia, 744-745

Acanthamoeba, 776, 818-819

Ácaros, 872-874
- coceira (sarna), 873
- do folículo humano, 874
- transmissão de doença pelos, 421, 423

Ácaros trombiculídeos, 874

Aciclovir, 471, 471-473, 473f
- para as infecções por vírus herpes simples, 510
- para varicela, 513

Ácido 3-nitropropiônico, 762t, 765

Ácido ciclopiazônico, 762t, 765

Ácido dipicolínico, em esporos, 21, 21f

Ácido fosfonofórmico, 471, 475f

Ácido hipoclórico, para desinfecção, 81

Ácido *N*-Acetilmurâmico, na síntese de peptidoglicano, 17, 17f, 18f

Ácido nalidíxico, 207

Ácido *p*-aminosalicílico, 208

Ácido peracético, para esterilização, 77, 78q, 80

Ácido pirúvico, no metabolismo, 23-25, 24f, 26f

Ácido teicoico, 13-14, 19, 19f
de estafilococos, 211
Streptococcus pneumoniae, 238

Ácido tubérculo-esteárico, de *Nocardia*, 268

Ácidos lipoteicoicos, 13-14, 19, 19f, 181
de estafilococos, 211
de *Streptococcus pyogenes*, 226, 227

Ácidos micólicos
de *Corynebacterium*, 261
de micobactérias, 16

Ácidos nucleicos infecciosos, 50

Ácidos nucleicos, síntese de, antibióticos inibidores da, 201t, 202f, 207-208, 207t

Acinetobacter, 330q, 334q, 336, 336f

Acne, 388

Acremonium, 747

Acrodermatite crônica atrófica, na doença de Lyme, 406

Actinobacillus, 339q, 344, 344t

Actinomicose cervicofacial, 386-387, 387f

Actinomicose pélvica, 386, 387, 387f

Actinomyces, 384, 385q, 386t
diagnóstico laboratorial do, 387-388, 387f
doenças causadas por, 385f
características clínicas das, 386-387, 387f
tratamento das, 388
epidemiologia do, 386, 387f
estrutura do, 385-386, 386f
fisiologia do, 385-386, 386f
mecanismos patogênicos do, 386

Adefovir, 473
para a hepatite B, 638
para infecções com vírus herpes simples, 510

Adenilato ciclase calmodulina-dependente, de *Bacillus anthracis*, 248

Adenilciclase/hemolisina, da *Bordetella*, 347

Adenina arabinosídeo, 474

Adenovírus, 495-501
características específicas do, 496q
classificação dos, 495, 496t
como vetor de terapia gênica, 501

diagnóstico laboratorial do, 500-501
doenças causadas por, 495, 496t, 499-501, 499q, 500f
epidemiologia do, 499, 499q
estrutura do, 495-497, 496q, 496f, 497t, 498f
genoma do, 495, 498f
mecanismos patogênicos do, 498, 498q, 498f
replicação do, 53, 495-497, 496q, 496f, 497t, 498f
resposta imunológica ao, 498-499
tempo de curso do, 499f

Aderência
de bactéria, 16, 181-182, 181t
de parasitos, 772, 773t

Adesina P1, de *Mycoplasma*, 412

Adesinas, 16, 181, 181t
de bactérias anaeróbicas, 391, 393
de enterococos, 244, 245t
de *Escherichia coli*, 305
de Micoplasma, 412
de parasitos, 772
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331
de *Streptococcus pneumoniae*, 238

Adiaspiromicose, 751-753, 752f, 753t

Adjuvantes, para vacinas, 97, 145, 149

Adressinas, 87

Aedes, 877

Aeróbios obrigatórios, 23

Aerococcus, 246

Aeromonadaceae, 314

Aeromonas, 314, 315q, 319-320

Afinidade, dos anticorpos, 103

Aflatoxinas, 760-762

Aftas, 734

Agar chocolate, 161

Agar inibidor de fungo, 162

Agar MacConkey, 162, 312

Agar MacConkey contendo sorbitol, para Enterobacteriaceae, 312

Agar manitol salgado, 162

Agar Middlebrook, 162

Agar Mueller-Hinton, 161

Agar Sabourand Dextrose, 161

Agar sangue, 161

Agar xilose-lisina deoxicolato, 162

Agarrão do diabo, nas infecções por coxsackievírus, 544

Agente(s) químico(s), mutações causadas por, 32

Agente delta (vírus da hepatite D), 629, 630t, 641-642, 641f, 642q

Agentes antibacterianos. *See* Antibióticos

Agentes antifúngicos, 681-692.*Veja também agentes específicos*.
- combinações de, 689, 690t
- estruturas químicas dos, 681, 685f
- investigacionais, 688
- para dermatofitoses, 703
- resistência aos, 689-692, 691t
- sistemicamente ativos, 681-688, 682t-683t, 686t
- sítio de ação dos, 681, 684f
- terminologia dos, 681, 684q, 683t
- testes de suscetibilidade dos, 692
- tópicos, 681, 682t-683t, 688

Agentes anti-helmínticos, 788t-789t, 792-793, 793f

Agentes antiparasitários, 786-793
- alvos para os, 786, 787t
- anti-helmínticos, 788t-789t, 792-793, 793f
- antiprotozoários, 788t, 789-792
- profiláticos, 787
- resistência aos, 787

Agentes antiprotozoários, 788t, 789-792

Agentes antivirais, 468-476.*Veja também agentes específicos*.
- alvos para os, 468-471, 468q
  - agrupamento e liberação do vírion, 471
  - fixação, 468
  - penetração, 468-469
  - replicação do genoma, 470-471, 470f
  - respostas imunológicas inatas do hospedeiro, 471
  - síntese de RNA, 469
  - síntese proteica, 471
- anti-influenza, 475
- imunomoduladores, 475
- inibidores de polimerase não nucleosídeos, 474-475, 475f
- inibidores de proteases, 475

Agentes oxidantes, para esterilização, 77, 78q, 80

Agentes tópicos, antifúngicos, 681, 682t-683t, 688

Aggregatibacter, 339q, 344, 344t

Agonistas do cálcio, para doenças parasitárias, 793

Agrupamento, na replicação viral, 54-55

Água sanitária, para desinfecção, 81

AIDS. *See* Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.

Alarmônios, 31

Albendazol
    para ascaridíase, 830
    para doenças parasitárias, 792
    para enterobíase, 828-829
    para equinococose, 862
    para estrongiloidíase, 836
    para infecções de ancilostomose, 833
    para infecções por *Ancylostoma braziliense*, 834
    para loíase, 839
    para microsporidiose, 808
    para *Taenia solium*, 857
    para tricuríase, 832

Alcaloides de quinolina, 790

Alcaloides do Ergot, micotoxina dos, 762t, 763-764

Álcoois, para antissepsia, 78, 81q, 81

Aldeídos, para esterilização, 77, 78q, 80

Alergia, 137-138, 137t, 138f
    a *Aspergillus*, 742
    a insetos picantes, 882

Aleucia tóxica alimentar, 762t, 764-765

Alfavírus, 592-600
    diagnóstico laboratorial de, 599-600
    doenças causadas por, 597f, 598-600
    epidemiologia de, 597-598, 597q, 598f
    estrutura do, 594-595, 594f, 595f
    exemplos de, 593t
    genoma do, 594-595, 595f
    mecanismos patogênicos de, 595-596
    replicação do, 594-595, 594f, 595f
    resposta imunológica ao, 596-597

Algas
    Chrolella, 753-754, 753f
    Prototheca, 755-756, 756f

Alginato, de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Alilaminas, 682t, 688, 692

Aloenxerto, rejeição de, 137

Alopurinol, para doença de Chagas, 826

Alotipos, de imunoglobulinas, 99

Alphaherpesvirinae, 503t, 523

Alternaria, 711-712, 747-748, 748f

Amantadina, 468-469, 475f, 475, 568, 574

Amastigotas
de *Leishmania*, 819, 820f
de *Trypanosoma cruzi*, 825, 825f

Ambiente marinho, *Vibrio* no, 317

Amblyomma, 875-876

Ameba, 67t
de vida livre, 776, 818-819, 819f
Entamoeba histolytica, 795-798, 796f, 797f
exemplos de, 796t, 798
fisiologia da, 66, 68

Amebas de vida livre, 818-819, 819f

Amebíase, 796-798

Amicacina, 205, 206t

Amidase, *Streptococcus pneumoniae*, 238, 238

Amigdalite, viral, 650

Aminoácidos, desaminação dos, 26

Aminociclitol, 206t

Aminoglicosídeo, 204-205, 206t
para infecções com *Lactobacillus*, 389
para infecções enterocócicas, 246

4-Aminoquinolonas, 790

Amodiaquina, para malária, 813

Amostra de urina, coleta de, 781-782

Amostras perianais, coleta de, 781

Amoxicilina-clavulanato, para infecções por *Capnocytophaga*, 369

Amoxicilina, para infecções por *Borrelia*, 408

Ampicilina
para infecções por *Cardiobacterium hominis*, 369
para *Listeria monocytogenes*, 258

Amplificação após transcrição, para vírus, 482

Ampligen, 469, 471

Amprenavir, 475

Anabolismo, 23

Anaeróbios facultativos, 23, 299

Anaeróbios obrigatórios, 23

Anaerococcus, 385q

Anafilotoxinas, 105, 123

Análise de Western Blot, para bactérias, 171-172, 174f

Análise do DNA
    de bactérias, 164-168, 165f, 166f
    de vírus, 482

Análise do plasmídeo, na classificação bacteriana, 10

Análogos de nucleosídeos, 470-474, 470f, 472t, 473f

Anamorfos, 60

Anaplasma, 424-427, 425q, 447t
    diagnóstico laboratorial de, 426
    doenças causadas por, 426
    epidemiologia de, 425, 426t
    estrutura de, 424, 425f
    fisiologia de, 424, 425f
    mecanismos patogênicos de, 424
    resposta imunológica a, 424

Anaplasma phagocytophilum, 425q, 426

Ancilomídeo do Velho Mundo, 832-833, 832f

Ancilostomídeos, 832-834, 832f, 833f

Ancilostomídeos do Novo Mundo, 832-833, 832f

Ancylostoma braziliense, 833-834

Ancylostoma duodenale, 832-833, 832f

Anéis anulares, na microscopia, 156

Anelídeos, de *Exophiala*, 706

Anergia, 116

Anfotericina B, 681, 681-683, 685f, 686t
    para aspergilose, 744
    para blastomicose, 718
    para candidíase, 735-736
    para clorelose, 754

para coccidiomicose, 721
para criptococose, 739
para feo-hifomicose, 748
para histoplasmose, 724
para infecções com amebas de vida livre, 819
para leishmaníase, 822
para paracoccidiomicose, 726
para peniciliose marneffei, 726
para prototecose, 756
para zigomicose, 745
resistência à, 690

Angiomatose bacilar, 366, 368f

Anidulafungina, 687, 692

Animalia
fisiologia de, 68-69, 71-72
importância de, 66t

Anopheles, 877

Antagonismo
de agentes antifúngicos, 689
de antibióticos, 200q

Antagonistas do ácido fólico, para doenças parasitárias, 790

Antibióticos. *Veja também antibióticos e classes específicos*.
antagonismo, 200q
combinações de, 200q
espectro dos, 200q
histórico dos, 199
mecanismos de ação
antimetabólitos, 201t, 202f, 208
inibição da síntese da parede celular, 199-204, 201t, 202f, 202t
inibição da síntese de ácidos nucleicos, 201t, 202f, 207-208, 207t
inibição da síntese proteica, 201t, 202f, 204-207, 206t
novos, 199
sinergismo, 200q
terminologia dos, 200q
teste de suscetibilidade dos, 196

Antibióticos betalactâmicos, 199-200, 200q, 202-203, 202t

Antibióticos polipeptídeos s, 204

Anticódons, 27

Anticorpo(s)
anti-idiótipo, em vacinas, 149
detecção sorológica de. *See* Diagnóstico sorológico.
em infecções parasitárias, 134, 136
estafilocócos, 222
estreptolisina, 228
estreptoquinase, 228
fluorescentes, marcações para, 158t, 158
funções dos, 124q, 128

monoclonais, 97, 103, 169
na resposta de hipersensibilidade, 137t, 138, 138f
neutralizantes, 468
policlonais, 103, 169
Streptococcus pyogenes, 233

Anticorpo heterofílico, nas infecções por vírus de Epstein-Barr, 514-519, 515t, 517f, 518t

Anticorpos anti-idiótipos, em vacinas, 149

Anticorpos monoclonais, 97, 103
no diagnóstico sorológico, 169
para infecções estafilocócicas, 222

Anticorpos neutralizantes, 468

Antígeno(s), 97-98
apresentação de, 112-115, 114f, 114t, 116f
associados às células, no diagnóstico sorológico, 170-172, 172f, 173f
bacterianos
classificação por, 10
resposta específica aos, 127-128, 128f
detecção sorológica de. *See* Diagnóstico sorológico.
do vírus da hepatite B, 633
reatividade cruzada dos, na síndrome de Guillain-Barré, 322
resposta das células T aos, 115-119, 117f, 118f
resposta imunológica humoral e, 97-98, 98q
solúveis, no diagnóstico sorológico, 171-174, 173f, 174q, 174f
superantígenos como, 129
T-dependentes, 98, 103
T-independentes, 97
vírus influenza, 570-572, 571f, 572q, 572t

Antígeno B, *Streptococcus agalactiae*, 232-233

Antígeno C, *Streptococcus agalactiae*, 232-233

Antígeno comum enterobacteriano, 299, 300f

Antígeno da tuberculina, 139, 139f, 139t, 140f

Antígeno de membrana, do vírus de Epstein Barr, 514, 515t

Antígeno de superfície da hepatite B, 633, 633f, 638, 639t, 641

Antígeno do capsídeo viral, do vírus de Epstein-Barr, 514, 515t, 518t

Antígeno F, *Streptococcus pneumoniae*, 238

Antígeno K, de Enterobacteriaceae, 300, 300f

Antígeno K1, de *Escherichia coli*, 305

Antígeno nuclear da Hepatite B, 633, 638, 639t

Antígeno O, de lipopolissacarídeos, 19, 20f

Antígeno precoce, do vírus de Epstein-Barr, 514, 515t, 518t

Antígeno protetor, de *Bacillus anthracis*, 248-249

Antígenos de leucócitos humanos, 85, 112-113, 114f

Antígenos do grupo sanguíneo Duffy, nas doenças parasitárias, 772

Antígenos muito tardios, 112

Antígenos nucleares de Epstein-Barr, 514-515, 515t, 518t

Antígenos t, de poliomavírus, 491-492

Antígenos T-dependentes, 103

Antígenos T-independentes, 97

Antimetabólitos
    antibióticos como, 201t, 202f, 208
    para infecções fúngicas, 682t, 688

Antimonato de meglumina, 789

Antissepsia
    definição de, 78q
    mecanismo de ação da, 79-81
    métodos de, 78-79, 79t, 80t

Antitoxina
    botulínica, 380
    diftérica, 265

Antiveneno
    aranha, 871
    escorpião, 872

Antraz, 248-252, 248f, 249q, 250q, 251f

Antraz cutâneo, 250, 251f

Antraz inalatório, 250-251

Apicomplexa, 68, 802

Apodrecimento do fígado, na fasciolíase, 847

Apoindutores, gene dos, 29

Apophysomyces, 744-745

Apoptose, 120
    em infecções virais, 460
    induzida por *Shigella*, 308

Apresentação cruzada, de antígenos, 115, 116f

Arachnida (Chelicerata), 50t, 870-876
    ácaros, 872-874, 873f
    aranhas, 870-872, 870f
    carrapatos. *See* Carrapato(s).

escorpiões, 872, 872f

Aracnidismo, 870-871

Aranhas, 870-872
solitária marrom, 871-872, 871f
viúva-negra, 870-871, 870f

Arbovírus
alfavírus, 592-600
Bunyaviridae, 605-608
flavivírus, 592-600

Arcanobacterium, 262q, 266, 266t

Arqhiascomicetos, 61, 61t

Arenavírus, 608-610
diagnóstico laboratorial do, 610
doenças causadas por, 609-610, 609q
epidemiologia do, 609
estrutura do, 608-609, 609q
mecanismos patogênicos de, 609
replicação do, 608-609

Arenavírus *Arroyo Whitewater*, 609

Arildona, 475f

Artemeter, 791

Artemisinas, 813

Arterite, *Pythium insidiosum*, 757f, 758

Arterivírus, 592

Artesunato, 813

Artroconídios, 59
de *Coccidioides immitis*, 719
de dermatófitos, 697

Articulação(ões)
coleta de amostras das, 672t
infecções das
bacterianas, 451t
Candida, 734t, 735
fúngicas, 768t
Neisseria gonorrhoeae, 293-294
prostéticas, infecções estafilocócicas de, 221

Articulações prostéticas, infecções estafilocócicas das, 221

Artrite
em infecções estafilocócicas, 220
em infecções por *Campylobacter*, 322, 323
em infecções por *Haemophilus influenzae*, 342

em infecções por parvovírus B19, 533, 535
em infecções virais, 651
na doença de Lyme, 406
na rubéola, 601
nas infecções por *Neisseria gonorrhoeae*, 294

Artrite reativa, nas infecções por *Campylobacter*, 322, 324

Artrite séptica, estafilocócica, 220

Artrópodes picantes
escorpiões, 872, 872f
insetos, 882

Artrópodes, 866-882.*Veja também artrópodes individuais*.
Arachnida, 50t, 870-876
centopeias, 866
Crustacea, 867
de importância médica, 866, 866t
doenças associadas com os, 639, 868t-869t
fisiologia dos, 66, 67t-68t, 69, 70t-71t, 72
importância dos, 67t-68t
Infecções por *Francisella tularensis* causadas por, 354
insecta, 876-882
Myriapoda, 866
Pentastomida, 867
replicação dos, 72

Ascaris lumbricoides, 829-830, 829f

Ascaris suum, 829

Aspergillus
diagnóstico laboratorial de, 743
doenças causadas por. *See* Aspergilose.
epidemiologia do, 741-742
espécies oportunísticas de, 730t
micotoxinas de, 762t, 763, 764
morfologia do, 741, 742f, 743f
resistência a fármacos em, 689-692, 691t

Aspergillus flavus, 741, 760-762

Aspergillus fumigatus, 742f

Aspergillus niger, 742f

Aspergillus parasiticus, 760-762

Aspergillus terreus, 741, 742f, 743

Aspergilomas, 733-743

Aspergilose, 740-743
características clínicas da, 740, 741q, 742-743
diagnóstico laboratorial da, 743
epidemiologia da, 741-742
tratamento da, 690t, 743

Aspergilose pulmonar invasiva, 743

Aspergilose pulmonar necrotizante crônica, 743

Aspirado duodenal, para detecção de parasitos, 781

Asplenia, 141, 142f

Astrovírus, 552

Atenuação, na expressão gênica, 29

Ativadores, da hipersensibilidade, 137

Atividade bactericida, 200q

Atividade bacteriostática, 200q

Atividade proteolítica, de enterococos, 244

Atopia, 137-138, 137t, 138f

Atovaquona, para toxoplasmose, 817

Atovaquona-proguanil, para doenças parasitárias, 791

ATP (adenosina trifosfato), geração de, no metabolismo, 24-26, 24f-26f

Autofluorescência, na microscopia, 155

Autoinfecção
    de *Enterobius vermicularis*, 827
    de *Strongyloides stercoralis*, 834

Autolisinas, na degradação de peptidoglicano, 19

Autótrofos (litotrofos), 23

Avermectinas, para doenças parasitárias, 792

Avidez, dos anticorpos, 103

Azasordarinas, 689

Azidotimidina (zidovudina), 471, 473-474

Azitromicina, 206
    para a cólera, 319
    para bartonelose, 367
    para infecções por *Campylobacter*, 324
    para infecções por *Chlamydia trachomatis*, 436
    para infecções por *Mycobacterium avium*, 287
    para toxoplasmose, 817

Azólicos, 683-687, 686f, 690-692, 691t

B

Babesia, 814-815, 814f

Bacillaceae, 248

Bacillus anthracis, 248-252, 249q
diagnóstico laboratorial do, 251
doenças causadas por
características clínicas das, 248-251, 248f, 249q
tratamento das, 252
epidemiologia do, 249-250
estrutura do, 248, 248f
fisiologia do, 248, 248f
mecanismos patogênicos do, 248-249
vacinas para o, 252

Bacillus cereus, 249f, 250q, 252-253, 252q, 252t

Bacilo Koch-Weeks. *See Haemophilus aegyptius.*

Bacilos, esporos de, 21

Bacitracina, 17, 204

Baço, 87-88, 92f
coleta de amostras do, 779t
macrófagos do, 125
parasitos que afetam, 885t
peliose do, 366

Bacteremia. *See also Veja também* Septicemia,
bactérias anaeróbicas na, 394
Bartonella quintana, 366, 367
Borrelia recurrentis, 406-407
Campylobacter, 322-324
definição de, 188
estafilocócica, 219
Helicobacter, 327
Lactobacillus, 389
Leptospira, 409-410
Listeria monocytogenes, 257
Neisseria gonorrhoeae, 293-294
Neisseria meningitidis, 295, 295f
Pasteurella, 345
Pseudomonas aeruginosa, 333
Rickettsia prowazekii, 422
Stenotrophomonas maltophilia, 335
Streptococcus agalactiae, 232-233, 234
Streptococcus pneumoniae, 240
Streptococcus pyogenes, 230
Yersinia enterocolítica, 311

Bactéria “carnívora”, 229, 229f

Bactéria corineforme, 261, 262q, 262t, 265-266, 266q, 266t

Bactérias à álcool-ácidorresistentes, 16
detecção de, 194t
fracamente, 268
micobactéria, 275
parcialmente, 274

Bactérias aeróbicas
facultativamente, bastonetes, 442t-446t
Gram negativas
bastonetes, 442t-446t
cocos, 442t
Gram positivas
bastonetes, 441t
cocos, 439t-441t

Bactérias anaeróbicas facultativas
bastonetes, 441t
cocos, 439t-441t

Bactérias anaeróbicas, 10, 23, 446t-448t
bastonetes Gram positivos, 384-385, 385q, 386t.*Veja também organismos individuais*.
cocos Gram positivos, 384, 385q, 385f, 385t.*Veja também organismos individuais*.
detecção de, 195t
estrutura de, 391, 392f, 393f
facultativas
bastonetes, 441t
cocos, 439t-441t
Gram negativas
diagnóstico laboratorial de, 395, 395f
doenças causadas por, 392t, 393-395, 394f, 395f
epidemiologia de, 393
espécies importantes de, 391, 392q, 392t
fisiologia de, 391, 392f, 393f
mecanismos patogênicos de, 391, 393
resistência a fármacos em, 395
toxinas de, 393

Bactérias Gram negativas. *Veja também bactérias específicas*.
aeróbicas
bastonetes, 442t-446t
cocos, 442t
coloração de, 10, 12f
detecção de, 194t-195t
lipopolissacarídeos de, 20f
paredes celulares das, 12f, 14-16, 13f
sepse causada por, 183-184

Bactérias Gram positivas. *Veja também bactérias específicas*.
aeróbicas
bastonetes, 519t
cocos, 439t-441t
coloração de, 10, 12f, 13f
detecção de, 194t-195t
paredes celulares das, 13-14, 14f, 15f

Bactérias intracelulares, 122t
ação evasiva das, 186, 186q
Anaplasma, 424-427
Brucella, 357-359, 357q
Chlamydiaceae, 430-431, 430q, 431t
Coxiella burnetii, 426t, 427-429, 427q
detecção de, 195t-196t
Ehrlichia, 424-427
Francisella tularensis, 353
Legionellaceae, 361-365, 362q
Listeria monocytogenes, 255
meio de cultura para, 162
Mycobacterium tuberculosis, 276-277

Bactérias
ação evasiva das, 129, 185-186, 186q, 186f, 186t
adesão de, 181-182, 181t
álcool-ácidorresistentes. *See* Bactérias álcool-ácidorresistentes.
anaeróbicas, 23
aparência das, 9-10
"carnívora", 229, 229f
classificação das, 9-10
colonização das. *See* Colonização.
como procariotos, 9, 10f, 11t
crescimento das, 9, 23, 31, 31f, 32f
cromossomos das, 9, 26
definição de, 4
dinâmicas das populações de, 31
divisão celular nas, 20, 20f, 21f, 31, 31f
doença resultante das. *See* Doença bacteriana; *doenças e organismos específicos.*
entrada no corpo, 180-181, 180t
esporos das, 21-22, 21f
estruturas das, 11-19
citoplasmáticas, 11
em bactérias Gram negativas, 12f, 14-15, 13f, 13t
em bactérias Gram positivas, 13-14, 12f-15f, 13t
em bactérias resistentes ao ácido, 16
externas, 16
parede celular, 11-13, 13t, 14t, 16-20, 17f-20f
genes das. *See* Gene(s), bacteriano(s).
imunopatogênese das, 184-185, 185f
intracelulares. *See* Bactérias intracelulares.
linhagens das, 179
mecanismos patogênicos das, 179-187
metabolismo das, 10, 23-31
oportunistas, 179
parede celular das. *See* Parede celular.
população normal de. *See also* Comensais; *See also* Microbiota Normal.
replicação do DNA nas, 29-30, 31f
ribossomos das, 11
suprimento de energia para as, 23-26, 24f-26f
tamanhos das, 9, 43f
teste de susceptibilidade antimicrobiana das, 196
toxinas de, 182-183, 183f, 184f, 185f
virulentas, 179
visão geral das, 451, 439t-453t

Bacteriófagos, 26
na engenharia genética, 36
na troca de genes, 33
que codificam a toxina da cólera, 315

Bacteroides
diagnóstico laboratorial de, 395, 395f
doenças causadas por, 393
espécies importantes de, 392q, 392t

Bacteroides fragilis, 392q
doenças causadas por, 394-395, 394f
fisiologia do, 391, 392f, 393

Bacteroides thetaiotaomicron, 391, 392q, 394

Bactoprenol (undecaprenol, C_{55} isoprenoide), 17, 17f

Balamuthia, 818-819

Balantidium coli, 801f, 802

Barba, infecções por tíneas da, 697, 698t, 700f

Barbeiros, 824-826, 825f, 881-882, 881f

Barreiras, 85, 121, 122f, 122t

Barreiras naturais, 121

Bartonella, 366-367, 367q, 368f

Bartonella bacilliformis, 366-367, 367q

Bartonella henselae, 366-367, 367q, 368f

Bartonella Quintana, 366-367, 367q

Basidiobolus ranarum, 709-711, 710f

Basidiomicetos, 61, 61t

Basófilos, 88f, 93, 90t

Baylisascaris procyonis, 830-831

Bejel, 397, 402-403

Benzimidazóis
para fasciolíase, 847
para doença parasitária, 792

Benznidazol, para a doença de Chagas, 826

Beribéri cardíaco, 762t, 765

Berne, 879

Betaherpesvirinae, 503t, 522-523, 523q, 523f

Bexiga, esquistossomose da, 853-854

Biblioteca de cDNA, 36

Biblioteca genômica, 36

Bibliotecas, na engenharia genética, 36

Bicho-de-pé, 881

Bifidobacterium, 385q, 386t, 389

Bilharzíase, 850

Biofilmes, 16, 181, 186

Bioterrorismo. *See* Terrorismo.

Bipolaris, 711-712, 747-748, 749f

Bitionol, para fasciolíase, 847

Blastoconidia
    de *Blastomyces dermatitidis*, 713
    de *Paracoccidioides brasiliensis*, 724, 725f

Blastocystis hominis, 798

Blastomicose, 713-718, 715t
    características clínicas da, 714
    epidemiologia da, 713-714
    diagnóstico laboratorial da, 714, 716, 717t
    Sulamericana (paracoccidiomicose), 714f, 715t, 717t, 724-726, 725f

Blastomyces dermatitidis, 714f, 715t
    diagnóstico laboratorial de, 714, 716, 717t
    doenças causadas por, 713-718, 715t
    epidemiologia de, 713-714
    morfologia de, 713

Blastoschizomyces capitatus, 740

Boca
    herpangina da, 544, 544f
    infecções virais da, 649-651, 651t
    microbiota da, 74

Bolhas febris, 413-414

Bolor, 4, 58, 59f

Bordetella, 347-352
    diagnóstico laboratorial de, 351-352
    doenças causadas por
        características clínicas das, 350-351, 350f
        tratamento das, 352
    epidemiologia das, 348, 349f, 350f
    espécies importantes de, 347, 348q

estrutura da, 347
fisiologia da, 347
mecanismos patogênicos da, 347-348, 349t
toxinas da, 347-348
vacinas para, 351-352

Bordetella bronchiseptica, 350q
doenças causadas por, 352
diagnóstico laboratorial de, 352
mecanismos patogênicos da, 347

Bordetella holmesii, 347, 348q, 350q, 352

Bordetella parapertussis, 350q
doenças causadas por, 352
diagnóstico laboratorial de, 352
mecanismos patogênicos da, 347

Bordetella pertussis, 347, 348q, 350q
diagnóstico laboratorial de, 351-352
doenças causadas por
características clínicas das, 350-351, 350f
tratamento das, 352-352
epidemiologia da, 348, 349f, 350f
fisiologia da, 347
mecanismos patogênicos da, 347-348
toxinas da, 347-348

Borrachudos, 877-878

Borrelia, 403-408, 403q
doenças causadas por, 403
características clínicas das, 405-406, 406q, 406f
diagnóstico laboratorial das, 407, 407q
epidemiologia das, 404-405
tratamento das, 408
epidemiologia da, 404-405, 405f
espécies importantes da, 398q, 398t
estrutura da, 403, 404f
fisiologia da, 403, 404f
mecanismos patogênicos da, 404
resposta imunológica à, 404

Borrelia afzelii, 403

Borrelia burgdorferi, 398q, 403-408, 403q
doenças causadas por
características clínicas das, 405-406, 406q, 406f
tratamento das, 408
epidemiologia da, 404-405, 405f
estrutura da, 403, 404f
fisiologia da, 403, 404f
mecanismos patogênicos da, 404
resposta imunológica à, 404

Borrelia garinii, 403

Borrelia hermsii, 398q

Borrelia recurrentis, 398q
diagnóstico laboratorial da, 407
doenças causadas por, 403
características clínicas das, 406-407
tratamento das, 408
epidemiologia da, 405, 405f

Bótrias, de *Diphyllobothrium latum*, 858

Botulismo das feridas, 378, 379

Botulismo inalatório, 378

Botulismo infantil, 378, 379

Brachiola, 806-808

Bradizoítos, de *Toxoplasma gondii*, 815

Brevibacterium, 262q, 266, 266t

Bronquiolite
metapneumovírus humano, 565
viral, 651t
vírus parainfluenza, 562
vírus sincicial respiratório, 564-565

Bronquíolos, flora microbiana dos, 74, 74q

Bronquite, *Chlamydophila pneumoniae*, 436

Brotamento, na replicação viral, 54

Brucella, 354q, 355q, 357-359, 357q

Brucella abortus, 354q, 355q, 357-359, 357q

Brucella canis, 354q, 355q, 357-359, 357q

Brucella melitensis, 354q, 355q, 357-359, 357q

Brucella suis, 354q, 355q, 357-359, 357q

Brugia malayi, 837-839, 837f-839f

Bubões, *Chlamydia trachomatis*, 435

Bunyaviridae, 605-608
de importância médica, 606t
diagnóstico laboratorial de, 608
doenças causadas por, 608
epidemiologia de, 607-608, 607q, 607f
estrutura de, 605, 606q, 606t, 606f
mecanismos patogênicos de, 605-607, 607q
replicação de, 605, 606q, 606t

Burkholderia, 330q, 334-335, 334q

Burkholderia cepacia, 330q, 334-335, 334q

Burkholderia gladioli, 334, 334q

Burkholderia mallei, 330q

Burkholderia pseudomallei, 330q, 334-335, 334q

Bursite do olécrano, na prototecose, 756

C

Cabeças conidiais, do *Aspergillus*, 741, 742f

Cabelo, infecções fúngicas do, 62, 63t, 694-697, 695f, 696f

Cadeia J, da imunoglobulina M, 100

Cadeia O, de *Brucella*, 357-358

Cadeias leves, das imunoglobulinas, 100

Cadeias pesadas, das imunoglobulinas, 100

Calafrios, na malária, 810

Calcineurina, 112

Caldo de peptona alcalino, para *Vibrio*, 319

Caldo de tioglicolato, 161

Calicivírus, 552, 553

Calor, para a esterilização, 77, 79

Calor seco, para esterilização, 77

Calor úmido, para esterilização, 77, 79

Camada limosa, 16, 185, 210, 212

Campylobacter, 321-324, 323q
- diagnóstico laboratorial do, 324
- doenças causadas por, 323-324
- epidemiologia do, 323
- espécies importantes de, 321-324, 323q
- estrutura do, 321, 323f
- fisiologia do, 321
- mecanismos patogênicos do, 321-323
- resposta imunológica ao, 322-323

Campylobacter coli, 321-324, 322q

Campylobacter fetus, 321-323

Campylobacter jejuni, 321-324, 322q, 328

Campylobacter upsaliensis, 321, 322q, 323-324

Câncer
- cervical, 487, 489f, 490, 490f
- gástrico, nas infecções por *Helicobacter pylori*, 327
- hepático, 637-638
- na aflotoxicose, 761-762
- na exposição à fumonisina, 762t, 763

na infecção por HIV, 622-623
vírus oncogênicos, 461, 461f

Cancroides, *Haemophilus ducreyi*, 341, 342

Cancros, *Treponema*, 397, 399f

Candida, 728-736
colonização por, 730-732
diagnóstico laboratorial de, 735, 736f
distribuição das espécies de, 731t
doenças causadas por. *See* Candidíase.
epidemiologia da, 694-729, 730t, 730-733, 731t, 732f, 732t, 733f, 733t
espécies oportunísticas de, 730t
morfologia da, 729, 730, 731f
na flora normal, 730-732
resistência a fármacos em, 689-692, 691t
transmissão de, 732

Candida albicans, 728-729, 730-732, 731f, 734-735, 736f

Candida glabrata, 728-730, 732, 736

Candida krusei, 732, 736, 736f

Candida parapsilosis, 728, 732-734

Candida tropicalis, 728, 731f, 732, 735, 736f

Candidemia, 730q, 732-733, 732f, 732t, 733f, 733t, 734t, 735

Candidíase
diagnóstico laboratorial da, 735, 736f
epidemiologia da, 730-733, 732f, 732t, 733f, 733t
fungemia na, 730q, 732-733, 732f, 732t, 733f, 733t
tipo eritematoso, 734
tipo pseudomembranoso, 734
tratamento da, 690t, 735-736

Candidíase mucocutânea crônica, 734t, 735

Capnocytophaga, 367q, 369

Capsídeos. *Veja também* Nucleocapsídeos.
de adenovírus, 497, 497t
de picornavírus, 538
de vírions, 41, 43-46, 44q, 45f

Capsômeros, 44-45, 45f

Cápsula polissacarídica
de bactérias anaeróbicas, 391
de *Francisella tularensis*, 353
de *Haemophilus*, 338-339
de *Neisseria meningitidis*, 238
de *Streptococcus pneumoniae*, 238
de *Vibrio*, 314

Cápsulas, 16. *See also* Cápsula polisacarídica.
de *Bacillus anthracis*, 248, 251
de bactérias, 179, 185-186, 186q
de Enterobacteriaceae, 301
de estafilococos, 210, 212
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Cápsulas prolígeras, de *Echinococcus granulosus*, 860

Caramujos, como vetores de *Opisthorchis sinensis*, 848, 848f

Caranguejos, na transmissão de doenças, 870

Carbapenemas
espectro dos, 203, 203t
mecanismos de ação dos, 203
para infecções anaeróbicas, 384, 395

Carboxipeptidases, na síntese de peptidoglicano, 17, 18f

Carbúnculos, 218, 219f

Carcinoma hepatocelular, 637-638, 761-762

Carcinoma nasofaríngeo, nas infecções pelo vírus Epstein-Barr, 518

Cardiobacterium hominis, 367q, 367-368

Carotenoides, de micobactérias, 275

Carrapato(s), 874-876
doenças transmitidas pelos, 875-876
anaplasmose, 424-425
Babesia, 814-815, 814f
Coxiella burnetii, 427-429
doenças de Lyme, 404-406, 408
erliquiose, 424-425
Febre do carrapato do Colorado, 589-590, 590f
Rickettsia, 418f, 419-421
duros, 875, 875f
epidemiologia dos, 875
fisiologia dos, 874-875, 875f
moles, 875, 875f
mordidas, 875-876
remoção dos, 876

Carrapato da madeira, transmissão de doença pelo, *Rickettsia*, 419

Carrapatos de cão, transmissão de doenças pelos, 419

Caspofungina, 685f, 687, 692

Catabolismo, 23, 24f

Catalase, de *Nocardia*, 271

Cefalosporinas
espectro das, 202-203, 203t

para infecções por *Haemophilus influenzae*, 344

Ceftriaxona
para infecções por *Neisseria gonorrhoeae*, 297
para infecções por *Streptococcus pneumoniae*, 241

Cefuroxima, para infecções por *Borrelia*, 408

Cegueira do rio, 840-842, 841f

Célula(s) T
apresentação de antígeno para, 112-115, 114f, 114t, 116f
ativação das, 111-112, 111f-113f, 115-119, 117f, 118f
CD4 (helper)
função da, 103, 111, 111f, 117-119, 117f, 118f, 119t
na resposta de hipersensibilidade, 137t, 139, 139f, 139t, 140f
nas infecções bacterianas, 127, 118f
nas infecções virais, 132
vs. estado do HIV, 622-623
CD8 (citotóxico ou supressor)
função da, 111, 111f, 119-120, 119f
nas infecções virais, 132-133
citocinas da, 86t, 87t
desenvolvimento da, 110-111, 110q, 110f
diferenciação da, 87, 88f
função das, 95, 110-111, 110q, 111f, 124q
função deficiente da, 142, 142t
gamma-delta, 126
híbrido *natural killer*, 120, 126
marcadores de superfície da, 91t, 95, 95f
na produção de imunoglobulinas, 102f
na resposta imunológica aos fungos, 134
quimiocinas da, 189t
receptores para retrovírus na, 614
resposta antígeno-específica da, 132-133, 133q
resposta viral da, 462
tipos de, 89t
tropismo do HIV pelas, 617-618, 617q, 617f, 618t

Célula de Treg, 111, 119

Células A sinoviais, 90, 94

Células apresentadoras de antígenos, 89t, 108, 127-128, 128f

Células B, 90t
citocinas das, 86t
deficiências das, 142, 142t
diferenciação das, 87, 88f
função das, 95, 94t
marcadores de superfície das, 91t, 95, 95f
produção de imunoglobulinas nas. *See* Imunoglobulina(s).
proliferação das, nas infecções por vírus Epstein-Barr, 514-518, 516f, 517f
resposta viral das, 462

Células com citotoxicidade celular dependente de anticorpos, 95, 109-110

Células da microglia, 89t, 94

Células de Downey, nas infecções pelo vírus Epstein-Barr, 515, 516f

Células de Kupffer, 89t, 93

Células de Langerhans, 89t, 94, 107

Células de memória, 95, 101-103

Células dendríticas, 88f, 89t, 94-95, 107-108, 108q, 109t, 117f, 127, 128f
    imaturas, 133
    nas infecções virais, 130
    tropismo do HIV por, 617

Células dendríticas foliculares, 94, 107

Células dendríticas imaturas, 107-108, 108q, 109t, 127, 128f, 133

Células dendríticas marginais esplênicas, 107

Células dendríticas plasmacitoides, 94

Células dérmicas intersticiais, 94, 107

Células espinhosas, de papilomavírus humano, 490-491

Células filhas, bacterianas, 31, 31f

Células gigantes
    no sarampo, 557, 558, 560
    multinucleadas, 109

Células interdigitantes, 107

Células gigantes de Langerhans, na tuberculose, 278

Células M, invasão por *Salmonella* das, 306

Células mesangiais intraglomerulares, 93

Células muriformes, na cromoblastomicose, 706, 707f

Células não permissivas, na infecção viral, 459

Células *natural killer*, 88f, 89t, 95, 109-110
    receptores das células T para, 90t
    célula T híbrida de, 120, 126
    infecções virais nas, 130

Células permissivas, nas infecções virais, 459

Células plasmáticas, 90t, 95, 101-103

Células pré-dendríticas, 89t

Células responsivas a antígenos, 89t

Células sanguíneas brancas. *See* Leucócitos; *células específicas.*

Células semipermissivas, nas infecções virais, 459

Células tronco, 87, 88f

Celulite
Clostridium perfringens, 373
Haemophilus influenzae, 342
Pasteurella, 345
Streptococcus pyogenes, 229

Centípedes, 866

Centruroides, 872, 872f

Cercárias
de esquistossomos, 850
de *Fasciolopsis buski*, 845, 846f

Cérebro
abscesso do
bactérias anaeróbicas, 393-394
na nocardiose, 271
actinomicose do, 387
microglia no, 94

Cereolisina, 252

Cerne, do esporo, 21, 21f

Cerne polissacarídico
de Enterobacteriaceae, 299-300, 300f
de lipopolissacarídeos, 19-21, 20f

Cérvix
câncer da, 487, 489f, 490, 490f
displasia da, 488, 490, 490f
flora microbiana da, 76, 76q

Cervicite, *Chlamydia trachomatis*, 434, 434f

Cestoides, 855-864
cisticercose decorrente dos, 856-857, 857f
de importância médica, 856t
Diphyllobothrium latum, 858-859, 859f
Dipylidium caninum, 864, 864f
distribuição dos, 71t
Echinococcus granulosus, 860-861, 860f
Echinococcus multilocularis, 862, 862f
esparganose decorrente dos, 859
fisiologia dos, 49t
Hymenolepis diminuta, 863-864, 864f
Hymenolepis nana, 862-863, 863f
Taenia saginata, 857-858, 858f
Taenia solium, 855-857, 856f, 857f
transmissão dos, 71t

Cetoconazol, 683, 685f, 686t, 756

Cetolídeos, 206t, 206

Chagomas, 825

Chatos, 880, 880f

Chelicerata. *See* Arachnida (Chelicerata).

Chikungunya, 598

Chlamydaceae, 430-431, 430q, 431t

Chlamydia, 447t

Chlamydia trachomatis, 431-436, 430q, 431t, 432t
- biovares de, 431
- diagnóstico laboratorial de, 435-436, 435f, 436f
- doenças causadas por
  - características clínicas das, 432q, 433-435, 434f
  - tratamento das, 436
- epidemiologia da, 433
- mecanismos patogênicos da, 431
- resposta imunológica à, 431
- serovares de, 431, 432t

Chlamydoconidia, de *Candida*, 729, 731f

Chlamydophila, 447t

Chlamydophila pneumoniae, 430q, 431t, 436-437

Chlamydophila psittaci, 430q, 431t, 437-438, 438f

Chlorella, 752t, 753

Choque, na febre da dengue, 599

Choque séptico, na histoplasmose, 723

CHROMagar, 162, 735, 736f

Chromista
- fisiologia de, 68
- importância de, 66t

Ciclo anfibólico, 26

Ciclo do ácido tricarboxílico, 25-26, 25f, 26f

Ciclo exoeritrocítico, 809

Cicloserina, 204

Cidofovir, 473
- para infecções pelo vírus herpes simples, 510
- para infecções por citomegalovírus, 522
- para infecções por papilomavírus humano, 491
- para varíola, 530

Ciliados, 67t, 802

Ciliofora, fisiologia dos, 68

CIM (concentração inibitória mínima), 196, 200q

Ciprofloxacina, 207
    para infecções por *Aeromonas*, 320
    para infecções por *Bacillus cereus*, 253

Cirrose, na hepatite C, 640

Cisticercose, 856-857, 857f

Cisto(s)
    de *Echinococccus granulosus*, 860-861, 860f
    de *Echinococcus multilocularis*, 862, 862f
    de *Entamoeba histolytica*, 795-797, 796f, 797f
    de *Giardia lamblia*, 799f
    hidático, 860
    na feo-hifomicose, 712
    parasitário, 69, 71
    Pneumocystis jirovecii, 748-750, 749f

Cistos hidátidos
    Echinococcus granulosus, 860, 860f
    Echinococcus multilocularis, 862, 862f

Cístrons, 26

Citocina(s), 85, 86t-87t, 89q, 125-126, 126q
    efeitos patológicos das, 128-129
    fase aguda, 183
    na fagocitose, 124, 125f
    na gripe, 570
    na regulação das células T, 112, 113t, 117f
    na tuberculose, 277
    nas infecções por filovírus, 581
    no sarampo, 558
    produção de, 117-119, 118f, 119t
    receptores para, 112

Citocromo oxidase, de *Pseudomonas*, 330

Citolisina, de enterococos, 243

Citologia, nas infecções virais, 478-479, 479f

Citomegalovírus, 519-522, 523q
    diagnóstico laboratorial do, 521-522, 521f, 521t
    doenças causadas por, 519-522, 520f, 520t
    epidemiologia do, 519, 519t, 520q
    estrutura do, 519
    mecanismos patogênicos do, 519, 519q
    replicação de, 519

Citometria de fluxo, 170-172, 173f

Citoplasma, estruturas do, 11, 13f, 13t

Citotoxina(s)
de *Clostridium difficile*, 380-381
de *Entamoeba histolytica*, 795
de *Helicobacter pylori*, 326

Citotoxina traqueal, de *Bordetella*, 348

Citotoxina vacuolizante, de *Helicobacter pylori*, 326

Citreoviridina, 762t, 765

Citrinina, 763

Citrobacter, 312

Cladophialophora, 706, 708

Cladophialophora bantiana, 748f

Cladosporium, 706, 748

Clamisdosporos, de *Blastomyces dermatitidis*, 713

Claritromicina, 206, 287

Classificação de Lancefield, dos estreptococos, 224

Classificação de Runyon, das micobactérias, 275-276

Claviceps, micotoxinas de, 762t, 763

Clindamicina, 207
para babesiose, 815
para doenças parasitárias, 790
para infecções estafilocócicas, 222
para infecções por *Bacillus cereus*, 253
para toxoplasmose, 817

Clofazimina, 208, 209

Cloranfenicol, 205
para bartonelose, 367
para infecções Rickettsia rickettsii, 421

Clorelose, 752t, 753-754, 753f

Cloreto de benzalcônio, para desinfecção, 81

Cloreto de cetilpiridíneo, para desinfecção, 81

Clorexidina, para antissepsia, 79, 82q

Cloroplastos, *Chlorella*, 753-754, 753f

Cloroquina
para malária, 811, 813
resistência a, 813

Cloroquinona, 790

Clostridium, 371-383, 372t
espécies importantes de, 371, 372q
esporos de, 21

Clostridium argentinense, 378

Clostridium baratii, 372, 378

Clostridium botulinum, 372q, 372t, 378-380, 378q
diagnóstico laboratorial do, 379
doenças causadas por, 374q
características clínicas das, 378-379
tratamento das, 380
epidemiologia do, 378
estrutura do, 378
fisiologia do, 378
mecanismos patogênicos do, 378
resposta imunológica ao, 378
toxinas do, 378

Clostridium butyricum, 372, 378

Clostridium clostridioforme, 372

Clostridium difficile, 372q, 372t, 374q, 380-381, 380q, 381f

Clostridium perfringens, 371-375, 372t, 382q
diagnóstico laboratorial do, 375
doenças causadas por, 373-375, 374q, 374f
epidemiologia do, 372
estrutura do, 371, 371f
fisiologia do, 371, 371f
mecanismos patogênicos do, 371-372
toxinas do, 371-372

Clostridium septicum, 372q, 372t, 381-382, 381f

Clostridium sordelii, 372, 381

Clostridium sporogenes, 372

Clostridium tertium, 372q, 372t, 381

Clostridium tetani, 372q, 372t, 375-377, 376q
diagnóstico laboratorial do, 377
doenças causadas por, 374q, 376-377, 377f
epidemiologia do, 376
estrutura do, 375
fisiologia do, 375
mecanismos patogênicos do, 375-376
resposta imunológica ao, 375-376
toxinas do, 376
vacinas para, 377

Coagulação intravascular disseminada, 184

Coagulase, estafilocócica, 209, 214, 222

Coagulase ligada, de estafilococos, 212

Cobertura de proteína semelhante a queratina, do esporo, 21, 21f

Coccidia, 68

Coccidia. *Veja* Esporozoa.

Coccidioides immitis, 714f, 715t
esférulas de, 753, 753f
morfologia do, 718-719, 719f, 720f

Coccidiomicose, 715t, 718-719
diagnóstico laboratorial da, 717t, 720-721
epidemiologia da, 719-720
síndromes clínicas da, 719, 720, 720t
tratamento da, 721

Coceira causada por ácaros, 873

Coceira superficial, 833-834

Cocos, catalase-negativos, 244t

Código genético, 27

Códons, 27

Coilócitos, de papilomavírus humano, 486, 490, 490f

Colangite, *Opisthorchis sinensis*, 848

Cólera, 317, 317q, 319

Coleta de amostras, 188-193
da urina, 190t, 192-193
de cateter, 189t
de exudatos, 190t
de ferimentos, 190t, 192
de fungos, 670-671, 672t-673t
de tecidos, 190t, 192
de vírus, 477, 478t
do fluido cerebrospinal, 189t, 191
do olho, 190t, 192
do ouvido, 189t, 192
do trato genital, 191t, 193
do trato respiratório, 189t, 192
fecais, 191t, 193
sanguíneas, 188, 189t

Colistina, 204

Colite
citomegalovírus, 521
Clostridium difficile, 380-381, 380q, 381f
Entamoeba histolytica, 796-797

Escherichia coli, 304-305

Colite hemorrágica, *Escherichia coli*, 305

Cólon, microbiota do, 75, 75q

Colonização, 181-182. *See also* Microbiota.
Actinomyces, 386
bactérias anaeróbicas, 393
Candida, 730-732
doença e, 73
Erysipelothrix rhusiopathiae, 259
estafilococos, 214
Helicobacter pylori, 326
Pseudomonas aeruginosa, 332
Salmonella, 307
Streptococcus agalactiae, 232-233, 235
Streptococcus pneumoniae, 238

Coloração laranja de acridina, 158t, 158

Coloração Ácido periódico-Schiff, 674t, 675

Coloração Calcoflúor branco, 158t, 158, 671, 674f, 674t

Coloração de Giemsa, 674t, 675f

Coloração de Gomori com metenamina argêntica, 674t, 675, 675f, 676f

Coloração de Gram, 10, 156, 157t, 295, 295f, 671, 674f, 674t, 675f

Coloração de hematoxilina férrica, 156, 157t

Coloração de Wright-Giemsa, 156, 157t

Coloração de Ziehl-Neelsen, 158t, 156, 285

Coloração hematoxilina e eosina, 674t, 675

Coloração tricrômica, 156, 157t

Colorações
de Gram, 10, 12f
para exame de parasitos, 781
para fungos, 671, 674f-676f, 674t, 675, 677t-678t
para microscopia, 10, 12f, 156, 157t, 156

Coltivírus, 589-590, 590f

Columela, dos fungos, 60

Comensais, 58, 73-76
amebas como, 795
da cabeça, 74
da pele, 76, 76q
do sistema genitourinário, 75-76, 76q
do trato gastrointestinal, 74-75, 75q
do trato respiratório, 74, 74q

vs. patógenos, 73-74

Complementação, na replicação viral, 56

Complexo de ataque da membrana, 104f, 105, 106f

Complexo de iniciação, na tradução de genes, 27

Complexo *Mycobacterium avium*, 282-283, 282q, 283t, 284f, 287

Complexo relacionado à AIDS, 622

Complexos imunológicos
na resposta de hipersensibilidade, 137t, 138-139, 138f
nas infecções virais, 463

Componente secretório, 101

Compostos antimônicos, 772, 822

Compostos arsênicos, 789

Compostos de cloro, para desinfecção, 81

Compostos de iodo, para desinfecção, 78-81, 81q

Compostos fenólicos, para desinfecção, 81

Compostos halógenos, para desinfecção, 78-79, 81q, 80-81

Compostos quaternários de amônio, para desinfecção, 81

Concentração bactericida mínima (MBC), 200q

Concentração inibitória mínima (CIM), 196, 200q

Condensador, do microscópio, 155

Condições aeróbicas, para o metabolismo, 24-26, 24f-26f

Condições anaeróbicas, para o metabolismo, 24-26, 24f-26f

Condylomata acuminata, 489

Condylomata lata, 399

Conidios, 59, 60f.*Veja também* Macroní dia; Microní dia.
de dermatófitos, 697, 699t, 699f
de *Emmonsia*, 751
de *Histoplasma capsulatum*, 721, 722f
de *Scedosporium apiospermum*, 747, 747f

Conidiobolus, 744-745

Conidiobolus coronatus, 709-711, 710f

Conjugação, na troca de genes, 33, 34-35, 35f

Conjuntivite,

adenovírus, 500, 500f
Chlamydia trachomatis, 433
enterovírus, 70, 545
Haemophilus aegyptius, 342
vírus do sarampo, 559

Conjuntivite de inclusão em adultos, *Chlamydia trachomatis*, 433

Conjuntivite folicular, *Chlamydia trachomatis*, 433

Conjuntivite hemorrágica, enterovírus, 70, 545

Conjuntivite neonatal purulenta, 294, 294f, 297

Conjuntivite oculoglandular de Parinaud, 434

Convalescência, nas infecções virais, 457

Copépodes, 842-843, 842f, 869-870

Coqueluche
características clínicas da, 350-351, 350f
tratamento da, 351-352

Coração
Doença de Lyme do, 406
parasitos que afetam o, 885t

Coracidium, de *Diphyllobothrium latum*, 858

Corantes, para microscopia, 156, 157t

Coriza, no sarampo, 559

Coronavírus, 549-551
características exclusivas do, 551q
diagnóstico laboratorial de, 551
doenças causadas por, 549-551, 553q
estrutura do, 549, 551f
mecanismos patogênicos de, 549-550, 552q
proteínas do, 549, 552t
replicação do, 549, 552f

Corpos asteroides, *Sporothrix schenckii*, 705, 707f

Corpos de inclusão
de adenovírus, 498
de Chlamydiaceae, 430-431
de citomegalovírus, 521, 521f
de herpesvírus, 505
do vírus do sarampo, 557
dos vírus, 460, 479, 479f

Corpos de inclusão de Cowdry, dos vírus, 479, 479f

Corpos de Negri, nos vírus, 479, 479f, 579-580

Corpos reticulares

de Chlamydiaceae, 430
de *Ehrlichia*, 424

Corpúsculos elementares
de Chlamydaceae, 430
de *Ehrlichia*, 424

Correpressores, na expressão gênica, 29

Córtex, do esporo, 21, 21f

Corticosteroides
para larva migrans, 831
para triquinose, 837

Corynebacterium, 261, 262q, 262t

Corynebacterium amycolatum, 262q, 262t, 266q, 266

Corynebacterium diphtheriae, 261-265, 263f
diagnóstico laboratorial de, 264-265
doenças causadas por, 263-265, 264f
epidemiologia de, 263
estrutura de, 261
fisiologia de, 261
mecanismos patogênicos de, 261-262
toxinas de, 261-262, 265
vacinas para, 265

Corynebacterium jeikeium, 262q, 262t, 265-266, 266q, 266f

Corynebacterium pseudotuberculosis, 262q, 262t, 266

Corynebacterium ulcerans, 262q, 262t, 266q, 266

Corynebacterium urealyticum, 262q, 262t, 266q, 266

Coxiella, 448t

Coxiella burnetii, 425q, 426t, 427-429, 427q

Coxsackievírus, 538
diagnóstico laboratorial de, 545
doenças causadas por, 543-545, 543t

Crescimento, de bactérias, 9, 23, 31, 31f, 32f

Criptococomas, 738

Criptococose, 737-739
características clínicas de, 737-739
diagnóstico laboratorial de, 738-739, 739t
epidemiologia de, 738
tratamento de, 690t, 739

Crise aplástica, em infecções com parvovírus B19, 533, 535

Cristal violeta, 10

Cromoblastomicose, 705-708, 707f

Cromoblastose, 705t

Cromossomos
análise do DNA dos, na classificação bacteriana, 10
bacterianos, 9, 11, 26
mapeamento genético dos, 36
replicação dos, 31, 31f

Crustacea, 49t, 869-870

Cryptococcus neoformans
doenças causadas por, 690t, 737-739, 739t
morfologia do, 737, 737f, 738f
resistência a fármacos em, 689-692, 691t
variedades de, 737

Cryptosporidium, 803-804, 803f, 804f

Culicoides, 877

Cultura, 160-163
celular, 162, 480
de estafilococos, 221, 221f
de sangue, coleta de amostras para, 188, 189t, 191
de *Streptococcus pyogenes*, 231
meio para, 160-162, 161t
para identificação bacteriana, 194t-196t. *Veja também organismos específicos*, diagnóstico laboratorial de.
para identificação de fungos, 676
para identificação de parasitos, 784
princípios da, 162-163

Cultura de células, 162, 480

Cultura de sangue, coleta de amostras para, 188, 189t, 191

Cunninghamella, 744-745

Curvularia, 708, 711

Cyclops, 869-870

Cyclospora, 804-806, 805f, 806f

D

Dapsona, 208, 287

Daptomicina, 204

Debridamento
    para actinomicose, 388
    para clorelose, 754
    para infecções por *Clostridium perfringens*, 375
    para infecções por *Pythium insidiosum*, 758
    para tétano, 377

Decápodes, 870

Defensinas, 121

Delavirdina, 471, 475

Demência, relacionada à AIDS, 623

Demodex, 874

Dengue, 599

Densovirus, 533

Deoxinivalenol, 764-765

Dependovirus, 533

Derivados proteicos purificados (PPDs), de micobactérias, 275, 285

Dermacentor, 573, 875, 876

Dermatite cercariana, 854

Dermatite, esquistossômica, 854

Dermatobia hominis, 879

Dermatofitoses, 697-703
    agentes causadores das, 697, 698t-701t
    apresentações clínicas das, 701-702, 700f, 702f
    diagnóstico laboratorial das, 702-703
    ecologia das, 700-701
    epidemiologia das, 700-701
    morfologia das, 697-700, 699f, 700f
    tratamento das, 703
    versus não dermatófitos, 697, 698t, 703

Desafio viral, 133-134

Descolorante, para a coloração de Gram, 10

Desinfecção

definição de, 78q
mecanismos de ação de, 79-81
métodos de, 77-78, 79t

Desinfetantes de alto nível, 77

Desinfetantes de baixo nível, 78

Desinfetantes de nível intermediário, 78

Deslocamento antigênico, no vírus influenza, 572

Desmielinização, nas infecções por poliomavírus, 493

Desvio antigênico, no vírus influenza, 572

Desvio da hexose monofosfato, 26

Diacetoxiscirpenol, 764-765

Diagnóstico laboratorial. *See* Microbiologia diagnóstica.

Diagnóstico molecular, 164-168, 165f, 166f
da detecção de proteínas, 167-168, 167t
de doenças parasitárias, 783-784, 784t
de fungos, 679t, 679-680
para detecção de material genético, 164-168, 165f, 166f

Diagnóstico sorológico, 169-175
anticorpos para, 169
imunoensaios para
anticorpos e antígenos solúveis, 171-174, 173f, 174q, 174f
antígeno associado à célula, 170., 172, 172f, 173f
métodos para, 169-170, 171f
sorologia, 174-175, 174q

Diamidinas, para doenças parasítárias, 791

Diaminopirimidinas, 791

Diaptomus, 869-870

Diarreia
adenovírus, 500
Bacillus cereus, 253
Escherichia coli, 303-305, 303t
rotavírus, 588-589., 588q, 589q
Shigella, 309
Vibrio, 315-319

Dicrocoelium dendriticum, 846

Dideoxicitidina, 474

Dideoxinosina, 474

Dientamoeba fragilis, 800

Dietilcarbamazina, 839

Difluorometilornitina, para tripanossomíase, 824

Difteria, 263-265, 264f

Difteria laríngea, 561-562, 561q, 650, 651t

Diphyllobothrium latum, 858-859, 859f

Diplococos
Neisseria, 289, 291f
Streptococcus pneumoniae, 236, 237f

Díptera, 876-878, 878f

Dipylidium caninum, 864, 864f

Dirofilaria immitis, 842

Distúrbios neurológicos
na doença de Lyme, 406
na nocardiose, 269

Divisão celular, em bactérias, 20, 20f, 31, 31f

DNA
complementar, na replicação do retrovírus, 614
recombinação do, 32, 36, 37f
reparo do, 32
replicação do, 29-30, 31f
transferência do, 34-35, 35f

DNA ligase, na engenharia genética, 36

DNA polimerases
como alvo antiviral, 470-471, 470f
de adenovírus, 495
de herpesvírus, 503
DNA-dependente, 29, 51

DNA viral. *See* Vírus, DNA.

DNAses, estreptocócicas, 228

Doença bacteriana
imunopatogênese da, 184-185, 185f
patogênese da, 179-187
sinais e sintomas da, 179

Doença broncopulmonar, *Nocardia*, 271, 269t, 270f

Doença da arranhadura do gato, 367

Doença da mão-pé-e-boca., 544, 544f

Doença da úlcera péptica, nas infecções por *Helicobacter pylori*, 326-327

Doença da vaca louca, 644-648

Doença de Bang (brucelose), 358-359, 357q

Doença de Bornholm, nas infecções por coxsackievírus, 544

Doença de Brill-Zinsser, 422

Doença de Carrión, 366-367, 367q

Doença de Castleman Multicêntrica, 523

Doença de Chagas, 822-826, 825f

Doença de Creutzfeldt-Jakob, 644-648

Doença de Hansen Multibacilar, 280, 281f, 281t, 282f, 287

Doença de Hansen na forma Paucibacilar, 280, 281f, 281t, 282f, 287

Doença de Hansen, 280, 280q, 281f, 281t, 287

Doença de inclusão citomegálica, 520, 521, 521f

Doença de Lyme, 403
- características clínicas da, 405-406, 406f
- diagnóstico laboratorial da, 407, 407q
- epidemiologia da, 404-405, 405f
- histórico da, 405
- patogênese da, 404
- tratamento da, 408

Doença de Ritter, 216, 216f

Doença do Akakabi-byo, 762t, 764

Doença do arroz amarelo, 762t, 763, 765

Doença do bolor vermelho, 762t, 765

Doença do legionário, 361, 363-365, 363t

Doença do sono, 822-824, 823f

Doença do sono gambiana, 823f, 824

Doença dos separadores de lã, 250

Doença granulomatosa crônica, 141, 142f

Doença hemorrágica
- alfavírus, 596, 599
- flavivírus, 596, 599

Doença linfoproliferativa pós-transplante, 517-518

Doença microbiana, 4-5

Doença Onyalai, 762t, 765

Doença transmitida por, 387-389, 814

Doença *vs*. Colonização, 73

Doenças de Whipple, 267

Doenças estafilocócicas, 210q, 215-221
articulações prostéticas, 221
artrite séptica, 220
bacteremia, 219
cutâneas, 218-219, 218f, 219f
diagnóstico laboratorial das, 221-222, 221f
empiema, 220
endocardite, 219-220
envenenamento através de alimentos, 216-217
epidemiologia das, 214-215
osteomielite, 220
patogênese das, 212-214, 213t
pneumonia, 220
prevenção das, 222-223
relacionada a cateter, 221
relacionada a shunts, 221
síndrome da pele escaldada, 213, 216, 216f
síndrome do choque tóxico, 218, 218f
tratamento das, 222-223, 222f
trato urinário, 221

Doenças linfoproliferativas, induzidas pelo vírus de Epstein-Barr, 517-518

Doenças parasitárias. *Veja também doenças e parasitos específicos*.
diagnóstico laboratorial das, 776-784
sangue e tecido, 778t-779t, 782-783
abordagens de diagnóstico molecular, 783-784, 784t
coleta de amostras para, 777-783, 778t-779t
considerações do ciclo de vida nas, 776-777
cultura, 784
imunodiagnóstico, 783
intestinal, 777, 778t-780t, 780-782
métodos para as, 776, 777q
trato urogenital, 777, 779t, 782
xenodiagnóstico, 784
patogênese das, 771-775, 772t
aderência nas, 772, 772t
danos às células e tecidos, 772-775, 773t, 774t
exposição e entrada, 771, 772t
interferência da defesa do hospedeiro, 775, 774t
replicação nas, 772, 773t
tratamento das. *See* Agentes antiparasitárias.
vacinas para, 786

Doenças transmitidas através da água, bacterianas, 452t

Doenças transmitidas através da alimentação
Bacillus cereus, 252-253, 252q
bacterianas, 452t
botulismo, 378-380
Brucella, 358
Campylobacter, 323
Clostridium perfringens, 371-375, 374q

Escherichia coli, 303-305, 303t
Listeria monocytogenes, 256-257
Salmonella, 306-307
Staphylococcus, 214, 216-217
toxoplasmose, 816
triquinose, 836-837, 836f
Vibrio, 317-319

Dose da cultura de tecidos, na quantificação viral, 481

Dose infecciosa, na quantificação viral, 481

Dose letal, na quantificação viral, 481

Doxiciclina, 205
para bartonelose, 367
para brucelose, 359
para doenças parasitárias, 790
para erliquiose, 426
para infecções estafilocócicas, 222
para infecções por *Borrelia*, 408
para infecções por *Chlamydia trachomatis*, 436
para infecções por *Chlamydophila psittaci*, 437-438, 438f
para infecções por *Coxiella burnetii*, 429
para infecções por *Mycoplasma*, 415
para infecções por *Orientia*, 423
para infecções por *Rickettsia rickettsii*, 405
para leptospirose, 411
para malária, 811, 813
para sífilis, 402
para tifo-da-mata, 423
para tularemia, 357

Dracunculus medinensis, 842-843, 842f

Dysgonomonas, 369

E

Echinococcus granulosus, 860, 860f

Echinococcus multilocularis, 862, 862f

Echinostoma ilocanum, 845

Echovírus, 538
    diagnóstico laboratorial do, 545
    doenças causadas por, 543-545, 543t

Ecthyma gangrenosum, em infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, 331, 333

Eczema herpético, 508

Edema de Calabar, na loíase, 839

Efavirenz, 475

Efeitos citopatológicos, dos vírus, 458-461, 459q, 459t, 460t, 461f, 477-481, 479f-481f, 480q

Efeitos teratogênicos
    do vírus da rubéola, 601
    dos vírus, 656

Ehrlich, Paul, 3

Ehrlichia, 424-427, 425q, 448t
    diagnóstico laboratorial da, 426
    doenças causadas por, 425-427
    epidemiologia da, 424-425, 426t
    estrutura da, 424, 425f
    fisiologia da, 424, 425f
    mecanismos patogênicos da, 424
    resposta imunológica à, 424

Ehrlichia canis, 424, 425f, 426

Ehrlichia chaffeensis, 424-426, 425q

Ehrlichia ewingii, 425q, 426

Eikenella corrodens, 290q, 293q, 297-298

Elefantíase, 838, 841

Eletroforese, 164, 165f

ELISA (ensaio imunoabsorvente ligado à enzima), 171, 173f

Emmonsia, 751-753, 752f, 753t

Empiema, 220

Encefalite

alfavírus, 596, 598-599
amebiana, 818-819
Bunyaviridae, 608
coxsackievírus, 544
flavivírus, 596, 598-599
viral, 653q, 654
vírus do sarampo, 558, 560
vírus Hendra, 565
vírus herpes simples, 509
vírus influenza, 573
vírus Nipah, 565

Encefalopatia espongiforme, 644-648

Encephalitozoon, 806-808, 807f

Enders, John, 3

Endocardite
Candida, 734t
Cardiobacterium hominis, 367-369
Coxiella burnetii, *428*
enterocócica, 246
Erysipelothrix rhusiopathiae, 259
estafilocócica, 219, 220
Lactobacillus, 389
Pseudomonas aeruginosa, *333*

Endocitose, na replicação viral, 48

Endoftalmite, *Bacillus cereus*, 253

Endolimax nana, 795, 798

Endometrite, *Streptococcus agalactiae*, 234

Endopeptidases de zinco
de *Clostridium botulinum*, 378
de *Clostridium tetani*, 376

Endósporos, 21-22, 21f

Endotoxina(s). *See* Lipopolissacarídeo (endotoxina, LPS)

Energia, no metabolismo bacteriano, 23-26, 24f-26f

Enfuvirtida, 469

Engenharia genética, de bactérias, 36-38, 37t, 38f

Ensaio de aglutinação de látex, 174

Ensaio de captura hibrida, 167

Ensaio de imunofluorescência, para *Borrelia*, 407

Ensaio de inibição da hemaglutinação, 174
na detecção viral, 480, 483, 484f

Ensaio de neutralização, 174, 483, 484f

Ensaio de suscetibilidade a fármacos por observação microscópica, 286

Ensaio imunoabsorvente de aglutinação, para *Toxoplasma gondii*, 816

Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima, 171, 173f
    para *Chlamydia trachomatis*, 435
    para *Toxoplasma gondii*, 816
    para vírus, 483

Ensaios de liberação de interferon, para micobactéria, 285

Entamoeba coli, 795, 798

Entamoeba dispar, 795-797

Entamoeba gingivalis, 795

Entamoeba hartmanni, 795, 798

Entamoeba histolytica, 795-798
    ciclo de vida, 796f
    diagnóstico laboratorial da, 797, 797f
    doenças causadas por, 796-798
    epidemiologia da, 796
    estrutura da, 795, 796f, 796t
    fisiologia da, 795, 796f
    mecanismos patogênicos da, 795-796

Entamoeba moshkovskii, 795-797

Entamoeba polecki, 795, 798

Enterite necrotizante, *Clostridium perfringens*, 372, 375

Enterobacter, 312

Enterobacteriaceae
    ações evasivas de, 301
    classificação de, 300
    diagnóstico laboratorial de, 312
    doenças causadas por
        de importância médica, 299, 300q, 300f
        tratamento de, 312-313
    estrutura antigênica de, 299, 300f
    estrutura de, 299-301, 300f
    fisiologia de, 299-301, 300f
    mecanismos patogênicos de, 301, 301q
    membranas externas de, 15
    resistência a fármacos em, 301,

Enterobius vermicularis, 827-829
    ciclo de vida do, 828f
    diagnóstico laboratorial do, 828, 828f
    doenças causadas por, 827-828
    epidemiologia do, 827
    estrutura do, 827, 828f

fisiologia do, 827, 828f
tratamento do, 828-829

Enterococcus casseliflavus, 245, 243q, 245

Enterococcus faecalis, 36, 37f, 245, 243q, 243f, 246

Enterococcus faecium, 245, 243q, 246

Enterococcus gallinarum, 245, 243q, 245

Enterococos, 243, 243q, 243f, 244t, 246, 245q

Enterocolite
Cryptosporidium, 804
estafilocócica, 214, 217
Yersinia enterocolitica, 311

Enterocytozoon, 806-808

Enterotoxina acessória da cólera, 316-317

Enterotoxinas
de *Bacillus cereus*, 252-253, 252q, 252t
de *Clostridium difficile*, 380-381
de *Clostridium perfringens*, 372
de estafilococos, 214
de *Vibrio*, 314-317, 316t

Enterovírus, 539-546
diagnóstico laboratorial do, 545
doenças causadas por, 542-545, 543f, 543t, 544f
epidemiologia do, 541-542, 541q, 541f
mecanismos patogênicos do, 539-541, 541q, 541f
resposta imunológica ao, 541
sorotipos de, 538
vacinas para, 545

Entomoftorales, 744-745, 744f

Entomoftoromicose (zigomicose), 709-711, 710f

Envelopes, de vírions, 41, 43, 46, 46f

Envenenamento
aranha, 870-871
escorpião, 870, 871-872
Hymenoptera, 882

Envenenamento por cana fungada, 762t, 765

Envenenamento por Kodua, 762t, 765

Enxerto *versus* resposta do hospedeiro, 137

Enzimas citotóxicas, de bactérias anaeróbicas, 393

Enzimas de restrição, na engenharia genética, 36, 37t

Eosinofilia, na filariose, 838, 838f

Eosinófilos, 88f, 89t, 90, 134, 136

Epidemia(s), de infecções virais, 466-467

Epidermophyton, 697, 698t-701t, 701, 699f. *See also* *Veja também* Dermatofitoses.

Epiglotite
    coleta de amostra na, 189t, 192
    Haemophilus influenzae, 342

Epimastigotas, de *Trypanosoma brucei*, 823

Epítopos, 97

Epítopos conformacionais, 97

Epítopos lineares, 97

Equinocandinas, 682t, 685f, 686t, 687, 687f
    para candidíase, 736
    resistência às, 692

Equivalente à bursa, 87

Erisipelas, 229, 229f

Erisipeloide, 259

Eritema infeccioso, 533-536, 535q, 536f

Eritema migratório, na doença de Lyme, 406, 406f

Eritrócitos, 88f

Eritromicina, 206
    para bartonelose, 367
    para difteria, 265
    para infecções por *Bordetella*, 351
    para infecções por *Campylobacter*, 324
    para infecções por *Haemophilus influenzae*, 344
    para infecções por *Mycoplasma*, 415
    para infecções por *Ureaplasma*, 415

Erliquiose granulocítica, 425

Erliquiose monocítica humana, 424

Erupção avermelhada (*slapped-cheak*), nas infecções por parvovírus B19, 535, 536f

Erupção do rastejamento, 833-834

Erupção maculopapular
    na rubéola, 601, 602f
    no sarampo, 558, 559, 559f

Erupção, nas infecções virais, 652, 652t

Erysipelothrix, 255, 256q

Erysipelothrix rhusiopathiae, 256q, 258-260, 258q, 258f

Escalpo, infecções por tíneas no, 697, 698t, 701-702, 700f

Escara, nas infecções por *Rickettsia*, 420t, 421

Escherichia coli, 301-305, 302q
- cromossomo de, 9
- diagnóstico laboratorial da, 312
- divisão celular de, 20f
- doenças causadas por, 303-305, 303t
- enteroagregativas (EAEC)., 302t, 303t, 304
- entero-hemorrágicas (EHEC), 302t, 303t, 304-305
- enteroinvasivas (EIEC), 302t, 303t, 305
- enteropatogênicas (EPEC), 302t, 303t, 304
- enterotóxicas (ETEC), 302t, 303-304, 303t
- epidemiologia da, 302, 303f
- gene da, 28f, 38, 38f
- mecanismos patogênicos da, 301, 302t
- peptideoglicano de, 15f
- resistência a fármacos e, 313
- toxinas de, 302t, 303t

Escherichia coli enteroagregativa (EAEC), 302t, 303t, 304

Escherichia coli entero-hemorrágica (EHEC), 302t, 303t, 304-305

Escherichia coli enteroinvasiva (EIEC), 302t, 303t, 305

Escherichia coli enteropatogênica (EPEC), 302t, 303t, 304

Escherichia coli enterotóxica (ETEC), 302t, 303-304, 303t

Escólex, de cestoides, 855. *See also cestoides específicos*.

Escorpiões, 871-872, 872f

Esferoblastos, 16

Esférulas
- de *Coccidioides immitis*, 719, 719f, 720f
- de *Emmonsia*, 751, 752-753, 752f
- de fungos, 753t

Esfingomielinase C, 213

Esfregaço de Papanicolau, para câncer cervical, 490, 490f

Esfregaço de Tzanck, 509

Esôfago
- candidíase do, 734, 734t
- infecções por citomegalovírus do, 521
- microbiota do, 74-75, 75q

Espaço periplásmico, 14

Espargano, de *Dyphillobothrium latum*, 858

Esparganose, 859

Espasmógenos, 137

Espirais magnéticas, no microscópio eletrônico, 155

Espiramicina
    para criptosporidiose, 804
    para doenças parasitárias, 791
    para toxoplasmose, 817

Espiroquetas
    detecção de, 195t
    espécies importantes de, 397, 398q, 398t

Esplenomegalia, nas infecções pelo vírus de Epstein-Barr, 516

Esporângio, 60
    de *Prototheca*, 755, 756f
    de *Rhinosporidium seeberi*, 758, 759f

Esporângio, de *Chlorella*, 754

Esporangióforos, 60, 744, 744f

Esporangiosporos, 60

Esporo assexuado, fúngico, 60

Esporocistos, de *Cyclospora*, 805, 807f

Esporogônias, em microsporídios, 806

Esporos
    de *Bacillus anthracis*, 250-252
    de bactérias, 21-22, 21f
    de *Clostridium perfringens*, 371-372
    de fungos, 60
    de microsporídios, 808, 807f

Esporos sexuais, fúngicos, 60

Esporotricose linfocutânea, 704-705, 706f, 707f

Esporozoários, 67t, 68, 802-806

Esporozoítos
    de *Cyclospora*, 805, 805f
    de *Plasmodium*, 809, 812, 812f

Esporulação, 31

Esquistossomíase, 850-853

Esquistossomos, 850-851, 851f. *See also Schistosoma.*

Esquizogonia

em esporozoários, 802
em *Plasmodium*, 809

Esquizontes em roseta, no *Plasmodium malariae*, 812

Estado antiviral, 131, 131f

Estado dormente, da bactéria, 21-22, 21f

Estado lisogênico, 33-34

Estado vegetativo, de bactérias, 21-22, 21f

Estafilococos, 209-223
anticorpos para, 222
coagulase-negativos, 209, 211q, 212q, 215q
cultura de, 221, 221f
defesas dos, 212
doenças causadas por, *See* Doenças estafilocócicas.
dose infecciosa de, 223
enzimas dos, 210, 213t, 214
epidemiologia dos, 214-215
espécies importantes de, 209, 210q
estrutura dos, 210-212, 210f
fisiologia dos, 210-212, 210q-212q, 210f
toxinas dos, 213-214

Estafiloquinase, 214

Estaquiobotriotoxicose, 762t, 764-765

Esterilização pelo gás plasmático, 77, 78q

Esterilização
definição de, 78q
mecanismos de ação de, 79-81
métodos de, 77, 78t

Esterilizantes físicos, 77, 78q

Esterilizantes químicos, 77, 78q

Esteróis, de *Mycoplasma*, 412

Estibogluconato de sódio, 772, 822

Estômago, flora microbiana do, 75, 75q

Estreptococos, 224-241
beta-hemolíticos, 235. *See also* *Streptococcus agalactiae.*
classificação de Lancefield dos, 224
classificação dos, 224
doenças causadas por, 225q
espécies importantes de, 224, 225q
grupo A. *See* *Streptococcus pyogenes.*
grupo B. *See* *Streptococcus agalactiae.*
grupo viridans, 225q, 235-236, 236f, 237t

Estreptograminas, 206t, 207

Estreptolisinas, 227-228

Estreptomicina, 205, 206t

Estreptoquinases, 228

Estróbilo, de cestoides, 855. *See also cestoides específicos.*

Estruturas em hélice dos vírions, 44-45, 45f

Etambutol, 204
    para infecções por *Mycobacterium avium*, 287
    para tuberculose, 287

Etanol, para antissepsia, 81

Etionamida, 204

Euascomicetos, 61, 61t

Eubacterium, 385q, 386t

Eucariotos, 4, 9, 10f, 11t

Euglenozoa, 66

Eutrombicula, 874

Exame direto a fresco
    para microscopia, 156, 157t
    para parasitos, 780

Exame do fluido cerebrospinal
    coleta de amostras para, 189t, 191
    nas infecções por enterovírus, 545

Exantema(s), viral, 652, 652t

Exantema súbito, 522-523, 523q, 523f

Exoenzimas S e T, de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Exophiala, 706-708, 711

Exotoxina(s), 182-183, 183f, 184t, 185f, 227-228

Exotoxina A, de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Exotoxinas piogênicas estreptocócicas, 227

Expansão clonal, de imunoglobulinas, 103

Exposição, a parasitos, 771, 772t

Exserohilum, 748

Exudatos, coleta de amostras do, 190t

F

Fagocitose, 88, 93, 124-125, 125q, 125f
células para, 89t, 93, 94
de *Mycobacterium tuberculosis*, 276-277
de *Streptococcus pneumoniae*, 238
deficiências da, 141, 142f
inibição da, 186, 186t, 187f, 393
nas infecções virais, 130
resistência da *Yersinia* à, 309-310

Fagolisossomos, efeitos da *Legionella* nos, 361

Faixa de hospedeiros, dos vírus, 48, 55, 148

Famciclovir, 471-473
para hepatite B, 638
para infecções pelo vírus herpes simples, 510
para varicela, 513

Faringe
coleta de amostras da, 189t, 191
infecções virais da, 649-650, 651t
microbiota normal da, 74

Faringite
adenovírus, 499-500
Arcanobacterium, 266
Chlamydophila pneumoniae, 436
Mycoplasma pneumoniae, 413
na difteria, 263-264, 263f
Streptococcus pyogenes, 228, 230
virais, 649-651, 651t
vírus Epstein-Barr, 516
vírus herpes simples, 507

Fasciite necrotizante
Pasteurella, 345
Streptococcus pyogenes, 229, 229f

Fasciola. *See* *Trematódeos.*

Fasciola hepatica, 846-847, 847f

Fasciolopsis buski, 845-846, 846f, 847f

Fascite, *Clostridium perfringens*, 373

Fase estacionária, do crescimento bacteriano, 31, 32f

Fase exponencial, do crescimento bacteriano, 31, 32f

Fase lag, do crescimento bacteriano, 31, 32f

Fase log, do crescimento bacteriano, 31, 32f

Fator cordão, de *Nocardia*, 268, 271

Fator de coagulação, de estafilococos, 212

Fator de alongamento 2, de *Corynbacterium diphtheriae*, 262

Fator de ativação de macrófagos, 118, 130

Fator de crescimento epidérmico ligante de heparina, 262

Fator de crescimento transformante-β, na resposta das imunoglobulinas, 103, 103f

Fator de necrose tumoral-α, 123
    na gonorreia, 292
    na tuberculose, 277

Fator de reação à coagulase, 214

Fator do edema e toxina do edema, de *Bacillus anthracis*, 248, 249

Fator F de fertilidade, na troca de genes, 33

Fator letal e toxina letal, de *Bacillus anthracis*, 248-249

Fator Sigma, na expressão gênica, 27

Fator V, de *Haemophilus*, 338

Fator X, de *Haemophilus*, 338

Fatores de crescimento, sequestro de, por Enterobacteriaceae, 301

Fatores de virulência. *Veja também organismos específicos*, mecanismos patogênicos de.
    cápsula como, 16
    de bactérias, 179, 179q
    de vírus, 457
    fímbrias como, 16

Fatores genéticos, na classificação bacteriana, 10

Febre
    citocinas que promovem a, 125-126, 126q
    como defesa, 121
    na infecção por HIV, 623

Febre amarela, 599-600, 602q

Febre da dengue hemorrágica, 599

Febre da mordida de rato, 369-370, 369f

Febre da mordida do carrapato, 875

Febre da picada de carrapato africano, 875

Febre das mutucas-de-veado (tularemia), 353-357, 354q, 355f-356f

Febre das trincheiras, 366-367, 367q

Febre de cinco dias (trincheiras), 366-367, 367q

Febre de Haverhill, 369-370, 369f

Febre de Malta (brucelose), 357-359, 357q

Febre de Pontiac, 363, 363t

Febre do caramujo (esquistossomíase), 850

Febre do carrapato do Colorado, 589-590, 590f

Febre do carrapato
    do Colorado, 589-590, 590f
    Francisella tularensis, 353-357, 354q, 355f-356f

Febre do coelho (tularemia), 353-357, 354q, 355f-356f

Febre do papagaio, 430q, 431t, 437-438, 438f

Febre Dum-dum (leishmaníase visceral), 820-822, 821t

Febre entérica, *Salmonella*, 307

Febre escarlate, *Streptococcus pyogenes*, 228

Febre faringoconjuntival, 499-500

Febre glandular (tularemia), 353-357, 354q, 355f-356f

Febre hemoglobinúrica, 813

Febre hemorrágica, 652
    arenavírus, 608-610
    Bunyaviridae, 608
    dengue, 599
    vírus Ebola, 580-581, 580f
    vírus Marburg, 580-581

Febre maculosa das Montanhas Rochosas, 418-421

Febre ondulante (brucelose), 357-359, 357q

Febre Oroya, 366-367, 367q

Febre paratifoide, 307

Febre Q, 427-429

Febre recorrente, 403
    características clínicas da, 406-407
    diagnóstico laboratorial da, 407
    epidemiologia da, 405, 405f
    patogênese da, 404
    tratamento da, 408

Febre recorrente endêmica, 403, 405-407

Febre recorrente epidêmica (decorrente de piolho), 403

Febre reumática, 230, 232

Febre tifoide, 305-307, 306q

Fenóis, para doenças parasitárias, 793

Fenômeno satélite, na cultura de *Haemophilus influenzae*, 343, 343f

Feo-hifomicose, 705t, 711-712, 710f, 747-748, 748f, 749f

Ferimento(s)
- coleta de amostras de, 190t, 192
- infecções de
  - *Aeromonas*, 319-320
  - estafilocócicos, 218-219
  - infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, 332
  - *Streptococcus agalactiae*, 234
  - *Vibrio vulnificus*, 318

Fermentação, 25, 25f

Fermentação lática, por Enterobacteriaceae, 299

Ferro, para o crescimento bacteriano, 23

Fezes
- coleta de amostras das, 189t, 191t, 193
- exame das, 780-781

Fibrose mediastínica, na histoplasmose, 723

Fígado
- amebíase do, 797
- ascaridíase do, 830
- coleta de amostras do, 779t, 781
- disfunção do, na leptospirose, 409, 410
- infecções virais do, 652-653.*Veja também agentes específicos, p. ex.*, *See also* Vírus da hepatite A.
- parasitos que afetam o, 885t
- toxicidade da aflatoxina para o, 745-762

Filaríase
- bancroftiana, 837-839, 837f-839f
- malaiana, 837-839

Filariose de Bancroft, 837-839, 837f-839f

Filmes de sangue, 782

Filovírus, 580-581, 580f

Filtração, para esterilização, 77

Fímbria de aderência agregativa, de *Escherichia coli*, 304

Fímbrias (pili), 16, 181
- de *Bordetella*, 347
- de Enterobacteriaceae, 301

de *Escherichia coli*, 304
de *Neisseria*, 289
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331
de *Vibrio*, 314

Finegoldia, 385q

Fissão binária, em *Giardia lamblia*, 798

Fita contínua, na replicação do DNA, 29-30, 31f

Flagelados, 66, 798-801
Dientamoeba fragilis, 800
Giardia lamblia, 798-800, 799f
Trichomonas vaginalis, 800-801, 801f

Flagelina, 16

Flagelos, 16
de Enterobacteriaceae, 300
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331
de *Trypanosoma brucei*, 823
de *Vibrio*, 314

Flavivírus, 592-600
diagnóstico laboratorial do, 599-600
doenças causadas por, 597f, 598-600
epidemiologia do, 597-598, 597q, 598f
estrutura do, 594-595, 595f
genoma do, 594-595, 595f
mecanismos patogênicos do, 595-596, 596q
replicação do, 594-595, 595f
resposta imunológica ao, 596-597

Fleming, Alexander, 199

Flora microbiana
comensal. *See* Comensais.
da cabeça, 74
da pele, 76, 76q
do sistema genitourinário, 75-76, 76q
do trato gastrointestinal, 74-75, 75q
do trato respiratório, 74, 74q

Flucitosina, 685f, 686t
para criptococose, 739
para cromoblastomicose, 708
para infecções fúngicas, 687-688
resistência à, 692

Fluconazol, 685, 685f, 686t
para blastomicose, 718
para candidíase, 736
para coccidiomicose, 721
para criptococose, 739
para histoplasmose, 724
para infecções por *Blastoschizomyces capitatus*, 740
para leishmaníase, 822

resistência ao, 690-692

Fluido abdominal, coleta de amostra de, 191

Fluido do lavado broncoalveolar, *Pneumocystis jirovecii* no, 750

Fluido pericárdico, coleta de amostras do, 191

Fluido pleural, coleta de amostras do, 191

Fluido sinovial, coleta de amostras do, 191

Fluoroquinolonas
para infecções por *Coxiella burnetii*, 428
para infecções por *Legionella*, 365
para infecções por *Mycoplasma*, 415
para infecções por *Ricksettsia rickettsii*, 421
para tularemia, 357

Fluorouracil, 474

Foliculite, 218, 332

Fômites, 465

Fonsecaea, 706, 708

Formação de pseudomembrana, na difteria, 263-264, 264f

Formação de septo, na divisão celular, 20, 20f

Formas de anel, do *Plasmodium falciparum*, 812, 812f

Formas de bandas, dos neutrófilos, 90, 124

Formas L, de *Mycoplasma*, 412

Formigas do fogo, 882

Formigas, ferroada, 882

Forquilhas crescentes, na replicação do DNA, 29, 31f

Foscarnet, 471, 474-475, 475f, 522

Fosfato de polirribitol, de *Haemophilus*, 339

Fosfocolina, *Streptococcus pneumoniae*, 238, 238

Fosfolipase(s)
de *Helicobacter pylori*, 326
dos parasitos, 773

Fosfolipase C
de *Bacillus cereus*, 252
de *Listeria monocytogenes*, 255
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Fosfoproteína polimerase, de paramixovírus, 555, 556t

Fosforilação, nível de substrato, 24-25

Fotofobia, no sarampo, 559

Fração 1, de *Yersinia pestis*, 309-310

Fragmentos FAB, das imunoglobulinas, 99, 100f

Framboesia, 397, 402, 402f

Francisella philomiragia, 353, 354q

Francisella tularensis, 353-357, 354q
- diagnóstico laboratorial da, 356
- doenças causadas por
  - características clínicas das, 355, 356f
  - tratamento das, 357
- epidemiologia da, 353-355
- estrutura da, 353, 355f
- fisiologia da, 353, 355f
- mecanismos patogênicos da, 353, 355f
- resposta imunológica à, 353
- subespécies da, 353, 354q

Fribrinolisina, estafilocócica, 214

Fumagilina, para microsporidiose, 808

Fumonisinas, 762t, 763

Fungemia
- *Candida*, 735
- definição de, 188
- *Malassezia*, 740
- *Paracoccidioides brasiliensis*, 725
- *Trichosporon*, 741

Fungo dematiáceo, espécies oportunísticas de, 730t

Fungos, 58-64.*Veja também fungos e doenças específicas*.
- classificação dos, 58
- como patógenos oportunistas, 661, 663t, 668-669
- como patógenos primários, 661, 662t-663t, 664-668
- definição de, 4
- dimórficos, 59, 713-727
  - características dos, 713, 716f
  - infecções causadas por, 713, 715t
- endógenos, 766
- estrutura dos, 58, 59f
- exógenos, 766
- fisiologia dos, 68
- importância dos, 58, 59t, 66t, 67t
- infecções com. *See* Infecções fúngicas.
- metabolismos dos, 60
- replicação dos, 58-61, 59f, 60f, 62t
- resistência a fármacos em, 689-692, 691t
- resposta imunológica aos, 122t, 134

taxonomia dos, 58-61, 59f, 60f, 61t
toxinas dos, 760-765, 761f, 762t

Furazolidona, para giardíase, 800

Furoato de diloxanida, para amebíase, 798

Furúnculos, 218

Fusão célula-célula, em paramyxovírus, 555

Fusarenon-X, 764-765

Fusarium, 708, 746, 746f, 762t, 764-765

Fusobacterium, 392q
doenças causadas por, 393-394
espécies importantes de, 392q, 392t
fisiologia do, 391, 393f

Fusobacterium necrophorum, 392q

Fusobacterium nucleatum, 392q

G

Gajdusek, Carlton, 644

GALT (tecido linfoide associado ao intestino), 87

Gametócitos, do *Plasmodium*, 809

Gametogonia, em esporozoa, 802

Gammaherpesvirinae, 503t, 523

Ganciclovir, 473, 522

Gânglios, vírus varicela-zóster latente nos, 512, 513, 513f

Gangrena
- *Clostridium perfringens*, 373
- estreptocócica, 229, 229f

Gás formaldeído, para esterilização, 77, 78q, 80

Gases de vapor esterilizantes, 77, 78q

Gastrite, *Helicobacter pylori*, 326-327

Gastrodiscoides hominis, 845

Gastroenterite
- adenovírus, 500
- *Bacillus cereus*, 252-253, 252q, 252t
- bactérias anaeróbicas, 394-395
- *Campylobacter*, 323-324
- *Clostridium perfringens*, 374
- *Escherichia coli*, 303-305, 303t
- *Helicobacter*, 327
- norovírus, 551-553, 553q, 554f
- rotavírus, 588-589, 588q, 589q
- *Salmonella*, 307
- viral, 651-652, 651q

Gastrófilo, 879

Gatifloxacina, 207

Gene(s)
- bacteriano(s), 31-38
  - mutação do(s), 32
  - na engenharia genética, 36-38, 37t, 38f
  - no metabolismo, 26-29, 28f-30f
  - recombinação do(s), 32, 36, 37f
  - reparo dos, 32
  - transferência de, 34-35, 35f
  - troca de, 33-34, 33f, 34f
- imunoglobulinas, 101-103, 102f

mutações de. *See* Mutações.

Gene associado a citotoxinas, de *Helicobacter pylori*, 326

Gene *mec*A, na resistência a fármacos, 210

Gene *sec*A, de micobactérias, 285-286

Genes virais tardios, na replicação viral, 50, 50f

Gengivostomatite, vírus herpes simples, 508f

Genoma "duplo:duplo", de reoviridae, 584

Genomas
circulares de duplo sentido, 53
virais, 41, 43, 43t
como alvos antivirais, 470-471, 470f
na síntese macromolecular, 50, 49f, 50f

Gentamicina, 205, 206t
para infecções por *Bacillus cereus*, 253
para *Listeria monocytogenes*, 258
para tularemia, 357

Giardia lamblia, 798-800, 799f

Glicilciclinas, 206t, 205

Glicólise, na via de Embden-Meyerhof-Parnas, 24-25, 24f-25f

Glicopeptídeos, 203

Glicoproteínas
de alfavírus, 592
de envelope de vírion, 46, 46f
de parasitos, 772
de retrovírus, 613

Glicose, metabolismo da, 24-26, 24f-26f

Glomerulonefrite, em infecções por *Streptococcus pyogenes*, 231

Glossinia, 878-879, 878f

Glutaraldeído, para esterilização, 77, 78q, 80

Gonococcemia, 294

Gonorreia
características clínicas da, 293, 293q
epidemiologia da, 292-293

Gordonia, 269q, 274

Granulações de Maurer, do *Plasmodium falciparum*, 812

Granulicatella, 246

Granuloma(s), 109, 452t
na adiaspiromicose, 752
na lacaziose, 755
na larva migrans, 830-831
na resposta de hipersensibilidade, 139, 139f, 139t, 140f
na tuberculose, 278
nas infecções parasitárias, 136
nas infecções por oxíuros, 827-828

Granuloma inguinal, 311, 311f

Granulomatose infantisséptica, 257

Grânulos, 124
neutrófilo, 90
no micetoma eumicótico, 708-709, 709f

Grânulos azurofílicos, 90

Grânulos específicos, 90

Grânulos metacrômicos, de *Corynebacterium*, 261

Grânulos sulfúricos, na actinomicose, 386, 386f, 387

Grânulos, no micetoma eumicótico, 708, 709, 709f

Granzimas, 109, 120

Gravidez
infecções por parvovírus B19 na, 536
infecções por *Streptococcus agalactiae* na, 234, 235
toxoplasmose na, 816, 817

Gripe espanhola, 567

Griseofulvina, 688

Grupo relacionado ao vírus da encefalite da Califórnia, 605, 607, 606t

Grupo *Streptococcus anginosus*, 235, 236f, 237t

Guanidina, 469

H

HAART (terapia antirretroviral altamente ativa), 473-474, 622q, 625

Haemophilus, 338-344, 340q
- diagnóstico laboratorial do, 342-343, 343f
- doenças causadas por
  - características clínicas das, 340t, 340-342, 341f
  - tratamento das infecções por, 343-344
- epidemiologia do, 339-340
- espécies importantes de, 339q
- estrutura do, 338, 341f
- fisiologia do, 338
- mecanismos patogênicos do, 338-339
- resposta imunológica ao, 339

Haemophilus aegyptius, 338, 339q
- diagnóstico laboratorial do, 343
- doenças causadas por, 340t, 342

Haemophilus ducreyi, 338, 339q
- diagnóstico laboratorial do, 342-343
- doenças causadas por, 340t, 342, 344
- epidemiologia do, 340

Haemophilus haemolyticus, 340t

Haemophilus influenzae, 339q
- diagnóstico laboratorial do, 343
- doenças causadas por, 340t, 340-344, 341f
- epidemiologia do, 339-340
- estrutura do, 338, 341f
- mecanismos patogênicos do, 338-339
- vacinas para, 340, 344

Haemophilus parahaemolyticus, 340t

Haemophilus parainfluenza, 338
- doenças causadas por, 340t
- epidemiologia do, 339-340
- mecanismos patogênicos do, 338

Halofantrina, 772-773, 813

Hantavírus, 605, 606t
- doenças causadas por, 608
- epidemiologia dos, 607-608

Haploidia, 26

Haplomicose (adiaspiromicose), 751-753, 752f, 753t

Haptenos, 97

Helicase, na replicação do DNA, 29

Helicobacter, 322q, 324-328, 325q
diagnóstico laboratorial do, 327
doenças causadas por, 325q, 326-328
epidemiologia do, 326
estrutura do, 325-326, 325f
fisiologia do, 325-326, 325f
mecanismos patogênicos do, 326
resposta imunológica ao, 326
toxinas do, 326

Helicobacter cinaedi, 322q, 325-327, 325t

Helicobacter fennelliae, 322q, 325-327, 325t

Helicobacter pylori, 322q, 324-327, 325t

Helmintos. *See also* Cestoides; *See also* Nematoides; *See also* Trematódeos (fascíolas).
agentes anti-helmínticos para, 788t-789t
distribuição dos, 70t-71t
fisiologia dos, 68-69, 71-72
importância dos, 67t
replicação dos, 71-72
transmissão dos, 70t-71t

Hemadsorção
na detecção viral, 480, 481f
no vírus influenza, 573

Hemaglutinação, no vírus influenza, 567, 573

Hemaglutinina-neuraminidase, dos paramixovírus, 555, 556t

Hemaglutininas
filamentosas, de *Bordetella*, 347
glicoproteínas das, 44, 46f

Hemiascomicetos, 61, 61t

Hemina, de *Haemophilus*, 338

Hemolisina Kanagawa, 317

Hemolisinas, 182
de *Bordetella*, 347-348
de *Vibrio*, 317

Henle, Friedrich, 3

Hepadnavírus, 632, 632q

Hepatite
Coxiella burnetii, 428
na aflatoxicose, 761-762
não A, não B, 629

Hepatite B e antígeno, 629, 639t

Hermafroditismo, em trematódeos, 845

Herpangina, 544, 544f

Herpervírus humano(s), 503t

Herpervírus humano 6, 522-523, 523q, 523f

Herpervírus humano 7, 522-523, 523q, 523f

Herpervírus humano 8, 523

Herpes genital, 505, 507-511

Herpes gladiatorum, 508

Herpesvírus. *See also* Herpesvírus humano(s); *vírus específicos*.
- características únicas dos, 503q
- estrutura dos, 502, 504f
- genomas dos, 502, 504f
- membros dos grupos de, 502
- replicação dos, 502-503

Herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi, 523, 623

Herpesvirus simiae, 524

Herpes-zóster, 512, 513, 513f

Heterophyes heterophyes, 845

Heterótrofos (organotrofos), 23

Hexacloreto de benzeno, para piolhos, 873

Hexacloreto de gamabenzeno, para piolhos, 880

Hexaclorofeno, para desinfecção, 81

Hexons, virais, 45

Hialuronidase, estafilocócica, 214

Hibridização de DNA, 10

Hibridização *in situ*, 165, 165f, 482

Hibridização *in situ* fluorescente, para estafilococos, 222

Hibridomas, 169

Hidrofobia, 576, 579

Hidropisia fetal, nas infecções por parvovírus B19, 536

Hidroxicloroquina, para infecções por *Coxiella burnetii*, 428

Hifa aérea, 58

Hifa septada, 58, 59f

Hifas, 58, 59f
de *Aspergillus*, 741, 742f
de *Candida*, 729, 730, 731f
de *Nocardia*, 268, 270f, 273
de *Pythium insidiosum*, 756, 757f
de Zygomycetes, 744, 744f

Hifas conocíticas, 58, 59f

Hifas vegetativas, 58

Hiperinfecção, *Strongyloides stercoralis*, 834, 835

Hiperqueratose, em verrugas, 491, 491f

Hipnozoítos, de *Plasmodium*, 809

Hipotensão, induzida por endotoxina, 184

Histiócitos, 93

Histoplasma capsulatum var. *duboisii*, 715t, 721, 722f, 723, 724

Histoplasma capsulatum, 714f, 715t, 721
ciclo de vida, 722f
morfologia do, 724

Histoplasmose, 715t, 721-725
diagnóstico laboratorial da, 717t, 723-724, 724t
disseminada, 721, 723
epidemiologia da, 722, 722f
síndromes clínicas da, 723, 722f
tratamento da, 724

HIV. *See* Vírus da Imunodeficiência Humana.

Hortaea werneckii, 695-696, 695f, 696f

Human Microbiome Project, 73-74

Hyalohyphomycetes, 745-747, 746f, 747f

Hymenolepis diminuta, 863-864, 864f

Hymenolepis nana, 862-863, 863f

Hymenoptera, 882

Icosaedros, 44-45, 45f
de adenovírus, 495, 496q, 496f
de flavivírus, 594-595, 595f
do herpesvírus, 502, 504f
do papilomavírus humano, 486, 487f
do picornavírus, 538, 539f, 540f
do vírus da hepatite A, 629, 630f

Icterícia, na hepatite A, 632

Idiótipos, das imunoglobulinas, 99

Idoxuridina, 474

Ilhas de patogenicidade, 28, 34, 180
de *Escherichia coli*, 304
de *Salmonella*, 306

Imidazóis, 682t

Imiquimod, 471, 475, 491

Imortalização, das células, vírus na, 461, 461f

Impetigo
bolhoso, 216, 217f
estafilocóccico, 218, 219f
Streptococcus pyogenes, 228-229

Imunidade de grupo, 144, 319

Imunização
adjuvantes para, 97, 145, 149
ativa, 145, 145f
natural, 144
passiva, 144-145, 145t
programas para, 150, 150q, 151f
tipos de, 144-150, 145f
vacinas para. *See* Vacinas e vacinação.

Imunodeficiência, 140-142, 140t., 141f, 142t
estrongiloidíase na, 834-835
infecções pelo vírus de Epstein-Barr, 517
infecções por adenovírus na, 500
infecções por citomegalovírus na, 520t, 521
infecções virais na, 656
sarampo na, 560
toxoplasmose na, 816
varicela na, 513

Imunoensaio enzimático, 170-171, 172f, 407

Imunoensaios

para anticorpos e antígenos solúveis, 171-174, 173f, 174q, 174f
para antígenos associados a células, 170-171, 172f, 173f

Imunógenos, 97, 98q

Imunógenos incompletos (haptenos), 97

Imunoglobulina(s)
estruturas da(s), 98-101, 98f, 99t, 100f
genes da(s), 101-103, 102f
na ativação do complemento, 105
no preparo de vacinas, 144-145, 145t
terapêuticas
para hepatite A, 632
para o vírus da hepatite B, 638
para o vírus da varicela-zóster, 513
para raiva, 580
para sarampo, 561
tipos de, 98-101, 98f, 99t, 100f

Imunoglobulina A, 98-101, 98f, 99t
deficiência da, 142
genética da, 101
na resposta bacteriana, 127
no desafio viral, 133
resposta da, 103, 103f

Imunoglobulina A secretória, 101

Imunoglobulina D, 98-100, 99t
genética da, 101
resposta da, 103

Imunoglobulina E, 98-99, 98f, 99t, 101
genética da, 101
na resposta bacteriana, 127-128
nas infecções parasitárias, 134
resposta da, 103, 103f

Imunoglobulina G, 98, 100-101, 98f, 99t
genética da, 101
na resposta bacteriana, 127-128
no desafio viral, 133
receptor para a, 109
resposta da, 103, 103f

Imunoglobulina M, 98-100, 99t
genética da, 101
na resposta bacteriana, 128
no desafio viral, 133
resposta da, 103, 103f, 104f

Imunomoduladores, para infecções virais, 475

Imunopatologia, para doenças parasitárias, 773t, 775, 774t

Inalação, de vírus, 457

Inchaços transitórios, na loíase, 839

Índice de refração, do microscópio, 155

Indinavir, 471, 475

Indutores, na expressão gênica, 29

Infecção lítica
bacteriana, 33
viral, 458-460

Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana
características clínicas da, 620-623, 621t, 622q
casos precoces de, 622
ciclosporidiose na, 805
controle da, 625-626
criptococose na, 738
criptosporidiose na, 804
demência relacionada à, 623
diagnóstico laboratorial da, 623, 623t
distribuição geográfica da, 619-620, 619f
duração da, 617f
epidemiologia da, 619-620, 619q, 619f, 620f
fatores de risco para a, 620
infecções oportunistas na, 621t, 623
infecções por *Mycobacterium avium* na, 283, 284f
infecções por poliomavírus na, 492, 493
malignidades na, 623
na bartonelose, 367
Penicillium marneffei na, 726
pneumocitose na, 748-750, 749f
toxoplasmose na, 815-816
tratamento da, 624

Infecções
controle de, 656-657
agentes para, 77-81
para o HIV, 625
definição de, 73
endógenas, 5
exógenas, 5
resposta imunológica na, 121-143

Infecções abdominais, 450t
Actinomyces, 387
anaeróbicas, 394
Candida, 734t
fúngicas, 767t

Infecções bronquiais
Aspergillus, 742-743
bacterianas, 449t
fúngicas, 767t

Infecções cardiovasculares. *See also Veja também* Endocardite; *See also* Pericardite.
bacterianas, 450t

fúngicas, 767t
por *Candida*, 735

Infecções congênitas
citomegalovírus, 520
leptospirose, 410
sífilis, 400
Toxoplasma gondii, 816
toxoplasmose, 817
virais, 656
vírus da rubéola, 600-602, 600f

Infecções de pele
anaeróbicas, 394, 394f
Ancylostoma braziliense, 833-834
bacterianas, 451t
Bartonella, 366-367-367q
Blastomyces dermatitidis, 714
Bordetella, 264
Borrelia, 405-406, 406f
Candida, 734, 734t, 735
coxsackievírus, 544
Cryptococcus neoformans, 827
Erysipelothrix rhusiopathiae, 259
esquistossomos, 854
estafilocócica, 219, 218f, 219f
fúngicas, 61, 62, 63t, 694-703, 695f, 696f, 768t
Histoplasma duboisii, 723
Lacazia loboi, 754, 755, 755f
Leishmania, 820, 821
lepra, 280, 281f, 281t, 282f
molusco contagioso, 530-531, 531f
Neisseria gonorrhoeae, 293-294, 294f
Nocardia, 269-272, 273f
Onchocerca volvulus, 841-842
orf, 530, 531f
papilomavírus humano, 486, 489, 490f
parasitárias, 886t
Prototheca, 755-756
Pseudomonas aeruginosa, 332
Pythium insidiosum, 756-758
Rickettsia, 420t, 421
sarna, 873
Treponema, 397, 399f, 400
varíola, 529, 530f
vírus herpes simples, 505-507
Vírus varicela-zóster, 511-513, 512f
zigomicose, 745

Infecções de queimaduras, *Pseudomonas aeruginosa*, 332

Infecções de sistemas de derivação, estafilocócicas, 221

Infecções de tecidos moles
anaeróbicas, 394, 394f
fúngicas, 768t

Infecções do trato respiratório. *See also* *Veja também* Pneumonia.
adenovírus, 499-500
adiospiromicose, 752
anaeróbicas, 393
Ascaris lumbricoides, 829
Aspergillus, 742-743
bacterianas, 449t
Blastomyces dermatitidis, 714, 718
Chlamydophila psittaci, 437-438, 438f
Coccidioides immitis, 720
coronavírus, 549-551
Corynebacterium diphtheriae, 263-264
Cryptococcus neoformans, 738
Eikenella corrodens, 298
Emmonsia, 752
equinococose, 860-862
fúngicas, 766t
Haemophilus influenzae, 342
hantavírus, 607-608
Histoplasma capsulatum, 723
metapneumovírus humano, 565
ortoreovírus, 587
Paracoccidioides brasiliensis, 725
Paragonimus westermani, 849-850
Penicillium marneffei, 726
Pseudomonas aeruginosa, 332
rinovírus, 546-548, 547q
virais, 649-651, 651t
vírus da rubéola, 600-602, 600f-602f
vírus influenza, 475, 567, 572-574, 573t, 574t
vírus parainfluenza, 561-562, 561q
vírus sincicial respiratório, 563-565, 564q, 565t
zigomicose das, 745

Infecções do trato urinário
bacterianas, 450t
Candida, 734t, 735
Escherichia coli, 305
estafilocócica, 221
poliomavírus, 493
Proteus mirabilis, 311-312
Pseudomonas aeruginosa, 333
Streptococcus agalactiae, 234

Infecções endógenas, 5

Infecções exógenas, 5

Infecções fúngicas
condições que predispõem para, 728, 729t
cutâneas, 62, 63t, 697-703
diagnóstico laboratorial das, 670-680, 671q
características de identificação do, 676, 677t-679t, 679
coleta de amostras para o, 670-671, 672t-673t
cultura no, 675-676
marcadores imunológicos no, 679t, 679-680
microscópico, 671, 674f-676f, 674t, 675, 677t-678t

versus reconhecimento clínico, 670, 671q
endêmicas, 63, 63t
epidemiologia das, 58, 59t
nosocomiais, epidemiologia das, 728, 730t
oportunistas, 63t, 63, 728-730
patogênese das, 661-669
patógenos oportunistas na, 661, 663t, 668-669
patógenos primários na, 661, 662t-663t, 664-668
reconhecimento clínico das, 670, 671q
sistêmicas, 713-727
subcutâneas, 62-63, 63t, 704-712
superficiais, 62, 63t, 694-697, 695f, 696f
tratamento das. *See* Agentes antifúngicos; *agentes específicos*.
visão geral das, 766, 766t-768t

Infecções inaparentes, 464

Infecções latentes, virais, 460

Infecções não líticas, virais, 460

Infecções nosocomiais
agentes envolvidos nas, 728, 730t
Candida, 733, 733f
enterococos, 245
micobacterianas, 284
virais, 467

Infecções oportunistas
Acinetobacter, 336
Aeromonas, 319-320
ameba de vida livre, 818-819
Aspergillus, 740-743, 741q, 742f, 743f
bacterianas, 179-180
Candida, 728-736
condições que predispõem para, 728, 729t
Cryptococcus neoformans, 737-739, 737f, 738f, 739t
Enterobacteriaceae, 299
feo-hifomicose, 747-748, 748f, 749f
fúngicas, 63t, 63, 728-774
Histoplasma capsulatum, 723
hyalohyphomycetes, 745-747, 746f, 747f
imunodeficiência, 142, 142t
Lactobacillus, 389
na infecção por HIV, 623
Pneumocystis jirovecii, 748-750, 749f
Propionibacterium, 388
Pseudomonas, 329
Rhodococcus, 272-274
zigomicose, 744-745, 744f

Infecções persistentes, virais, 460, 464

Infecções pleuropulmonares
bacterianas, 449t
fúngicas, 767t

Infecções polimicrobianas, enterococos nas, 246

Infecções por tíneas. *See* Dermatofitoses.

Infecções relacionadas a cateter
urinárias, 333
vasculares
Candida, 735
estafilocócica, 221

Infecções virais. *Veja também organismos específicos*.
artrópodes nas, 655, 655t. *See also Veja também* Artrópodes.
características clínicas das, 462-463, 462t
congênitas, 656
controle das, 467, 656-657
crônicas, 655-656
diagnóstico laboratorial das, 477-485
citologia em, 478-479, 479f
coleta de amostras para, 477, 478t
detecção de material genético nas, 482
detecção de proteínas nas, 481-482, 482q
isolamento, 479-481, 480q, 481f
métodos para, 477, 478q
microscopia eletrônica na, 479
testes sorológicos nas, 483, 484f
do sistema nervoso central, 653-654, 653q
dos olhos, 652, 653q
em órgãos, 652-653, 653q
em recém-nascidos, 656
epidemiologia das, 464-467, 465q, 465t
estágios das, 458f, 463, 464f
exantemas, 652, 652t
febre hemorrágica, 652
gravidade das, 457q, 464, 464f
hematológica, 654, 654q
na imunodeficiência, 656
oncogênicas. *See* Vírus oncogênicos.
orais, 649-651, 651t
patogênese das, 457-467
passos na, 457, 458f4587q,
respostas imunológicas nas, 462-463, 462t
resultados celulares nas, 458-461, 459q, 459t, 461f
tecidos-alvo nas, 458
perinatais, 656
período de incubação das, 463, 463t
relacionadas à transfusões, 655, 655q
relacionadas ao transplante, 655
resposta imunológica às, 122t, 129-134
sintomas semelhantes à gripe nas, 651
suscetibilidades para as, 463-464
teciduais, 652-653, 653q
transmitidas sexualmente, 654, 654q
trato gastrointestinal, 651-652, 651q
trato respiratório, 649-651, 651t
visão geral das, 649-657

Inflamação, aguda, 126-127

Inibidores da síntese de quitina, 683t

Inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo, 622q, 624

Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos, 622q, 624

Inibidores de polimerase não nucleosídeos, 474-475, 475f

Inibidores de proteases, 475, 622q, 624

Inoculação animal, para identificação parasitária, 784

Insecta, 50t, 876-882.*Veja também insetos específicos*.
- dípteros sugadores de sangue, 876-878, 878f
- insetos picantes, 882
- insetos, 881-882, 881f
- mosca dos cervos, 878
- moscas dos equinos, 878
- moscas que causam miíase, 882
- muscoides, 878-879, 878f
- piolhos sugadores. *See* Piolhos.
- pulgas. *See* Pulgas.
- transmissão de doença por, 366

Insetos, 881-882, 881f

Insônia familiar fatal, 644-647

Integrase
- de retrovírus, 612, 615
- inibidores da, 622q, 624

Interferência heteróloga
- na detecção viral, 481
- no vírus da rubéola, 600

Interferon(s), 85, 86t, 89q
- ação antiviral do, 471
- efeitos patogênicos do
  - na influenza, 570
  - na tuberculose, 277
- na resposta viral, 130-132, 130t, 131q, 131f, 132f
- para hepatite B, 638
- para infecções por papilomavírus humano, 491
- para infecções virais, 475
- produção de, 118
- recombinante, 131-132

Interleucina(s), 85, 86t, 89q, 94
- na resposta da imunoglobulina, 103, 103f
- na tuberculose, 277
- nas infecções por *Helicobacter pylori*, 326

Intestino
- coleta de amostras do, 778t-779t
- fascíolas no, 845-846, 847f
- parasitos que afetam o, 885t

protozoários do, 795-808

Intestino delgado, flora microbiana do, 75, 75q

Intimina, de *Escherichia coli*, 304

Intoxicação por grão fungado, 762t, 764

Invasão de bactérias, 181-182

Invasão fúngica por Ectotrix, 699t, 700

Invasão fúngica por Endotrix, 699t, 700, 700f

Invasão fúngica por fávica, 700, 700f

Iodamoeba bütschlii, 795, 798

Iodeto de potássio
para esporotricose, 705
para zigomicose, 711

Iodo povidona, 81

Iodo, como corante, 10

5-Iododeoxiuridina, 471

Iodóforos, para antissepsia, 79, 81, 81q

Iodoquinol
para amebíase, 797-798
para *Dientamoeba fragilis*, 800

Isatina-β-tiossemicarbazona, 469

Isoniazida, 204, 287

Isoprenoide (undecaprenol, bactocaprenol), 17, 17 f

Isopropanol, para antissepsia, 81

Isospora belli, 802-803, 802f, 803f

Isotipos, de imunoglobulinas, 99

Itraconazol, 686, 686t
para blastomicose, 718
para coccidioidomicose, 721
para criptococose, 739
para cromoblastomicose, 708
para esporotricose, 705
para histoplasmose, 724
para paracoccidioidomicose, 726
para *Penicillium marneffei*, 726
para *Pythium insidiosum*, 758
para zigomicose, 711
resistência ao, 690-692

Ivermectina, 792
para estrongiloidíase, 836
para infecções por *Mansonella*, 840
para loíase, 839
para oncocercíase, 842

Ixodes, 875

J

Jackets amarelos, 882

Jenner, Edward, 148-149, 530

K

Kalazar (leishmaniose visceral), 820-822, 821t

Kingella, 290q

Kingella kingae, 293q, 298

Klebsiella

Koch, Robert, 3

Kuru, 644-648

Kytococcus, 209

L

Lacazia loboi, 752t, 755, 755f

Lactobacillus, 384, 385q, 386t, 389

Lactococcus, 246

Lâminas, para exame de parasitos, 781

Lamivudina, 474, 638

Laringe
    flora microbiana da, 74, 74q
    papilomas da, 489

Laringite, viral, 650

Laringotraqueobronquite, 561-562, 561q, 650, 651t

Larva de plerocercoide, de *Dyphillobothrium latum*, 858

Larva filarioide
    de ancilostomídeos, 833
    de *Strongyloides stercoralis*, 834, 834f

Larva migrans, 830-831, 833-834

Larva migrans cutânea, 833-834

Larva migrans neural, 830-831

Larva migrans ocular, 830-831

Larva migrans visceral, 830-831

Larvas, 879

Larvas procercoides, de *Diphyllobothrium latum*, 858

Larvas rabiditiformes
    de ancilostomídeos, 833
    de *Strongyloides stercoralis*, 834, 834f

Latrodectus mactans (aranha viúva negra), 870-871, 870f

Lectina(s), 108, 124

Legionellaceae, 361-365, 362q
    diagnóstico laboratorial de, 364-365
    doenças causadas por, 363-364, 363t
        características clínicas das, 363-364, 363t
        tratamento das, 365
    epidemiologia da, 362-363
    espécies importantes de, 361, 362f
    estrutura de, 361, 362f

fisiologia de, 361, 362f
mecanismos patogênicos de, 361
resposta imunológica à, 361

Leishmania, 819-822
ciclo de vida de, 819, 820f
doenças causadas por, 819, 821t
características clínicas das, 821-822
diagnóstico laboratorial das, 822
epidemiologia das, 820-821
tratamento das, 822
epidemiologia de, 820-821
espécies importantes de, 819, 821t
estrutura da, 820, 820f
fisiologia de, 819-820, 820f

Leishmania aethiopica, 821

Leishmania braziliensis, 821-822

Leishmania donovani, 821

Leishmania infantum, 821

Leishmania tropica, 821

Leishmaníase
características clínicas da, 821-822
cutânea, 820, 821
dérmica pós-calazar, 822
diagnóstico laboratorial da, 822
epidemiologia da, 820-821
mucocutânea, 820, 821
parasitos que causam, 821t
tratamento da, 822
visceral, 820-822, 821t

Lentes, para microscópios, 155

Lentivírus, 611, 612t

Lepra, 280, 280q, 281f, 281t, 287

Lepra lepromatosa, 280, 281f, 281t, 282f, 287

Lepra tuberculoide, 280, 281f, 281t, 282f, 287

Leptosphaeria, 708

Leptospira, 408-410, 408q
diagnóstico laboratorial de, 410
doenças causadas por, 409-410
epidemiologia de, 409
estrutura de, 409, 409q
fisiologia de, 409, 409q
mecanismos patogênicos de, 409
resposta imunológica ao, 409

Lesões angioproliferativas, em infecções por *Bartonella*, 366

Lesões numulares, na dirofilariose, 842

Leucemia linfocítica aguda de células T em adultos, 626-627

Leucocidina, 213

Leucócitos. *Veja também células específicas*.
polimorfonucleares. *See* Neutrófilos.

Leucoencefalopatia multifocal progressiva, 493

Leuconostoc, 246

Leucoplaquia
Candida, 734
capilar, 516, 518

Leucotrienos, na inflamação, 127, 127t

Leveduras, 4, 58, 59f

Levofloxacina, 207

Liberação, na replicação viral, 55

Lincosamidas, espectro das, 206t

Lindano
para piolhos, 880
para sarna, 873

Linezolida, 205

Linfadenite
Pasteurella, 345
Toxoplasma gondii, 816

Linfadenopatia
na histoplasmose, 723
na infecção por HIV, 623
na rubéola, 600, 600f
na tripanossomíase, 823-824
nas infecções pelo vírus de Epstein-Barr, 516
nas infecções por *Bartonella*, 367
nas infecções por *Burkholderia*, 335
nas infecções por *Haemophilus ducreyi*, 341

Linfócitos. *See* Células B; Células T.

Linfocitose, nas infecções pelo vírus de Epstein-Barr, 514, 518

Linfoma de Hodgkin, nas infecções por vírus de Epstein-Barr, 518

Linfoma de tecido linfoide associado à mucosa, 327

Linfomas
de Burkitt, 518

efusão primária, 523
tecido linfoide associado à mucosa, 523

Linfotoxina, 118

Língua de morango, na febre escarlate, 228

Linhagens celulares imortalizadas, para cultura, 480

Linhagens celulares, para cultura, 480

Linhagens de células diploides, para cultura, 480

Linhagens de células tumorais, para cultura, 480

Linhas de pastia, na escarlatina, 228

Lipases, estafilocócicas, 214

Lipídeo(s), metabolismo do(s), 26

Lipídeo A
de Enterobacteriaceae, 299-301, 300f
de *Haemophilus*, 339
no lipopolissacarídeo, 19-20, 20f

Lipoarabinomanana, de micobactérias, 275

Lipo-oligossacarídeos, de *Neisseria*, 291-292

Lipopeptídeos, 204

Lipopolissacarídeos (endotoxina, LPS), 15, 123
ação dos, 183-184, 185f, 185t
de *Bordetella*, 348
de *Brucella*, 357-358
de Enterobacteriaceae, 299-301, 300f
de *Legionella*, 364
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331
de *Vibrio*, 314
estrutura dos, 19-20, 20f

Lipoproteínas, da parede celular, 16

Lisossomos, 124

Lisozimas, 13, 17, 17f

Listeria ivanovii, 255

Listeria monocytogenes, 255-258, 256q
diagnóstico laboratorial de, 257-258
doenças causadas por, 257-258, 275q
epidemiologia de, 256-257
estrutura de, 255, 256f
fisiologia de, 255, 256f
imunidade e, 256
mecanismos patogênicos de, 255-256

Listeriolisinas, 255-256

Litotróficos (autotróficos), 23

Loa loa, 839, 839f

Lobomicose, 752t, 754-755, 755f

Local de destruição de enterócitos, de *Escherichia coli*, 304

Loxosceles (aranha solitária marrom), 871, 871f

Loxoscelismo visceral, 871

LPS. *See* Lipopolissacarídeo (endotoxina, LPS)

Lumefantrina, para malária, 813

M

Macroconidia
de dermatófitos, 697, 699t, 699f
de *Fusarium*, 746, 746f
de *Histoplasma capsulatum*, 721, 722f

Macrófago(s), 88f, 89t, 93, 94, 93f, 108
ativação de, 108
esplênicos, 125
funções do(s), 126, 126q, 126f
na resposta de hipersensibilidade, 139
na resposta imunológica a fungos, 134
nas infecções parasitárias, 134
receptores para retrovírus nos, 614
tropismo do HIV por, 617

Macrófagos alveolares, 93, 94

Macrófagos da serosa, 94

Macrolídios
espectro dos, 206t, 206
mecanismo de ação dos, 206
nas infecções por *Bordetella*, 351
nas infecções por *Chlamydophila pneumoniae*, 437
nas infecções por *Helicobacter pylori*, 431
nas infecções por *Legionella*, 365

Macronúcleo, de *Balantidium coli*, 802

Máculas, nas infecções virais, 652

Madurella, 708

Malária
cerebral, 813
quartã (malarial), 812
terçã benigna (ovale), 811
terçã maligna (falciparum), 813
transmissão da, 809
vivax, 810

Malária cerebral, 813

Malária cotidiana, 813

Malária quartã (malarial), 812

Malária terçã
beniga (ovale), 811
maligna, 813

Malassezia, 739, 740, 740f

Malassezia furfur, 694-695, 695f, 696f, 739-740, 740f

Malassezia pachydermatis, 739-740

MALT (tecido linfoide associado à mucosa), 87, 88, 92f

Mansonella, 840

Mapeamento genético, de cromossomos, 36

Marcadores bioquímicos, para fungos, 679t, 679-680

Marcadores CD, 91t, 95

Marcadores de clusters de diferenciação (CD), 91t, 95

Marcadores imunológicos, para fungos, 679t, 679-680

Marimbondos, 882

Mascaramento, de antígenos, nos parasitos, 775

Mastócitos, 90t, 101, 134, 136

Material genético, diagnóstico molecular para, 164-168, 165f, 166f

Material sigmoidoscópico, coleta de, 781

Maxilípedes, das centopeias, 866

MBC (concentração bactericida mínima), 200q

Mebendazol
- para ascaridíase, 830
- para doenças parasitárias, 792
- para enterobíase, 828-829
- para equinococose, 862
- para estrongiloidíase, 836
- para infecções por ancilostomídeos, 833
- para tricuríase, 832
- para triquinose, 837

Medula óssea
- coleta de amostra da, 672t, 778t
- parasitos que afetam, 884t

Mefloquina, 772-773, 811, 813

Megacariócito, 88f

Meio agar, 161-162, 161t

Meio de carvão Regan-Lowe, para *Bordetella*, 331

Meio de cultura, 160-162, 161t

Meio de cultura diferencial, 161t, 162

Meio de cultura enriquecido, 161, 161t

Meio de cultura não seletivo, 160, 161t

Meio de cultura seletivo, 161t, 161-162

Meio de Lowenstein-Jensen, 162

Melarsoprol, 772, 824

Membrana citoplasmática, 11, 212

Membrana externa, 14-16, 13f

Membrana ondulante, de *Trypanosoma brucei*, 823

Membranas mucosas
- coleta de amostras das, 673t
- entrada bacteriana através das, 181, 182
- função de barreira das, 121, 122f
- infecções pelo vírus herpes simples das, 506-511, 507q, 508f

Meningite
- *Coccidioides immitis*, 721
- coxsackievírus, 544
- *Cryptococcus neoformans*, 738-739
- *Escherichia coli*, 305
- flavivírus, 599
- *Haemophilus influenza*, 341-342
- *Leptospira*, 409, 410
- *Listeria monocytogenes*, 257
- *Neisseria meningitidis*, 294
- poliovírus, 542
- *Streptococcus agalactiae*, 232-233, 234
- *Streptococcus pneumoniae*, 239
- viral, 654
- vírus da coriomeningite linfocítica, 609
- vírus herpes simples, 509

Meningococcemia, 295, 295f

Meningococos. *See* *Neisseria meningitidis.*

Meningoencefalite
- amebiana, 818, 819
- viral, 654
- vírus da cachumba, 563
- vírus da doença de Borna, 581

Merogonia, em microsporídios, 806

Merozoítos, de *Plasmodium*, 809

Metabolismo
- de bactérias, 23-31
  - classificação pelo, 10
  - crescimento e, 31, 31f, 32f
  - expressão gênica no, 26-29, 28f, 29f
  - replicação do DNA no, 29-30, 31f

requerimentos do, 23
suprimento de energia para o, 23-35, 24f-26f
de fungos, 60
de glicose, 24-26, 24f-26f
intermediário, 23

Metacercária, de *Fasciolopsis buski*, 845, 846f

Metagonimus yokogawai, 845

Metais pesados, para doenças parasitárias, 789

Metaloproteinases
de bactérias anaeróbicas, 393
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Metamonada, 66

Metapneumovírus humano, 565

Metapneumovírus, 565

Metazoa. *Veja* Animália.

Meticilina, resistência a *Staphylococcus aureus*, 209, 210, 209t, 214-215, 219

Metilisoxazóis, 468

Método da auramina-rodamina, 158t, 156

Método de Baermann, para *Strogyloides stercoralis*, 835

Método de Kinyoun, 158t, 156, 285, 286f

Método do fluorocromo de Truant, para micobactérias, 285, 286f

Métodos de dot blot
para bactérias, 165-166
para vírus, 482

Métodos de hibridização, 165-168, 165f, 166f

Métodos de imunodiagnóstico, para doenças parasitárias, 783

Metrifonato, 793

Metronidazol, 207-208
para amebíase, 797-798
para as infecções por *Clostridium difficile*, 381
para doenças parasitárias, 791
para giardíase, 800
para infecções anaeróbicas, 395
para o botulismo, 380
para o tétano, 377
para tricomoníase, 801

Micafungina, 687, 692

Micélio, 58-60, 59f

Micetoma
eumicótico, 705t, 708-709, 709f
Nocardia, 271

Micobactérias, 442t
classificação das, 276t
de crescimento lento, 276t, 283-284
de crescimento rápido, 276t, 283-284
diagnóstico laboratorial das, 284-286, 285q
estrutura das, 275-276, 277f
fisiologia das, 275-276, 277f
importância das, 275, 276t
não tuberculose, 275-276, 276t
parede celular das, 16-17

Miconazol, 819

Micose da virilha, 697, 698t, 701

Micoses
cutâneas, 697-703
endêmicas, 63, 63t
epidemiologia das, 58, 59t
oportunistas, 63t, 63
sistêmicas, 713-727
subcutâneas, 62-63, 63t, 704-712
superficiais, 62, 63t, 694-697

Micotoxinas e micotoxicoses, 760-765
doenças causadas por, 760, 761f, 762t
expressadas, 765
fontes de, 760-765

Microbiologia diagnóstica, 5, 160-163, 161t. *See also organismos específicos*, diagnóstico laboratorial de.
coleta e transporte de amostras para, 188-193
métodos de detecção, 193, 194t-197t
métodos sorológicos para, 169-175
microscopia na, 155-158, 156q, 157t-158t
molecular, 164-168, 165f, 166f, 167t
para doenças bacterianas, 188-190
para infecções fúngicas. *See* Infecções fúngicas, diagnóstico laboratorial de.
para infecções virais, 188-196
técnicas de cultura na, 160-163, 161t
testes de suscetibilidade antimicrobiana, 196

Micrococcus, Kocuria, 209

Microconidia
de dermatófitos, 697, 699t, 699f
de *Fusarium*, 746, 746f
de *Histoplasma capsulatum*, 721-722

Microfilariárias, 827
Brugia malayi, 837-839, 838f, 839f
Mansonella, 840
Onchocerca volvulus, 840-842, 841f

Wuchereria bancrofti, 837-839, 839f

Micromonas, 385q

Micronúcleo, de *Balantidium coli*, 802

Microscopia, 155-158, 158t
colorações álcool-ácidorresistentes, 158t, 156
colorações diferenciais para, 156, 157t
contraste de fase, 155-156
de campo claro (luz), 155
de campo escuro, 155
de fungos, 671, 674f-676f, 674t, 675, 677t-678t
eletrônica, 156
exame direto, 156, 157t
fluorescente, 156, 158t, 158, 158t
para estafilococos, 221
para identificação bacteriana, 194t-196t
para *Streptococcus pyogenes*, 231

Microscópios eletrônicos de transmissão, 155

Microscópios eletrônicos de varredura, 155

Microspora, fisiologia de, 68

Microsporídios, 67t, 806-808, 807f

Microsporum, 697, 698t, 701-702, 699t, 701t, 699f, 700f. *See also Veja também* Dermatofitoses.

Mielite, viral, 653q, 654

Mielopatia associada à HTLV-1, 626-627

Mieloperoxidase, 124

Miíase, 879

Miíase furuncular, 879

Miltefosina
para doenças parasitárias, 791
para leishmaníase, 822

Mimetismo, em parasitos, 775

Minociclina, 205-205

Miocardite
coxsackievírus, 544
na difteria, 263
na doença de Chagas, 825

Mionecrose, *Clostridium perfringens*, 373

Miosite, *Clostridium perfringens*, 373

Miracídio

de esquistossomos, 851
de *Faciolopsis buski*, 845, 846f

Miriápoda, 49t, 866

Mnemônico P-VIOLETA-POSITIVO, 10

Mobiluncus, 384, 385q, 385f, 386t, 389, 389f

Moléculas acessórias, de células T, 112

Moléculas carreadoras, para haptenos, 97

Moléculas de adesão, 87, 91t, 112

Moléculas de adesão celular. *See* Moléculas de adesão.

Moléculas de adesão intercelular, 112

Molusco contagioso, 530-531, 531f
epidemiologia do, 528
mecanismos patogênicos do, 527, 528q

Monobactam, 203, 203t

Monócitos, 88f, 89t, 93, 94, 108

Mononucleose
infecciosa, 514-519, 516f, 517f
nas infecções virais, 654, 654q

Moraxella, 330q, 334, 336, 336f

Morbillivirus, 555

Morfologia “roda de leme”, de *Paracoccidioides brasiliensis*, 724, 725f

Morganella, 312

Morte dependente de oxigênio
na fagocitose, 124, 125q
nas infecções parasitárias, 136

Morte independente de oxigênio, na fagocitose, 125

Mórula
de *Escherichia coli*, 424, 425f, 426
de *Prototheca*, 755, 756f

Mosca caseira, 878-879

Mosca-de-estábulo, 878-879

Moscas, 878
da areia, 877
da manga, 878
de estábulo, 878-879
mosca dos cervos, 878
mosca dos equinos, 878

muscoide, 878-879
na transmissão de doenças, *Mansonella*, 840
negras, 877-878, 878f
tsé-tsé, 878-879, 878f

Moscas-das-frutas, 839, 878

Moscas de água (copépodos), 842-843, 842f, 869-870

Moscas de areia, 877
doenças transmitidas pelas, 350, 819-821, 820f

Moscas varejeiras azuis, 879

Moscas varejeiras pretas, 879

Mosquitos, 877-878
epidemiologia dos, 877
fisiologia dos, 876-877
na transmissão de doenças, 877
arbovírus, 595-600, 597f, 598f
Brugia malayi, 837-839
Wuchereria bancrofti, 837-839

Mosquitos-pólvora, 877

Moxifloxacina, 207

Mucinase, de *Helicobacter pylori*, 326

Mucopeptídeos. *See* Peptidoglicano.

Mucor, 744-745

Mucorales, 744-745, 744f

Mudança de classes, de imunoglobulinas, 101

Mudanças fenotípicas, na *Candida*, 729, 730

Müller, Otto, 3

Mureína, na parede celular, 13, 13f-15f

Musca domestica, 878-879

Músculo(s)
parasitos que afetam, 886t
coleta de amostras do, 779t
Trichinella no, 836-837, 836f

Mutações
consequências das, 32
das imunoglobulinas, 101, 103
de genes virais, 55-56, 55f
de vírus, para vacinas, 148
tipos de, 32, 55

Mutações *"frameshift"*, 32

Mutações atenuadas, 55

Mutações condicionais, 32, 55

Mutações conservativas, 32

Mutações em placa, 55

Mutações letais, 55

Mutações missense, 32

Mutações nonsense, 32

Mutações nulas, 32

Mutações por deleção, 55

Mutações silenciosas, 32

Mutações somáticas, das imunoglobulinas, 101, 103

Mycobacterium abscessus, 276q, 276t, 284

Mycobacterium avium, 276q, 276t

Mycobacterium bovis, 284

Mycobacterium chelonae, 276q, 276t, 284

Mycobacterium fortuitum, 276q, 276t, 284

Mycobacterium genavense, 284

Mycobacterium haemophilum, 276q, 276t, 284

Mycobacterium intracellulare, 276q, 276t

Mycobacterium kansasii, 276q, 276t, 277f, 284, 287

Mycobacterium leprae, 276q, 276t, 280, 280q, 281f, 281t, 287

Mycobacterium marinum, 276q, 276t, 284

Mycobacterium scrofulaceum, 284

Mycobacterium simiae, 284

Mycobacterium tuberculosis, 276-279, 276q, 276t, 278q
    doenças causadas por, 279, 279f
    epidemiologia do, 278, 279f
    mecanismos patogênicos do, 276-278
    resposta imunológica ao, 277-278

Mycobacterium ulcerans, 284

Mycoplasma, 412-416, 413q, 448t
    detecção de, 195t

diagnóstico laboratorial do, 414-415, 414t
doenças causadas por
características clínicas por, 413-414
epidemiologia das infecções por, 412-413
tratamento das, 415
espécies importantes de, 412, 413t
estrutura do, 412
fisiologia do, 412
mecanismos patogênicos do, 412
membrana celular do, 17
resposta imunológica ao, 412

Mycoplasma genitalium, 412-415, 413t

Mycoplasma hominis, 412-415, 413t

Mycoplasma pneumoniae, 412-415

Myrothecium, micotoxinas de, 764-765

N

N-Acetilglicosamina, na síntese de peptídoglicano, 17, 17f, 18f

Naegleria, 818-819, 819f

Naegleria fowleri, 795

Nairovírus, 605, 606t

Não recobrimento, na replicação viral, 49

Nasofaringe, flora microbiana da, 74

Necator americanus, 832-833, 832f

Nefropatia endêmica balcânica, 762t, 764

Neisseria gonorrhaeae, 290q
- doenças causadas por
  - característica clínicas das, 293-294, 293q, 294f
  - diagnóstico laboratorial das, 295-296, 296f
  - tratamento das, 296-297
- epidemiologia da, 292-293
- estrutura da, 289-292, 291f
- fisiologia da, 289-292, 291f
- mecanismos patogênicos da, 292, 292t

Neisseria meningitidis, 289-293, 290q, 291q
- doenças causadas por, 293q
  - características clínicas das, 293q, 294-295, 295f
  - epidemiologia das, 293
  - diagnóstico laboratorial das, 295-296, 295f
  - vacinas para as, 297
- estrutura da, 289-292
- fisiologia da, 289-292
- resposta imunológica à, 292

Neisseria mucosa, 297

Neisseria sicca, 297

Neisseriaceae, 289, 290q

Nelfinavir, 475

Nematoides, 827-870
- ancilostomídeos, 832-834, 832f, 833f
- *Ascaris lumbricoides*, 829-830, 829f
- *Baylisascaris*, 830-831
- *Brugia malayi*, 837-839, 837f-839f
- de importância médica, 828t
- *Dirofilaria immitis*, 842
- distribuição dos, 70t-71t
- *Dracunculus medinensis*, 842-843, 842f

Enterobius vermicularis, 827-830, 828f
fisiologia dos, 67t
Loa loa, 839, 839f
Mansonella, 840, 840f
Onchocerca valvulus, 840-842, 840f, 841f
Strongyloides stercoralis, 834-836, 834f, 835f
Toxocara, 830-831
transmissão dos, 70t-71t
Trichinella spiralis, 836-837, 836f
Trichuris trichiura, 831-832, 832f
Wuchereria bancrofti, 837-839, 837f-839f

Neuralgia pós-herpética, 513

Neuraminidase
como alvo antiviral, 471
do vírus influenza, 567

Neurocisticercose, 856-857, 857f

Neuropatia, na difteria, 264

Neurosífilis, 401-402

Neutralização, de vírus, 132

Neutrófilos, 88, 88f, 89t, 90, 124-125, 125q, 125f, 136

Neutrófilos segmentados, 90

Nevirapina, 471, 475

Niclosamida
para *Dipylidium caninum*, 864
para doenças parasitárias, 793
para fasciolíase, 846
para *Hymenolepis diminuta*, 863-864
para *Hymenolepis nana*, 863
para infecções de *Diphyllobothrium latum*, 859
para *Taenia saginata*, 857-858
para tênia de porco, 856

Nicotinamida-adenina dinucleotídeo
de *Haemophilus*, 338
no metabolismo, 24f, 25

Nifurtimox, para doença de Chagas, 826

Nitazoxanida
para criptosporidiose, 804
para doenças parasitárias, 791
para giardíase, 800

Nitroimidazóis, para doenças parasitárias, 791

Nocardia, 268-272, 270q
ações evasivas de, 269
diagnóstico laboratorial de, 272

doenças causadas por
características clínicas das, 271-272, 271q, 270f, 273f
tratamento das, 272
epidemiologia de, 271
estrutura de, 268, 269f, 270f
fisiologia de, 268, 269f, 270f
mecanismos patogênicos de, 269
taxonomia de, 268

Nocardia brasiliensis, 269-272

Nódulos
na lacaziose, 755, 755f
nas infecções virais, 652

Nódulos linfáticos, 87-88, 92f
nocardiose dos, 271
parasitos que afetam os, 886t

Norovírus, 551-553, 554q, 554f

Nosema, 806-808

Nucleocapsídeo
de rabdovírus, 576
na replicação viral, 49
nos vírions, 41

Nucleoide, 11

Nucleoproteína
do paramixovírus, 555-556, 556t
do vírus influenza, 567-568

O

Ocratoxina, 762t, 764

Olho(s)
- coleta de amostras do(s), 189t, 192, 672t, 778t
- flora microbiana do(s), 74
- infecções de
  - *Acanthamoeba*, 819
  - *Bacillus cereus*, 253
  - bacteriana, 449t
  - *Candida*, 734t, 735
  - *Chlamydia trachomatis*, 433-434
  - fúngicas, 767t
  - gonocócicas, 294, 294f, 297
  - larva migrans, 830-831
  - *Onchocerca volvulus*, 840-842, 841f
  - *Pseudomonas aeruginosa*, 333
  - virais, 652, 653q
- parasitos que afetam o(s), 885t

2′, 5′-oligoadenilato sintetase, 131

Onchocerca valvulus, 840-842, 841f
- ciclo de vida, 840, 840f
- diagnóstico laboratorial da, 841, 841f
- doenças causadas por, 841-842, 841f
- epidemiologia da, 840
- estrutura da, 840
- fisiologia da, 840, 840f

Oncogenes, 611
- de retrovírus, 613, 626, 626t
- do papilomavírus humano, 487, 490, 490f

Oncornavírus, 611

Oncosfera, de *Taenia solium*, 857

Oncovírus, 611, 612t

Onicomicose, 697, 698t, 703, 702f702702,

Oocistos, de *Cyclospora*, 805, 805f, 806f

Operadores, na transcrição gênica, 27

Opérculo, de trematódeos, 845

Operon de lactose, expressão de, 29, 29f

Operon triptofano, expressão do, 29, 30f

Operons, 26
- na expressão gênica, 28-29

na transcrição, 26-27

Operons policistrônicos, 27

Opisthorchis felineus, 846

Opisthorchis sinensis, 848-849, 848f, 849f

Opistótonos, no tétano, 376, 377f

Opsoninas, 108, 123, 124

Opsonização, 105, 132

Orbivírus, 589-590, 590f

Orf, 530, 531f

Organismos atenuados, nas vacinas, 146-148

Organismos avirulentos, nas vacinas, 146-147

Organotrófos (heterótrofos), 23

Órgãos linfoides, 87

Orientia tsutsugamushi, 417, 418f, 418t, 423

Ornithodoros, 875

Ornitose, 430q, 431t, 437-438, 438f

Orofaríngе
candidíase da, 734, 734t
flora microbiana da, 74
infecções virais da, 649-651, 651t
tularemia da, 355

Orquite, vírus da cachumba, 563

Ortomixovírus, 567. *See also* *Veja também* Vírus influenza.

Ortoreovírus, 584, 586-588

Oseltamivir, 471, 475, 567, 574

Osso(s)
coleta de amostras dos, 672t
infecções dos, 451t
Candida, 734t, 735
fúngicas, 768t
Histoplasma duboisii, 723

Osteoclasto, 90

Osteocondrite, *Pseudomonas aeruginosa*, 333

Osteomielite, estafilocócica, 220

Otite externa, 333

Otite média
Haemophilus influenzae, 342
Pseudomonas aeruginosa, 333
Streptococcus pneumoniae, 240

Ouvido
coleta de amostra do, 189t, 192
infecções de
bacterianas, 449t
fúngicas, 766t
Pseudomonas aeruginosa, 333
microbiota do, 74

Oxacilina, para infecções por *Streptococcus pyogenes*, 232

Oxamniquina, 793

Oxazolidinonas, 206t, 205

Óxido de etileno, para esterilização, 77, 78q, 79

Óxido nítrico, 124-125

Oxigênio
do metabolismo bacteriano, 23
inibição do, em bactérias anaeróbicas, 393
toxicidade do, proteção das bactérias anaeróbicas contra a, 393

Oxiúros (*Enterobius vermicularis*), 827-829, 828f

Ozônio, para esterilização, 80

P

Pacientes pediátricos, resposta imunológica em, 142

Padrões hemolíticos, de estreptococos, 224

Padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs), 108, 109t, 123, 183

Paecilomyces, 747

Pamoato de pirantel, 792
    para ascaridíase, 830
    para enterobíase, 828-829
    para infecções por ancilostomídeos, 833

PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos), 108, 109t, 123, 183

Pandemias
    de gripe, 567
    de infecções virais, 467

Panencefalite esclerosante subaguda, 558, 560

Papillomaviridae, 486, 487t

Papilomavírus humano, 486-491
    diagnóstico laboratorial do, 490-491, 491f, 491t
    doenças causadas por, 486, 487q, 488-491, 490t
    epidemiologia do, 487-488, 489q
    estrutura do, 486, 487f
    mecanismos patogênicos do, 486-487, 488q, 488f, 489f
    propriedades características do, 487q
    replicação do, 486, 489f
    resposta imunológica a, 487
    vacinas para, 146, 491

Papilomavírus. *See* Papilomavírus humano.

Pápulas, nas infecções virais, 652

Parabacteroides distansonis, 391, 392q

Parabacteroides, espécies importantes de, 392q, 392t

Parabasalia, 66

Paraclorometaxilenol, para antissepsia, 79, 82q

Paracoccidioides brasiliensis, 714f, 715t

Paracocciodiomicose, 715t, 717t, 724-726, 725f

Paragonimíase cerebral, 849-850

Paragonimus westermani, 849-850, 849f, 850f

Paralisia
carrapato, 876
espástica, no tétano, 376-377, 377f
flácida, no botulismo, 378-379

Paramixovírus, 555-566.*Veja também vírus individuais*.
características únicas dos, 556q
doenças causadas por, 555
estrutura dos, 555-556, 556f, 556t
gêneros de, 555, 556t
replicação dos, 555-556, 557f

Paramomicina
Dipylidium caninum, 864
para amebíase, 798
para doenças parasíticas, 791
para giardíase, 800
para infecções *Dyphillobothrium latum*, 859
para tênia de porco, 856

Paramyxovirus, 555, 556t

Paraparesia espástica tropical, 626-627

Parasitos, 65-72.*Veja também doenças e parasitos específicos*.
ação evasiva de, 136t, 137, 775, 774t
antígenos dos, 783
classificação dos, 65-66, 66t-68t, 68-69
defesa contra os, 90
definição de, 4
fisiologia dos, 67t-68t, 69, 71-72
fungos como, 58
importância dos, 65, 66t
replicação dos, 67t-68t, 69, 71-72, 772, 773t
resposta imunológica aos, 122t, 134, 136, 136f, 136t
visão geral dos, 884-886, 884t-886t

Parasitos energéticos, Chlamydiaceae como, 430

Parasitos intracelulares, 819

Parede(s) celular(es)
de bactérias, 11-13, 13t, 14t, 16-20, 17f-20f
de fungos, 679t, 679-680
síntese da, antibióticos que inibem a, 199-204, 201t, 202f, 202t

Paroníquia herpética, 508, 509f

Parotite, vírus da cachumba, 562-563, 562q, 563f, 564q, 563f

Partículas Dane, 633, 633f

Partículas de transdução generalizada, 35-36

Partículas de vírion defeituosas, 47, 55

Partículas transdutoras especializadas, 35-36

Parvoviridae, 533

Parvovírus B19
diagnóstico laboratorial do, 536
doenças causadas por, 533, 535-536, 535q, 536f
epidemiologia do, 535, 535q
estrutura do, 533, 534f
mecanismos patogênicos do, 533-534, 534q, 535f
replicação do, 533, 534f
resposta imunológica ao, 534

Parvovírus, 533-537
diagnóstico laboratorial dos, 536
doenças causadas por, 533, 535-536, 535q, 536f
epidemiologia dos, 535, 535q
estrutura dos, 533, 534f
genoma dos, 534q
mecanismos patogênicos dos, 533, 534f, 534q, 535f
propriedades características dos, 534q
replicação dos, 533, 534f
resposta imunológica aos, 534
vacinas para, 536

Parvovírus RA-1, 533

Pasteur, Louis, 3, 160

Pasteurella, 344-345, 345f, 345t

Pasteurella canis, 339q, 345, 345t

Pasteurella multocida, 339q, 345, 345f, 345t

Pasteurellaceae, 338, 339q

Patógenos
estritos, 73
oportunistas, 73
VS. comensais, 73-74

PCR. *See* Reação em cadeia da polimerase.

Pé, infecções por tíneas dos, 697, 698t, 701-702

Pediculus, 879-880, 880f

Pediococcus, 246

Pedipalpos, de escorpião, 871, 872f

Pedras renais estruvitas, 266

Pele
coleta de amostras da, 478t, 673t, 778t, 779t
entrada de bactérias através da, 180-181, 181t
flora microbiana da, 76, 76q
função de barreira da, 121, 122f

Peliose hepática, 366

Penciclovir, 471-473, 510

Penetração, na replicação viral, 48

Penicilina(s)
- espectro da(s), 200, 202, 202t
- mecanismo de ação da(s), 200, 202
- para actinomicose, 388
- para antraz, 252
- para botulismo, 380
- para difteria, 265
- para doença estafilocócica, 222
- para infecções anaeróbicas, 384
- para infecções por *Borrelia*, 408
- para infecções por *Cardiobacterium hominis*, 369
- para infecções por *Clostridium perfringens*, 375
- para infecções por *Erysipelothrix rhusiopathiae*, 260
- para infecções por *Lactobacillus*, 389
- para infecções por *Neisseria meningitidis*, 297
- para infecções por *Streptobacillus moniliformis*, 369
- para infecções por *Streptococcus agalactiae*, 235
- para infecções por *Streptococcus pneumoniae*, 241
- para infecções por *Streptococcus pyogenes*, 232
- para leptospirose, 411
- para *Listeria monocytogenes*, 258
- para sífilis, 402

Penicilinases, 200, 222

Peniciliose marneffei, 715t, 717t, 726, 726f

Penicillium, micotoxinas do, 762t, 763, 764

Pentâmeros
- imunoglobulinas M como, 100
- virais, 45, 45f, 539

Pentamidina
- para doenças parasitárias, 791
- para tripanossomíase, 824

Pentastomida, 49t, 867, 867f

Pentons, virais, 45

Peptidases, de estreptococos, 228

Peptídeos, apresentação de, 115, 116f

Peptidoglicano
- estrutura química dos, 17, 17f
- nas paredes celulares, 13, 12f-15f, 17, 17f, 210
- síntese dos, 17, 17f

Peptostreptococcus, 385, 385q, 385f, 385t, 394

Percevejos, 881-882

Percolozoa, 66

Perfil sorológico do *T. gondii*, 816

Perforinas, 109-110, 120, 132

Pericardite
    Candida, 734t
    coxsackievírus, 544

Perihepatite, *Neisseria gonorrhoeae*, 294, 294f

Periodicidade noturna, dos parasitos, 776

Período de incubação, nas infecções virais, 463, 463t

Peritonite
    Ascaris lumbricoides, 829
    Candida, 735

Permetrina, para sarna, 873

Pertactina, de *Bordetella*, 347

Pertussis
    características clínicas da, 350-351, 350f
    tratamento de, 351-352

Peste, 309-311, 310q

Peste bubônica, 310

Peste pneumônica, 310

Peste silvestre, 309-310

Peste urbana, 309-310

Phaeoacremonium, 708, 711-712

Phialophora, 706

Phlebovírus, 605, 606t

Picadas
    ácaros, 872-874, 873f
    aranha, 870-871, 870f
    carrapato. *See* Carrapato(s)
    centopeias, 866
    dípteros sugadores de sangue, 876-878, 878f
    escorpião, 871-872, 872f
    insetos picadores, 882
    insetos sugadores de sangue, 881-882, 881f
    mosca dos cervos, 878
    mosca dos equinos, 878
    mosquitos, 877
    muscoides, 878-879

piolhos. *See* Piolhos.
pulga. *See* Pulgas.
vermes em forma de língua, 867, 867f

Picornaviridae, 538, 539q

Picornavírus, 538-548
capsídeo dos, 45f
enterovírus, 538-546
estrutura dos, 538, 539f, 540f
genoma dos, 538, 539f, 540f
membros da família dos, 538, 539q
propriedades exclusivas dos, 539
replicação dos, 52f, 538-539
rinovírus, 546-548, 547q
vírus da hepatite A como. *See* vírus da hepatite A.

Piedra
branca, 696, 696f
negra, 696-697

Piedraia hortae, 696-697

Pig-bel, *Clostridium perfringens*, 372, 375

Pigmentos, de *Pseudomonas*, 330

Pili (fímbrias), 16, 181
de *Bordetella*, 347
de Enterobacteriaceae, 301
de *Escherichia coli*, 304
de *Neisseria*, 290
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331
de *Vibrio*, 314

Pili F (Pili sexual), 16, 34

Pili sexual (pili F), 16, 34

Pilinas, 16, 290

Pilus corregulado por toxina, 314, 315

Pinta, 397, 402

Piocianina, de *Pseudomonas aeruginosa*, 331, 333, 333f

Pioderma, *Streptococcus pyogenes*, 229

Piolhos
chatos, 880, 880f
corporais, 879-880, 880f
de cabeça, 879-880
diagnóstico dos, 880
epidemiologia dos, 880
fisiologia dos, 879-880
púbicos, 880, 880f
transmissão de doenças pelos, 350, 880

Bartonella, 366
Borrelia, 405
Rickettsia, 417, 418f, 421-422
tratamento dos, 880

Pioverdina, de *Pseudomonas aeruginosa*, 331, 333, 333f

Piperazinas
para ascaridíase, 830
para doenças parasitárias, 792
para enterobíase, 828-829

Pirazinamida, 208, 287

Pirazinoisoquinolinas, para doenças parasitárias, 793, 793f

Pirimetamina, 790

Pirimetamina, para isosporíase, 803

Pirimetamina-sulfadiazina, para toxoplasmose, 817

Pirimetamina-sulfadoxina, para malária, 811, 813

Pirógenos, 125-126, 126q, 183

Pitiríase versicolor (tínea), 694-695, 695f

Pitu, na transmissão de doenças, 870

Placas de Peyer, 87, 88, 92f

Plaquetas, 88f

Plasmídeo(s), 11, 26
na engenharia genética, 36
na troca de genes, 33-35, 33f

Plasmídeo F, 35

Plasmodium, 809, 809q, 810f

Plasmodium falciparum, 812-813, 812f

Plasmodium malariae, 811-812

Plasmodium ovale, 811

Plasmodium vivax, 809-811, 810f

Platelmintos, 69

Pleconaril, 468, 545

Pleistophora, 806-808

Pleurodínia, nas infecções por coxsackievírus, 544

Pneumocistose, 748-750, 749f

Pneumocystis jirovecii, 622, 748-750, 749f

Pneumolisina, 238

Pneumonia
- adenovírus, 500
- aspiração, 220
- *Bacillus cereus*, 253
- *Blastomyces dermatitidis*, 714
- *Candida*, 734t
- *Chlamydia trachomatis*, 433-434
- *Chlamydophila pneumoniae*, 436
- citomegalovírus, 521
- *Coccidioides immitis*, 721
- coronavírus, 549-550
- *Coxiella burnetii*, 428
- estafilocócica, 220
- *Haemophilus influenzae*, 342
- hematogênica, 220
- *Klebsiella*, 311
- *Legionella*, 364
- metapneumovírus humano, 565
- *Mycoplasma pneumoniae*, 413, 414
- necrosante, 220
- *Pasteurella*, 345f
- *Pneumocystis jirovecii*, 622, 750
- *Pseudomonas aeruginosa*, 332
- *Rickettsia prowazekii*, 422
- *Streptococcus agalactiae*, 232-233, 234
- *Streptococcus pneumoniae*, 238-239, 240f
- varicela-zóster, 513
- viral, 651t
- vírus do sarampo, 558, 559
- vírus influenza, 573
- vírus parainfluenza, 562
- vírus sincicial respiratório, 564-565

Pneumonia hematogênica, 220

Pneumonia lobular, *Streptococcus pneumoniae*, 239, 240f

Pneumonia necrosante, 220

Pneumonia por aspiração, 220

Pneumonite
- *Ascaris lumbricoides*, 829
- *Chlamydophila psittaci*, 437-438, 438f
- citomegalovírus, 521
- *Strongyloides stercoralis*, 834

Pneumovirus, 555, 556t

Poder de resolução, do microscópio, 155

Poliartrite, nas infecções por parvovírus B19, 535

Polienos, 683t, 690

Polimixinas, 204

Polimorfismo migratório dos fragmentos de restrição, 164, 165f

Pólio paralisante, 542

Poliomavírus
diagnóstico laboratorial do, 493
doenças causadas por, 493-494
epidemiologia dos, 489q, 493
estrutura do, 491-492, 492q, 492f
mecanismos patogênicos do, 488q, 492-493, 492f
propriedades características do, 487q
replicação do, 491-492, 492q, 492f

Poliomavírus símio, 492-493

Poliomelite bulbar, 543

Poliovírus
diagnóstico laboratorial do, 545
doenças causadas por, 542-543, 543t
estrutura do, 539f
mecanismos patogênicos do, 540
programas de eliminação para o, 541-542
vacinas para, 146, 149, 541-542, 545, 546f, 546t

Poliproteínas, na replicação viral, 54

Polissacarídeo O, de Enterobacteriaceae, 299-300, 300f

Polissacarídeos, de *Streptococcus agalactiae*, 233

Polyomaviridae, 486, 487t

Pontes célula-célula, na replicação viral, 55

Pontes dissulfeto, de imunoglobulinas, 100

Pontos de Koplik, no sarampo, 559, 559f

Pontos de Schüffner
em *Plasmodium ovale*, 811
em *Plasmodium vivax*, 809, 810f

Pontos de Ziemann, em *Plasmodium malariae*, 812

Porção Fc, das imunoglobulinas, 98f., 99, 100f

Porção transmembrana, das imunoglobulinas, 99

Porinas, 16, 200
de *Neisseria*, 290
de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Porphyromonas
doenças causadas por, 393-394

espécies importantes de, 392q, 392t
fisiologia de, 391, 393

Porta de entrada
de bactérias, 180-181, 180t
de parasitos, 771, 772t
de vírus, 457

Portadores
de *Corynebacterium diphtheriae*, 263
de *Entamoeba histolytica*, *796*
de *Mycoplasma*, 413
de *Neisseria gonorrhoeae*, 293
de *Neisseria meningitidis*, 293
de *Ureaplasma*, 413

Posaconazol
para cromoblastomicose, 708
para feo-hifomicose, 748
para fusariose, 746-747
para o micetoma eumicótico, 709
para zigomicose, 745

Posição accolé, do *Plasmodium falciparum*, 812,812f

Posição apliqué, do *Plasmodium falciparum*, 812, 812f

Poxvírus, 526-531
doenças causadas por, 529-531, 528f-531f, 531q
epidemiologia do, 528, 528q
estrutura do, 526-527, 526q, 527f
história do, 526
mecanismos patogênicos do, 527-528, 528q, 528f
propriedades exclusivas do, 526q
replicação do, 526-527, 526q, 527f
resposta imunológica ao, 527-528

PPDs (derivados proteicos purificados), de micobactérias, 275, 285

Praziquantel, 793, 793f
para *Dipydium caninum*, 864
para esquistossomíase, 853, 854
para fasciolíase, 846
para *Hymenolepis diminuta*, 863-864
para *Hymenolepis nana*, 864
para infecções por *Dyphillobothrium latum*, 859
para infecções por *Opisthorchis sinensis*, 849
para paragonimíase, 850
para *Taenia saginata*, 857-858
para *Taenia solium*, 856
para tênia de porco, 856

Precauções para patógenos sanguíneos, 625, 639

Preservativos, para amostras de urina, 193

Prevotella
diagnóstico laboratorial de, 395, 395f

doenças causadas por, 393-395, 395f
espécies importantes de, 392q, 392t
fisiologia de, 391, 393

Primaquina, 772-773, 811

Primase, na replicação do DNA, 29

Primers, para PCR, 166, 166f

Principais antígenos do complexo de histocompatibilidade, 85, 94, 112-115, 113f, 114f, 116f, 127-128, 128f

Principais proteínas da membrana externa, de Chlamydiaceae, 430

Principal bomba de efluxo do tipo facilitador, na resistência a fármacos, 691

Príons, 464, 644-648
descoberta dos, 644
diagnóstico laboratorial dos, 647
doenças causadas por, 644, 645q
características clínicas das, 647, 647q
epidemiologia das, 645-647, 646q
tratamento das, 647-648
estrutura dos, 644-645, 645t
fisiologia dos, 644-645, 645t
mecanismos patogênicos dos, 645, 645q, 646f
versus vírus, 645t

Pró-capsídeos, 44, 45f

Procariotos, 4
troca de genes nos, 33-34, 33f, 34f
vs. Eucariotos, 9, 10f, 11t

Proctite, *Chlamydia trachomatis*, 435

Pródromo
da influenza, 573
da raiva, 579
das infecções virais, 457, 463

Produtos de genes precoces, na replicação viral, 50, 50f

Proglótides, de cestoides, 855.*Veja também cestódeos específicos*.

Promastigotas, de *Leishmania*, 819, 820f

Promotores, na transcrição gênica, 26

Propionibacterium, 385q, 385f, 386t, 388, 388f

Prostaglandinas, na inflamação, 127, 127t

Protease(s), dos parasitos, 773

Protease ativadora de plasminogênio, de *Yersinia pestis*, 309

Protease imunoglobulina 1, de *Neisseria*, 292

Proteases alcalinas, de *Pseudomonas aeruginosa*, 331

Proteases imunoglobulinas A, de *Haemophilus*, 339

Proteína(s)
    detecção laboratorial de, 167-168, 167t
    síntese de, 27, 29f
        antibióticos inibidores, 201t, 202f, 204-207, 206t
        inibidores da, 790-791
    virais, como alvos antivirais, 471

Proteína A, de estafilococos, 211

Proteína ActA, de *Listeria monocytogenes*, 255

Proteína ativadora de gene catabólito, 29

Proteína básica principal, nas infecções parasitárias, 136

Proteína C, do alfavírus, 594-594

Proteína C reativa, 126, 238

Proteína da membrana externa
    de Chlamydiaceae, 430
    de *Rickettsia rickettsii*, 418

Proteína da superfície externa, de *Borrelia*, 404, 404f

Proteína de membrana, do vírus influenza, 567

Proteína Env, de retrovírus, 613

Proteína F
    de paramixovírus, 555, 556t
    de *Streptococcus pyogenes*, 226, 227

Proteína Fas e proteína FasL, 110, 120

Proteína FasL, 112

Proteína G
    de paramixovírus, 555, 556t
    de rabdovírus, 576

Proteína Gag
    do HIV, 616
    do retrovírus, 613

Proteína grande, de paramixovírus, 555, 556t

Proteína H, de Enterobacteriaceae, 300, 300f

Proteína L
    de paramixovírus, 555-556, 556t
    de rabdovírus, 576

Proteína ligante de lipopolissacarídeo, 108

Proteína M, de *Streptococcus pyogenes*, 224-225, 227

Proteína N, de rabdovírus, 576

Proteína nef, do HIV, 615

Proteína p105RB, de adenovírus, 497

Proteína p53, de adenovírus, 497

Proteína PilC, de *Neisseria*, 290

Proteína Pol
    do HIV, 616
    do retrovírus, 613

Proteína quinase R, 131

Proteína quinase, do vírus da hepatite B, 633

Proteína rev, do HIV, 615

Proteína rex, do vírus linfotrópico de células T humanas, 615

Proteína S, de *Campylobacter fetus*, 323

Proteína Tat, de HIV, 615

Proteína Tax, do vírus linfotrópico de células T humanas, 615

Proteína Vif, de HIV, 616

Proteína ZEBRA, do vírus de Epstein-Barr, 514

Proteínas CD154, 112

Proteínas CD18, 112

Proteínas CD25, 112

Proteínas CD4, 112, 614

Proteínas CD45RA e CD45RO, 112

Proteínas CD8, 112

Proteínas de adesão, de estafilococos, 212

Proteínas de adesão viral, 43, 46-48, 46f, 48t, 468, 495

Proteínas de matriz
    do vírus influenza, 567-568
    dos paramixovírus, 555-556, 556t
    dos rabdovírus, 576

Proteínas de superfície, 19

Proteínas de transformação, do poliomavírus, 491

Proteínas do capsídeo viral, do poliomavírus, 491

Proteínas latentes de membrana, vírus Epstein-Barr, 514, 515t

Proteínas ligadoras de penicilina, 19, 18f, 199, 210

Proteínas MSCRAMM, de estafilocócicos, 212

Proteínas Opa, de *Neisseria*, 291

Proteínas por, de *Neisseria*, 290-291

Proteínas precoces, de herpervírus, 502, 505

Proteínas precoces imediatas, dos herpervírus, 502, 505

Proteínas PrP, 644-645, 645t, 646f

Proteínas quelantes de ferro, de Enterobacteriaceae, 301

Proteínas repressoras, na expressão gênica, 26

Proteínas rmp, de *Neisseria*, 291

Proteínas T, de poliomavírus, 491-492

Proteínas tardias, do herpesvírus, 502

Proteínas tirosinoquinases, na função das células T, 112

Proteínas transativadoras intermediárias precoces E1A e E1q, 496, 497t

Proteínas VP, de picornavírus, 539

Proteínas Vpr, do HIV, 616

Proteínas Vpu, do HIV, 616

Proteínas Yop, de *Yersinia*, 309

Proteossomos, 115

Proteus mirabilis, 312

Protoescólice, de *Echinococcus granulosus*, 860

Protômeros, nos vírions, 44, 45f

Protoplasto, 13

Prototecose, 752t, 755-756, 756f

Prototheca wickerhamii, 755-756, 752t, 756f

Prototheca zopfii, 755-756, 752t

Protozoários
- agentes antiprotozoários para, 788t, 789-792
- distribuição dos, 70t

fisiologia dos, 66, 67t, 68, 69, 71
importância dos, 66t
intestinais e urogenitais, 795-808
amebas, 795-798
ciliados, 802
esporozários, 802-806
flagelados, 798-801
microsporídios, 806-808, 807f
replicação dos, 67t, 69, 71
sangue e tecido, 809-826, 809q
ameba de vida livre, 776, 818-819
Babesia, 814-815
Leishmania, 819-822
Plasmodium, 809-813
Sarcocystis lindemanni, 818
Toxoplasma gondii, 815-818
tripanossomas, 822-826
transmissão dos, 70t

Provírus, de retrovírus, 615

Prusiner, Stanley, 644

Pseudallescheria boydii (*Scedosporium apiospermum*), 747, 747f

Pseudoapendicite, *Yersinia enterocolitica*, 311

Pseudo-hifa, 58, 59f, 729, 731f

Pseudomonas, 329, 330q
diagnóstico laboratorial de, 333-334, 333f
doenças causadas por
características clínicas das, 332-333, 332f
tratamento das, 334
epidemiologia de, 331-332
espécies importantes de, 330q
estrutura de, 329, 329f, 331f
fisiologia de, 329, 329f
mecanismos patogênicos de, 330, 331

Pseudomonas aeruginosa, 330q, 334q
diagnóstico laboratorial de, 333-334, 333f
doenças causadas por
características clínicas das, 332-333, 332f
tratamento das, 334
epidemiologia de, 331-332
estrutura de, 329, 329f, 331f
fisiologia de, 329, 329f
mecanismos patogênicos de, 329, 331
resistência a fármacos em, 331
toxinas de, 331

Pseudópodes, de ameba, 795

Pseudotipos, na replicação viral, 56

Psittacose, 430q, 431t, 437-438, 438f

Pulgas, 880-881, 881f
bicho-de-pé, 881
praga transmitida por, 309
transmissão de doença pelas
Bartonella, 366
Rickettsia, 423

Pulmão
actinomicose do, 387
coleta de amostras do, 189t, 192, 779t
fagócitos no, 93
nódulos no, nas infecções por *Mycobacterium avium*, 283
tuberculose do, 279, 279f

Púrpura fulminante, na síndrome do choque tóxico, 218

Pus, 127

Pyrenochaeta, 708

Pythium insidiosum, 752t, 697-758, 757f

Q

Quarentena, 144, 467

Queilite, *Candida*, 734

Queimaduras de frio, 413-414

Quelícera, de aranhas, 870

Queloides, na lacaziose, 755, 755f

Queratite
    Acanthamoeba, 819
    vírus herpes simples, 508

Queratoconjuntivite epidêmica, adenovírus, 500

Quimioatraentes, 137

Quimiocinas, 85, 87t, 123-124, 125f,

Quinacrina
    para giardíase, 800
    para tênia de porco, 856

Quinidina, 772-773, 813

Quinina, 790

Quinolinas, para doenças parasitárias, 790

Quinolonas, 207, 207t

Quinopristina-dalfopristina, 207

Quinta doença, 533-536, 535q, 536f

Quorum sensing, 27-28

R

Rabdovírus. *See also* *Veja também* Vírus da raiva.
características exclusivas dos, 577q
estrutura dos, 576, 577q, 577f
fisiologia dos, 576, 577q, 577f
mecanismos patogênicos dos, 576-578, 577q
membros da família dos, 576
replicação dos, 576
resposta imunológica dos, 578

Radiação, para esterilização, 77

Radiação ultravioleta, para esterilização, 77

Radioimunoensaio, 172

Reação de Arthus, 139

Reação de Quellung, *Streptococcus pneumoniae*, 240

Reação de Shwartzman, 16

Reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa, 166, 482

Reação em cadeia da polimerase em tempo real, para vírus, 482

Reação em cadeia da polimerase, 36, 166, 166f
para classificação bacteriana, 10
para *Corynebacterium diphtheriae*, 264
para vírus, 482

Reação linfocítica mista, na rejeição de transplante, 137

Reações anafiláticas, 137-138, 137t, 138f

Reagente de descontaminação, para o teste de micobactérias, 286

Recém-nascidos
conjuntivite em, 434
doença gonocócica e, 294, 294f, 297
imunodeficiência em, 142
infecções pelo vírus herpes simples, 507, 509, 511
infecções por citomegalovírus em, 520-521
infecções por *Listeria monocytogenes* em, 257, 257q
infecções por *Streptococcus agalactiae* em, 234, 235
infecções virais em, 656
meningite por *Escherichia coli* em, 305
tétano em, 376-377
toxoplasmose em, 816

Receptor(es)
antagonistas de, 468
virais, 47-48, 48t, 539

Receptor CCR5, de retrovírus, 614

Receptor inibidor, das células *natural killer*, 110

Receptor para adenovírus-coxsackie, 495

Receptor translocado de intimina, de *Escherichia coli*, 304

Receptores da célula T, 95, 110-112, 111f-113f, 212

Receptores FcR, 98f

Receptores semelhantes ao Toll, 94, 107, 108, 109t, 123

Reclassificação
    dos genes de reovírus, 584
    dos genes virais, 56

Recombinação
    bacteriana, 33, 36, 37f
    de imunoglobulinas, 101, 102f
    virais, 56

Recombinação homóloga (legítima), 36

Recombinação ilegítima (não homóloga), 36

Recombinação legítima (homóloga), 36

Reduvídeos, na transmissão do tripanossoma, 824-826, 825f

Região de articulação, das imunoglobulinas, 99

Região variável, das imunoglobulinas, 98

Reoviridae, 584, 585t
    características exclusivas de, 585q
    de importânica médica, 585

Reovírus, 584-590
    estrutura dos, 584, 585q, 585f, 586f, 586t
    mamíferos (ortoreovírus), 586-588
    produtos gênicos dos, 586t
    replicação dos, 53, 584-586, 587f

Reparo direto do DNA, 32

Reparo do DNA por excisão, 32

Reparo do DNA pós-replicação, 32

Reparo do DNA sujeito a erros, 32

Replicação
    DNA, nas bactérias, 29-30, 31f
    dos fungos, 58-62, 59f, 60f
    dos vírus. *See* Vírus, replicação dos.

Repressor da toxina diftérica, 262, 265

Reservatórios
para alfavírus, 597, 598f
para *Anaplasma*, 425
para *Bunyaviridae*, 607, 606t
para *Ehrlichia*, 425
para flavivírus, 597, 598f
para *Leptospira*, 409
para *Rickettsia*, 417-419, 418f
para vírus, 465

Resfriado (Frio)
comum. *See* Resfriado comum.
mutações sensíveis ao, 55

Resfriado comum, 650, 651t
coronavírus, 549
coxsackievírus, 544-545
echovírus, 544-545
metapneumovírus humano, 565
rinovírus, 546-548, 547q
vírus parainfluenza, 561-562, 561q
vírus sincicial respiratório, 564-565

Resgate de marcador, na replicação viral, 56

Resiquimod, 471

Resistência a fármacos
à cloroquina, 811
ao aciclovir, 473
em *Actinomyces*, 388
em bactérias anaeróbicas, 395
em *Entercoccus faecalis*, 36, 37f
em Enterobacteriaceae, 301, 312-313
em Enterococos, 243, 246
em estafilococos, 222, 222f
em fungos, 689-692, 691t
em *Giardia lamblia*, 799
em *Leishmania*, 822
em *Listeria monocytogenes*, 258
em micobactérias, 287
em *Moraxella*, 336
em *Mycobacterium tuberculosis*., 286-287
em *Neisseria gonorrhoeae*, 296-297
em parasitos, 786-787
em *Plasmodium falciparum*, 813
em *Plasmodium vivax*, 811
em *Pseudomonas aeruginosa*, 331, 334
em *Staphylococcus aureus*, 209, 210, 209t, 214-215, 219, 222, 222f
em *Stenotrophomonas maltophilia*, 335
heterogênea, 222
no vírus herpes simples, 510

Resistência heterogênea a fármacos, 222

Respiração aeróbica, 25-26, 26f

Respiração anaeróbica, 25-26

Resposta anamnéstica, 97, 101, 104, 174

Resposta de fase aguda, 125-126, 126q, 183

Resposta imune inata, 85

Resposta imunológica
a agentes infecciosos, 121-143
antígeno-específica, 85, 132-133, 133q
autoimune, 140
bactérias, 121, 123-129
barreiras na, 121, 122f, 122t
fungos, 134
importância da, 121, 122t
na imunodeficiência, 140-142, 140t, 141f, 142f, 142t
parasitos, 122t, 134, 136, 136f, 136t, 773t, 775, 774t
patológica, 137-139, 137t, 138f-140f, 139t
vírus, 122t, 129-134, 462
a transplantes, 137
a vacinas. *See* Vacinas e vacinação.
adaptativa, 121
antígeno-específica, 121, 132-133, 133q
antígeno-inespecífica, 121
antitumoral, 137
ativadores da, 85, 86t-87t, 89q
celular, 107-120
células da, 85-95
humoral, 97-106
inata, 85, 121, 129-130
patogênica, 184-185, 185f
sistêmica, 180

Resposta imunológica antígeno-específica, 85, 132-133, 133q, 142, 142t

Resposta imunológica antitumoral, 137

Resposta imunológica autoimune, 140

Resposta imunológica celular, 107-120, 132-133

Resposta imunológica humoral, 97-106. *See also* Anticorpo(s); Sistema complemento; Imunoglobulinas.
antígeno-específica, 132, 133q
antígenos e, 97-98, 98q
epítopos e, 97
genética e, 101-103, 102f
imunógenos e, 97, 98q
não específica, 122t

Resposta secundária, 97, 101, 104

Resposta SOS, no reparo do DNA, 32

Respostas à hipersensibilidade, 137-139, 137t, 138f-140f, 139t

Respostas protetoras do hospedeiro, 85-95. *See also* Resposta Imunológica.

ativadores das, 85, 86t-87t, 89q
células das, 85-95

Retinite, citomegalovírus, 521

Retrovírus, 611-627. *See also* Vírus da imunodeficiência Humana.
características exclusivas dos, 613q
classificação dos, 612t
complexos, 613
endógenos, 627
estrutura dos, 612-613, 612f, 613f
genoma dos, 612-613, 613f, 614t
história dos, 611
oncogênicos, 626, 625t, 626t
replicação dos, 53, 614-616, 614f-616f, 614t
simples, 613
subfamílias dos, 611, 612t

Rhinocladiella, 706

Rhinosporidiose, 752t, 758-759, 759f

Rhinosporidium seeberi, 752t, 753, 753t, 758-759, 759f

Rhipicephalus, 875

Rhizomucor, 744-745

Rhizopus, 744-745, 744f

Rhodococcus, 269q, 272-274, 273f

Rhodotorula, 740

RIA (radioimunoensaio), 172

Ribavirina, 469, 471, 474
para infecções pelo vírus da doença de Borna, 581
para infecções pelo vírus sincicial respiratório, 565
para infecções por arenavírus, 610

Ribossomos, bacterianos, 11

Ribotipagem, na classificação bacteriana, 10

Ribozima, do vírus da hepatite D, 641

Rickettsia, 448t.*Veja também organismos individuais*,
epidemiologia de, 417, 418f, 418t
espécies importantes de, 417, 418q
estrutura de, 418, 418f
fisiologia de, 418, 418f

Rickettsia akari, 418q, 418f, 418t, 421

Rickettsia prowazekii, 418q, 418f, 418t, 421-422, 422q

Rickettsia rickettsii, 418-421, 418q, 418f, 418t, 419q

doenças causadas por, 419-421, 418q, 418f, 418t, 419q
epidemiologia de, 418-419, 419f
mecanismos patogênicos de, 418
resposta imunológica à, 418

Rickettsia typhi, 418q, 418f, 418t, 422-423

Rickettsiaceae, 417

Rifabutina, 207

Rifampicina, 207
para bartonelose, 368
para brucelose, 359
para erliquiose, 426
para infecções por *Coxiella burnetii*, 428
para infecções por *Mycobacterium avium*, 287
para tuberculose, 287

Rifampicina, para lepra, 287

Rim
disfunção do
Leptospira, 409, 410
na malária, 813
fagócitos no, 93
pedras nos, 266, 312

Rimantadina, 468-469, 475f, 475, 568, 574

Rinovírus, 546-548, 547q

Risus sardonicus, no tétano, 376, 377f

Ritonavir, 471, 475

Rizoides, 60, 744, 744f

RNA
fita-dupla, na indução pelo interferon, 130-131, 131f
mensageiro, na transcrição gênica, 26-27, 28f
síntese de, como alvo antiviral, 469

RNA polimerases
de retrovírus, 611
dependente de DNA, 26-27
dependente de RNA, na replicação viral, 52, 53q
na replicação viral, 50, 50f

Roedores, tênias de, 864, 864f

Roséola, 522-523, 523q, 523f

Roseolovirus, 522-523, 523q, 523f

Rota endógena de apresentação antigênica, 115, 116f

Rota exógena de apresentação de antígenos, 115, 116f

Rotavírus
doenças causadas por, 584
estrutura dos, 584, 585q, 585f, 586f, 586t
produtos gênicos dos, 587t
replicação dos, 584-586, 587f
vacinas para, 146

Rothia mucilaginosa, 262q, 266t, 267

Rubéola, 600-602, 600f-602f

S

Sabin, Albert, 149, 545

Safranina, 10

Saksenaea, 744-745

Saliva, coleta de amostras, 781

Salk, Jonas, 545

Salmonella, 305-307, 306q
    doenças causadas por, 307
    epidemiologia da, 306-307
    mecanismos patogênicos da, 306
    resistência a fármacos em, 313

Salmonella Choleraesius, 305, 306q, 307

Salmonella Paratyphi, 306-307, 306q

Salmonella Typhi, 300f, 305-307, 306q

Salmonella Typhimurium, 20f, 305, 306q

Sangue
    coleta de amostras de, 188, 189t, 478t, 672t, 778t, 782
    doenças virais do, 654, 654q
    mapeamento do, para doenças infecciosas, 625
    parasitos que afetam o, 884t
    protozoários no. *Veja* Protozoa, sangue e tecido.
    troca de, para malária, 813

Saprófitas, 58

Saquinavir, 471, 475

Sarcocystis, 784, 818

Sarcoma, Kaposi, 523, 623

Sarcoptes scabiei, 872-873

Sarna, 873

Sarnas Norueguesas, 873

SARS (síndrome respiratória aguda grave), 549-551

Scedosporium, 708, 747

Schistosoma haematobium, 850, 852f, 853-854

Schistosoma japonicum, 852f, 853

Schistosoma mansoni, 850-853, 851f

Schleiferella, 385q

Scolopendra, 866

Scopulariopsis, 703, 747

Scrapie, 644, 645t

Scytalidium, na onicomicose, 703

Segmentos do gene D, de imunoglobulinas, 101, 102f

Segmentos do gene J, das imunoglobulinas, 101, 102f

Segmentos do gene V, das imunoglobulinas, 101, 102f

Segunda dose, na vacinação, 150

Semente de abóbora para tênia, 864, 864f

Separador de células ativado por fluorescência, 170-172, 173f

Sepse, 128, 450t

Septicemia
- *Clostridium perfringens*, 375
- definição de, 188
- *Erysipelothrix rhusiopathiae*, 259
- *Escherichia coli*, 305
- *Lactobacillus*, 389
- *Neisseria gonorrhoeae*, 293-294
- *Salmonella*, 307
- *Vibrio vulnificus*, 318

Septicemia contínua, 188

Septicemia intermitente, 188

Sequência interna de entrada do ribossomo, 53

Sequências de inserção, nos transposons, 34

Serino proteases
- de *Pseudomonas aeruginosa*, 331
- na síndrome da pele escaldada estafilocócica, 213
- na síntese da parede celular, 199

Serratia, 312

Sesquiterpenos, para doenças parasitárias, 791

Shell-vial, 482

Shigella, 307-309, 308q, 313

Sideróforos, de Enterobacteriaceae, 301

Sífilis, 397
congênita, 400
diagnóstico laboratorial da, 400-402, 400t
endêmico (bejel), 397, 402-403
epidemiologia da, 398
fases da, 397-398, 399f
história da, 398
primária, 399
secundária, 399
terciária, 400
tratamento da, 402

Simbiontes, 58

Sinais coestimulatórios, na apresentação de antígenos, 115

Sinais de Romaña, 882

Sinal de Winterbottom, na tripanossomíase, 824

Sinapse imunológica, 132

Sincício
na replicação viral, 49, 55, 460, 479, 479f, 505
no vírus sincicial respiratório, 563-564

Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, 611, 620-623, 621t, 622q. *See also* Vírus da Imunodeficiência humana
características clínicas da, 620-623, 621t, 622q
demência na, 623
doenças indicadoras da, 621-622, 621t
epidemiologia da, 619, 619f
plena, 620

Síndrome da Lady Windermere, 283

Síndrome da mononucleose heterofílico-negativa, 521

Síndrome da pele escaldada, estafilocócica, 213, 216, 217f

Síndrome de Chédiak-Higashi, 141, 142f

Síndrome de Fitz-Hugh-Curtis, 294, 294f

Síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker, 644-647

Síndrome de Guillain-Barré, nas infecções por *Campylobacter*, 322-324

Síndrome de Halzoun, 867

Síndrome de Katayama, 851, 853

Síndrome de Löffler, 833-834

Síndrome de Reiter, 435

Síndrome de Waterhouse-Friderichsen, 295

Síndrome de Weil, na leptospirose, 410

Síndrome do choque tóxico, 183
estafilocócica, 214, 217-218, 218f
estreptocócica, 230

Síndrome pós-pólio, 540, 543

Síndrome pulmonar do Hantavírus, 607-608

Síndrome respiratória aguda grave (SARS), 549-551

Síndrome urêmica hemolítica, 305

Sinergismo
de agentes antifúngicos, 689
de antibióticos, 200q

Sinos
coleta de amostras dos, 189t, 192
zigomicose dos, 745

Síntese macromolecular, na replicação viral, 50, 49f, 50f

Sintomas semelhantes à gripe, das infecções virais, 651

Sinusite
Chlamydophila pneumoniae, 436
Haemophilus influenzae, 342
Streptococcus pneumoniae, 240

Sistema do complemento, 104-105, 104f, 106f, 123, 124q
deficiências do, 141, 141f, 292
inibição do, 186
na resposta de hipersensibilidade, 137t, 138-139, 138f
receptores para o, 108

Sistema fagocítico mononuclear, 93

Sistema Nervoso Central
coleta de amostras do, 478t, 672t, 778t
infecções do. *See also* *Veja também* Meningite.
amebianas, 818-819
bacterianas, 450t
Blastomyces dermatitidis, 718
Candida, 734t, 735
coxsackievírus, 544
fúngicas, 768t
Paragonimus westermani, 849-850
Plasmodium falciparum, 813
poliomavírus, 492-493
poliovírus, 542-543
príon, 644-648
Toxoplasma gondii, 816
virais, 653-654, 653q
vírus da raiva, 577-580, 577f, 579t
zigomicose, 745
parasitos que afetam o, 884t-885t

Sistema nervoso. *See also* Sistema nervoso central.
invasão pelo vírus da doença de Borna, 581
invasão pelo vírus herpes simples, 505-508, 506q
vírus varicela-zóster latente no, 512, 513, 513f

Sistema secretório tipo III, 15, 182
de Enterobacteriaceae, 301
de *Shigella*, 308

Sistema urogenital. *See* Trato urogenital.

Sistemas de secreção da parede celular, 15-16, 182. *See also* Sistema de secreção Tipo III.

Sítio aminoacil, na tradução de genes, 27

Sítio de clonagem múltipla, 36

Sítio peptidil, na tradução de genes, 27

Sítios de aderência, da parede celular, 16

Sítios imunologicamente privilegiados, 133-134

Solução de Dakin, para clorelose, 754

Sondas de DNA, 164-168, 165f, 166f

Sondas genéticas, 164-168, 165f, 166f

Sordarinas, 689

Soroconversão
nas infecções bacterianas, 174
nas infecções virais, 483

Sporothrix schenckii, 704-706, 705t, 706f, 707f

Spumavirinae, 611, 612t

Staphylococcus aureus, 211q, 215q
diagnóstico laboratorial de, 221-222, 221f
doenças causadas por, 211q
características clínicas das, 215-221, 215q, 216f, 218f, 219f
tratamento das, 222-223, 222f
enzimas de, 214
epidemiologia de, 210q, 214-215
estrutura de, 210-212, 210q
fatores de virulência de, 211q, 212-214, 212q, 213t
fisiologia de, 210-212, 210q
patogenicidade de, 212-214, 212q
peptideoglicano de, 14f
resistência a fármacos em, 222, 222f
resistente à meticilina, 209, 210, 209t, 214-215, 219
resistentes à vancomicina, 36, 37f
toxinas de, 212q, 212-214

Staphylococcus capitis, 209

Staphylococcus epidermidis, 209, 210q, 209t, 220

Staphylococcus haemolyticus, 209

Staphylococcus hominis, 209

Staphylococcus lugdunensis, 209, 210q, 209t, 220, 220q

Staphylococcus saprophyticus, 209, 210q, 209t, 220

STARI (doença eruptiva associada aos carrapatos do sul), 406

Stavudina, 474

Stenotrophomonas, 330q, 334q, 335

Stomoxys calcitrans, 878-879

Streptobacillus moniliformis, 367q, 369-370, 369f

Streptococcus agalactiae, 232-235, 233q
- ações evasivas do, 233
- diagnóstico laboratorial de, 234, 235f
- doenças causadas por, 225q
  - características clínicas das, 233-234
  - tratamento das, 235
- epidemiologia do, 233
- estrutura de, 232
- fisiologia de, 232
- mecanismos patogênicos de, 233

Streptococcus bovis, 237t

Streptococcus constellatus, 235

Streptococcus dysgalactiae, 235, 236f

Streptococcus intermedius, 235

Streptococcus mitis, 236, 236f, 237t

Streptococcus mutans, 16, 237t

Streptococcus pneumoniae, 236-241, 237q
- ação evasiva do, 238
- diagnóstico laboratorial de, 240
- doenças causadas por, 225q
  - características clínicas das, 239-240, 240f
  - tratamento das, 241
- epidemiologia de, 238-239
- estrutura de, 236-238, 237f
- fisiologia de, 236-238
- mecanismos patogênicos de, 238-239
- vacinas para, 241

Streptococcus pyogenes, 224-232
- ações evasivas do, 227
- doenças causadas por, 224, 225q, 228-231, 229f

diagnóstico laboratorial das, 231-232, 232t
prevenção das, 232
tratamento das, 232
epidemiologia de, 225q, 228
estrutura de, 224-226, 227f
fisiologia de, 224-226
mecanismos patogênicos de, 227-228
toxinas do, 227-228

Streptococcus salivarius, 237t

Strongyloides stercoralis, 834-836
ciclo de vida de, 834, 834f
diagnóstico laboratorial de, 834-835, 835f
doenças causadas por, 834-836
epidemiologia de, 834
estrutura de, 834
fisiologia de, 834, 834f

Substâncias solúveis específicas, *Streptococcus pneumoniae*, 238

Sulfadiazina, para isosporíase, 803

Sulfonamidas, 208, 790

Superantígenos, 129, 182-183, 185f

Superinfecções
na hepatite, 641, 641f
no sarampo, 559

Superóxido dismutase, de *Nocardia*, 271

Suramina, 824

Surtos, de infecções virais, 466-467

Syncephalastrum, 744-745

T

Taenia saginata, 857-858, 858f

Taenia solium, 855-857, 856f, 857f

Tamanho do broto, do vírus, 47, 47f

Tamanho do inoculo
    de bactérias, 179-180
    de parasitos, 771., 772t

Taquizoítos, de *Toxoplasma gondii*, 815

Taxonomia, de fungos, 58-62, 59f, 60f, 61t

Tecido(s)
    coleta de amostras dos, 190t, 192
    destruição de, nas doenças bacterianas, 182
    protozoários nos. *Veja* Protozoa, sangue e tecido.

Tecido-alvo, de vírus, 458

Técnica da imunodifusão dupla de Outchterlony, 170, 171f

Técnica da imunofluorescência indireta, 170, 172f

Técnica de DNA de cadeia ramificada, 167

Técnica de imunodifusão radial única, 169-170

Técnicas de imunodifusão, 169-170, 171f

Técnicas de imunofluorescência, 170-171, 172f, 173f

Técnicas de imunofluorescëncia direta, 170, 172f, 435, 435f

Técnicas de precipitação, para diagnóstico sorológico, 169-170, 171f

Técnicas imuno-histológicas, 170-171, 172f, 173f

Tegumento
    de helmintos, 68
    de herpesvírus, 502, 504f
    de vírions, 46

Teleomorfos, 60

Telitromicina, 206

Temperatura, mutações sensíveis à temperatura, 32, 55

Tempestade de citocinas, 182-183

Tempo de duplicação, no crescimento bacteriano, 32, 32f

Tênias (cestoides)
anã, 862-863, 863f
bovina, 858, 858f
de peixe, 858-859, 859f
de porco, 855-857, 856f, 857f
de roedores, 864, 864f
distribuição das, 71t
Echinococcus graulosus, 859-860, 860f
Echinococcus multilocularis, 862, 862f
esparganose decorrente das, 859
fisiologia das, 67t
semente de abóbora, 864, 864f
transmissão das, 71t

Terapia anti-inflamatória, 141

Terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), 473-474, 622q, 625

Terapia de reposição de genes, vetores virais para, 56
adenovírus, 501
vírus adeno-associado, 533

Terapia empírica, 199

Terapia fluida, para cólera, 319

Terapia imunossupressiva, 141

Terbinafina, 688
para cromoblastomicose, 708
para micetoma eumicótico, 709
para pythium insidiosi, 758

Terrorismo, agentes para
antraz, 250
Brucella, 353
Francisella tularensis, 353
toxina botulínica, 378
vírus da varíola, 526

Teste ASO, para *Streptococcus pyogenes*, 232

Teste da Anti-DNase B, para *Streptococcus pyogenes*, 232

Teste da bacitracina, para *Streptococcus pyogenes*, 231-232

Teste da catalase
para estafilococos, 209
para *Streptococcus agalactiae*, 235

Teste da crioaglutinina, para *Mycoplasma*, 415

Teste da cultura filtrada de proteína 10, para micobactéria, 285

Teste da lepromina, para micobactérias, 285

Teste da L-pirrolidonil arilamidase, 231-232, 246

Teste da microimunoflurescência, para *Rickettsia*, 421

Teste da pele para tuberculina, 285

Teste de absorção do anticorpo treponêmico fluorescente, 401

Teste de aglutinação microscópico, para *Leptospira*, 410

Teste de antígenos fecais, para *Giardia lamblia*, 800

Teste de Elek, na difteria, 265

Teste de fixação do complemento, 172, 174q, 436

Teste de Northern Blot
    para bactérias, 166
    para vírus, 482

Teste de solubilidade da bile, 240

Teste de suscetibilidade
    de agentes antifúngicos, 692
    de antimicrobianos, 196

Teste de Weil-Felix, para *Rickettsia*, 421

Teste direto do anticorpo fluorescente,
    para *Legionella*, 364
    para *Treponema*, 400, 401f

Teste do corante de Sabin-Feldman, para *Toxoplasma gondii*, 816

Teste do hidróxido de potássio, 156, 157t
    para *Candida*, 702-703
    para identificação fúngica, 702-703

Teste do Hipurato, para *Streptococcus agalactiae*, 235

Teste do KOH. *See* Teste do hidróxido de potássio.

Teste do Laboratório de Pesquisa em Doenças Venéreas, 401

Teste do peróxido de hidrogênio, para estafilococos, 209

Teste do sal de bile, para Enterobacteriaceae, 299

Teste ESAT-6, para micobactérias, 285

Teste não treponêmicos, para sífilis, 402q, 401

Teste por monospot, para infecções pelo vírus Epstein-Barr, 518

Teste rápido de Reagina do plasma, 401

Teste Southern blot
    para bactérias, 165-166
    para vírus, 482

Testes da pele

coccidioidina, 720
tuberculina, 285

Testes de agar-difusão, 196

Testes de anticorpos, para identificação bacteriana, 194t-196t

Testes de detecção de antígenos para identificação bacteriana, 194t-196t.*Veja também organismos específicos*, diagnóstico laboratorial de.

Testes de diluição em caldo, 196

Testes de suscetibilidade antimicrobiana, 196

Testes dos ácidos nucleicos
para estafilococos, 221
para identificação bacteriana, 194t-196t. *See also organismos específicos*, diagnóstico laboratorial de.
para parasitos, 783-784, 784t
para *Streptococcus pyogenes*, 231

Testes treponêmicos, para sífilis, 402q, 401-402

Tétano, 376-377, 377f

Tétano cefálico, 377

Tetanoespasmina, 375

Tetanolisina, 375

Tetraciclina(s)
espectro das, 205, 206t
mecanismos de ação das, 205
para infecções por *Borrelia*, 408
para infecções por *Mycoplasma*, 415
para infecções por *Rickettsia*, 422, 423
para infecções por *Streptobacillus moniliformis*, 369
para prototecose, 756
para sífilis, 402

Tetra-hidropirimidinas, para doenças parasitárias, 792

Tiabendazol, para triquinose, 837

Tifo
endêmico (murino), 420t, 422-423
epidêmico, 420t, 421-422, 422q
rural, 417, 418f, 418t, 420t, 423

Tigeciclina, 205

Timidina quinase, do vírus varicela-zóster, 511

Timo, diferenciação das células n, 87, 110, 110f

Tinea barbae, 697, 698t, 700f

Tinea capitis, 697, 698t, 701-702, 700f

Tinea corporis, 697, 698t

Tinea cruris, 697, 698t, 701

Tinea nigra, 695-696, 695f, 696f

Tinea pedis, 697, 698t, 701-702

Tinea unguium,697, 698t, 702, 703, 702f

Tinea versicolor, 694-695, 695f

Tinhas. *See* Dermatofitoses.

Tinidazol
    para giardíase, 800
    para tricomoníase, 801

Tipanocentese, 192

Título, do anticorpo, 169, 174

Tobramicina, 205, 206t

Togavírus, 592, 592q, 593t
    epidemiologia do, 597-598, 597q, 598f
    mecanismos patogênicos dos, 596q

Tolerância, 97, 116, 140

Tolerância imunológica central, 97

Tolerância periférica, 97

Tonsilas, 88

Topoisomerases, na replicação do DNA, 30

Tórax, actinomicose do, 387

Tosse, *Chlamydia trachomatis*, 434

Toxicidade diferencial, nas doenças parasitárias, 786

Toxina(s)
    A-B, 182, 183f, 184t, 261, 315
    alfa, 213
    bacterianas, 182-184, 183f, 184t, 186q, 185f. *See also* Lipopolissacarídeo (endotoxina, LPS)
    beta, 213
    Bordetella, 347-348, 349t
    Clostridium botulinum, 378
    Clostridium difficile, 380-381
    Clostridium perfringens, 371-372
    Clostridium tetani, 376
    Corynebacterium diphtheriae, 261-262, 265
        delta, 213
    de *Bacillus anthracis*, 248-249

de *Bacillus cereus*, 252-253, 252q, 252t
de bactérias anaeróbicas, 393
de escorpiões, 872
de estafilococos, 217
de parasitos, 772-773, 773t
dimérica, 182, 183f, 184t
Entamoeba histolytica, 795
Escherichia coli, 302t, 303t
esfoliativa, 213
estável ao calor, 217
fúngica, 760-765
gamma, 213
Helicobacter pylori, 326
Listeria monocytogenes, 255-256
Panton-Valentine, *213*
pré-formadas, 182
Pseudomonas aeruginosa, 331
Shiga, 305, 308
Staphylococcus aureus, 212q, 213-214
Streptococcus pyogenes, 227-228
Vibrio, 314-317, 316t

Toxina A, de *Clostridium difficile*, 380-381

Toxina alfa, de *Clostridium perfrigens*, 372

Toxina B, de *Clostridium difficile*, 380-381

Toxina beta, do *Clostridium perfrigens*, 372

Toxina codificada pelo plasma, de *Escherichia coli*, 304

Toxina colérica, 314-315

Toxina da zônula occludens, 316

Toxina dermonecrótica de *Bordetella*, 348

Toxina épsilon, de *Clostridium perfrigens*, 373

Toxina estável no calor
de *Bacillus cereus*, 252
da *Escherichia coli*, 303

Toxina Iota, de *Clostridium perfringens*, 373

Toxina lábil ao calor
de *Bacillus cereus*, 252
de *Escherichia coli*, 303

Toxina necrótica, de *Bacillus cereus*, 252

Toxina Panton-Valentine, 213

Toxina pertussis, 347

Toxina shiga
de *Escherichia coli*, 305

de *Shigella*, 308

Toxina T-2, 764-765

Toxinas citolíticas, 182

Toxinas pré-formadas, 182

Toxocara canis, 830-831

Toxocara cati, 830-831

Toxoplasma gondii, 815-818
ciclo de vida, 816f
doenças causadas por, 815
características clínicas das, 816
diagnóstico laboratorial das, 816-817, 817f
tratamento das, 817-818
epidemiologia de, 815-816
estrutura de, 815
fisiologia de, 815, 816f

Toxoplasmose, 205, 206t
características clínicas da, 816
diagnóstico laboratorial da, 816-817, 817f
tratamento da, 817-818

Trachipleistophora, 806-808

Tracoma, 433-434

Tradução
gênica, 27
modificação viral após a, 54

Transaldolases, no metabolismo, 26

Transcapsidação, 56

Transcetolases, no metabolismo, 26

Transcrição, gênica, 26-27, 28f

Transcriptase reversa
como alvo antiviral, 470-471, 470f
do vírus da hepatite B, 632-634
dos retrovírus, 612, 613q, 614-615
na engenharia genética, 36
na replicação viral, 53

Transcriptase, do vírus influenza, 567-568

Transcritos associados com latência, dos herpesvírus, 505

Transdução, na troca de genes, 34, 35f, 35-36

Transferrina, ligação da *Neisseria* à, 291

Transformação

de células, vírus oncogênicos na, 461, 461f
na troca de genes, 34, 35f

Transfusões
disseminação de vírus pela, 654-655, 655q
doença de Creutzfeldt-Jakob transmitida nas, 647
transmissão de citomegalovírus na, 521

Transglicolases, na síntese do peptídeoglicano, 17, 18f

Transição, na mutação, 32

Transmissão sexual
de citomegalovírus, 521, 522
de HIV, 620, 625
de infecções virais, 654-655, 654q

Transpeptidação, 19, 18f, 27

Transplante
infecções por parvovírus B19 no, 535
infecções virais no, 654, 655q
rejeição do enxerto no, 137
terapia imunossupressiva para o, 141
transmissão de citomegalovírus no, 521

Transportadores cassette ligantes de ATP, na resistência a fármacos, 691

Transposons, 34, 34f

Transversão, na mutação, 32

Traqueia, microbiota normal da, 74, 74q

Traqueobronquite
Mycoplasma pneumoniae, 413
Pseudomonas aeruginosa, 332

Trato gastrointestinal
barreiras de defesa do, 121, 122f
coleta de amostras do, 478t
flora microbiana do, 74-75, 75q
infecções do. *See also* *Veja também* Gastroenterite.
Bacillus anthracis, 250
bacterianas, 451t
Francisella tularensis, 355
protozoários, 795-808
virais, 651-652, 651q
parasitos que afetam, 885t

Trato respiratório
barreiras de defesa do, 121, 122f
coleta de amostras do, 189t, 191-192, 478t, 673t
entrada de bactérias através do, 181
microbiota normal do, 74, 74q
parasitos que afetam o, 886t

Trato urogenital

barreiras de defesa do, 121, 122f
coleta de amostras do, 190t, 193, 478t, 673t
entrada de bactérias através do, 181
infecções do. *Veja também* infecções do trato urinário.
anaeróbicas, 394
bacterianas, 451t-452t
Candida, 734, 734t
Chlamydia trachomatis, 434, 434f
fúngicas, 767t
vírus herpes simples, 505, 507-511
microbiota normal no, 75-77, 76q
parasitos que afetam, 885t
protozoários do, 795-808
verrugas do, 489

Trematódeos
hepático chinês, 848-849, 848f, 849f
hepático da ovelha, 846-847, 847f

Trematódeos (fascíolas), 845-854
de importância médica, 845, 846t
distribuição dos, 71t
esquistossomos, 850-854
Fasciola hepatica, 846-847, 847f
Fasciolopsis buski, 845-846, 846f, 847f
fisiologia dos, 67t
Opisthorchis sinensis, 848, 849, 848f, 849f
Paragonimus westermani, 849-850, 849f, 850f
transmissão dos, 71t

Trematódeos hepáticos de ovelha, 846-847, 847f

Trematódeos pulmonares, 849-850, 849f, 850f

Trematódeos sanguíneos, 852f, 853-854

Trematódeos sanguíneos orientais, 852f, 853

Treponema, 397-403, 398q
diagnóstico laboratorial de, 400-402, 400t
doenças causadas por, 397, 398q
características clínicas das, 399, 399f
tratamento das, 402
epidemiologia do, 398
estrutura do, 397
fisiologia do, 397
mecanismos patogênicos do, 397-398, 399f
não venéreo, 402-403, 402f
resposta imunológica ao, 397-398

Treponema carateum, 397, 398q, 402

Treponema pallidum, teste de aglutinação de partículas, 401

Triatomídeos, 824-826, 825f, 881-882, 881f

Triazóis, 682t

Trichinella britovi, 836

Trichinella pseudospiralis, 836

Trichinella spiralis, 836-837, 836f

Trichoderma, 747, 764-765

Trichoderma longibrachiatum, 747

Trichomonas vaginalis, 800-801, 801f

Trichophyton, 697, 698t, 701-702, 699t, 701t, 699f. *See also Veja também* Dermatofitoses.

Trichuris trichiura, 831-832, 832f

Triclabendazol
    para doenças parasitárias, 792
    para paragonimíase, 850

Triclosan, para antissepsia, 79, 82q

Tricotecenos, 762t, 764-765

Trifluorotimidina, 471, 474

Trifluridina, para infecções pelo vírus herpes simples, 510

Trifosfato de adenosina. *See* ATP (trifosfato de adenosina)

Trimetoprima, 208, 790

Trimetoprima-sulfametoxazol, para ciclosporidiose, 805-806
    para doenças parasitárias, 790
    para infecções estafilocócicas, 222
    para infecções por *Stenotrophomas*, 222
    para isosporíase, 803
    para pneumocistose, 750
    para toxoplasmose, 817

Tripanossomas
    ciclo de vida de, 823f
    doenças causadas por, 822-823, 823t

Tripanossomíase
    Africana, 822-824, 823f
    Americana, 822-826, 825f

Tripomastigotas
    de *Trypanosoma brucei*, 823
    de *Trypanosoma cruzi*, 825

Trismo, no tétano, 376, 377f

Trofócitos, de *Rhinosporidium seeberi*, 758, 759

Trofozoítos
    ameboides, 819
    de *Balantidium coli*, 801f, 802

de *Entamoeba histolytica*, 795-797, 796f, 797f
de *Giardia lamblia*, 799f
de *Plasmodium vivax*, 809, 810f
de *Toxoplasma gondii*, 815, 817
de *Trichomonas vaginalis*, 800, 801f

Tromantadina, 469, 510

Trombose, no pythium insidiosum, 758

Tropheryma whippelii, 267

Tropismo pelo tecido
do vírus de Epstein-Barr, 514
dos parasitos, 772
dos vírus, 48, 48t, 457

Tropismo. *See* Tropismo pelo tecido.

Trypanosoma brucei gambiensel, 823-824, 823f

Trypanosoma brucei rhodesiense, 824

Trypanosoma cruzi, 824-826, 825f

Tsukamurella, 269q, 274

Tuberculose
características clínicas da, 278-279, 279f
diagnóstico laboratorial da, 284-286, 286f
epidemiologia da, 278, 279f
prevenção da, 287
resistente a multifármacos, 287
vacina Calmette-Guérin para, 147-148

Tuberculose cavitária, 279

Tuberculose disseminada, 279

Tuberculose miliar, 279

Tularemia, 353-357, 354q, 355f-356f

Tularemia oculoglandular, 355, 356f

Tularemia pneumônica, 355, 356f

Tularemia tifoide, 355

Tularemia ulceroglandular, 355

Tumores, na sífilis, 400

U

Ubiquitina, 115

Úlcera(s)
- na difteria, 264
- na histoplasmose, 723
- na leishmaníase, 821
- na nocardiose, 271
- na sífilis, 399f, 399
- na tripanossomíase, 823
- nas infecções por *Chlamydia trachomatis*, 435
- nas infecções por *Dracunculus medinensis*, 842-843
- nas infecções por *Haemophilus ducreyi*, 340
- nas infecções por *Helicobacter pylori*, 327327
- nas infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, 333

Undecaprenol (bactocaprenol, C_{55} isoprenoide), 17, 17, 17f

Unha(s)
- candidíase das, 734t
- infecções fúngicas das, 62, 63t
- infecções por tíneas das, 697, 698t, 702, 703, 702f

Unidade de reconhecimento, na ativação do complemento, 105

Unidade formadora de colônia de monócitos-granulócitos, 88f

Unidade lítica, na ativação do complemento, 104f, 105, 106f

Unidades formadoras de colônias, 88f

Ureaplasma urealyticum, 412, 421t
- diagnóstico laboratorial do, 415
- doenças causadas por, 414, 415
- epidemiologia do, 413
- estrutura do, 412
- fisiologia do, 412

Urease, de *Helicobacter*, 325

Uretra, flora microbiana da, 75, 76q

Uretrite
- *Chlamydia trachomatis*, 434
- *Mycoplasma genitalium*, 414

Uukuvirus, 606t

V

Vacina Bacille Calmette-Guérin, 285, 287

Vacina Calmett-Guérin, 147-148

Vacina DPT, 265

Vacina MMR (sarampo, cachumba, rubéola), 149, 561

Vacina para sarampo, cachumba, rubéola, 149, 561

Vacinas com vírus híbridos, 149

Vacinas de DNA, 145, 149

Vacinas de subunidade peptídicas, 149

Vacinas de subunidades, 149

Vacinas e vacinação
- adenovírus, 501
- adjuvantes para, 97, 145, 149
- administração de *booster*, 150
- agendamento para, 154t
- alfavírus, 600
- anticorpos anti-idiótipos nas, 149
- antraz, 252
- *Bacillus anthracis*, 252
- bacilos Calmette-Guérin, 285
- *Bordetella pertussis*, 351
- brucelose, 359
- *Clostridium tetani*, 377
- cólera, 319
- como medida de controle, 467
- *Corynebacterium diphtheriae*, 265
- definição de, 145
- difteria, 265
- direções futuras das, 149
- DNA, 145, 149
- flavivírus, 600
- *Francisella tularensis*, 357
- *Haemophilus influenzae*, 340, 344
- inativadas, 145-146, 146t
- infecções bacterianas, 146-147, 147t
- MMR (sarampo, cachumba, rubéola), 149
- *Neisseria meningitidis*, 297
- papilomavírus humano, 146, 491
- parasitos, 786
- poliovírus, 146, 149, 541-542, 545, 546f, 546t
- problemas com, 150, 150q
- produção de, poxvírus para, 527, 528f
- programas para, 150, 150q, 151f
- qualidades ideais das, 150q

rotavírus, 146, 589
Salmonella, 313
Streptococcus pneumoniae, 241
subunidade de peptídeos, 149
subunidade, 149
tétano, 377
tipos de imunização e, 144-150
tuberculose, 287
tularemia, 357
varíola, 148-149, 529-530
Vibrio cholerae, 319
vírus, 148t
vírus da cachumba, 563
vírus da febre amarela, 600
vírus da hepatite A, 146, 632
vírus da hepatite B, 38, 638-639
vírus da imunodeficiência humana, 625-626
vírus da raiva, 146, 580
vírus da rubéola, 602-603, 603f
vírus da vacínia, 148-149, 530
vírus do sarampo, 558-561, 561q
vírus híbrido, 149
vírus influenza, 146, 149, 574
vírus sincicial respiratório, 565
vírus varicela-zóster, 149, 513
vivas, 146-149, 147f, 148t

Vacinas inativadas, 145-146, 146t, 545, 546t

Vacinas vivas, 146-149, 147f, 148t, 545, 546t

Vacúolo parasitóforo, de microsporídia, 806

Vagina, microbiota normal da, 76, 76q

Vaginite, *Mobiluncus*, 389

Vaginose bacteriana, 389

Valaciclovir, 471-473, 483f
para infecções pelo vírus herpes simples, 510
para varicela, 513

Valganciclovir, para infecções por citomegalovírus, 522

Válvulas cardíacas, prostéticas, infecções estafilocócicas das, 221

Van Leeuwenhoek, Anton, 3, 160

Vancomicina, 203
para infecções estafilocócicas, 222
para infecções por *Bacillus cereus*, 253
para infecções por *Clostridium difficile*, 381
para infecções por *Streptococcus agalactiae*, 235
para infecções por *Streptococcus pneumoniae*, 241
para infecções por *Streptococcus pyogenes*, 232
resistência à, 36, 37f, 222

Vapor de peróxido de hidrogênio, para esterilização, 77, 78q, 80

Variação antigênica, 5
em *Coxiella burnetii*, 427-429
em Enterobacteriaceae, 301

Varicela, 511
características clínicas da, 512-513, 512f
diagnóstico laboratorial da, 513
duração da, 511f
epidemiologia da, 512, 512q
tratamento da, 513
vacinas para, 513

Varicela, 512-513, 512q, 512f

Varíola, 528f, 529-530, 530f
epidemiologia da, 528
erradicação da, 529-530, 529q
história da, 526
mecanismos patogênicos da, 528q
vacinas para, 148-149
variantes da, 529

Varíola bovina, 530

Varíola do macaco, 530

Variolação, 530

VDRL (Laboratório de Pesquisa em Doenças Venéreas) teste, 401

Veillonella
espécies importantes de, 392q, 392t
fisiologia de, 391

Veneno
aranha, 870-871
escorpião, 872
hymenoptera, 882

Verme do coração de cão, 842

Verme do coração, cão, 842

Vermes. *See also* Helmintos.

Vermes chatos (platelmintos), 69

Vermes da Guiné, 842-843, 842f

Vermes da língua (pentastomídeos), 49t, 867, 867f

Vermes em forma de chicote, 831-832, 832f

Vermes redondos. *Veja* Nematódeos.

Verruga peruana, 366-36, 367q

Verrugas, 486, 489, 490f, 491

Vesícula gota de orvalho em uma pétala de rosa, na varicela, 512, 512f

Vesículas
    nas infecções pelo vírus herpes simples, 506
    nas infecções virais, 652, 652t

Vesículas cutâneas, na síndrome da pele escaldada, 216

Vespas, 882

Vespidae, 882

Vetores
    na engenharia genética
        bacteriana, 36, 38f
        viral, 56
    para infecções virais, 465

Vetores clonais, na engenharia genética, 36, 38f

Vetores de expressão, na engenharia genética, 36, 38f

Via alternativa, da ativação do complemento, 105, 104f

Via clássica, da ativação do complemento, 105, 104f, 123, 138

Via da pentose fosfato, 26

Via das lectinas, na ativação do complemento, 105, 104f

Via de Embden-Meyerhof-Parnas, 24-25, 24f, 25f

Via de ligação à maltose, da ativação do complemento, 105, 104f, 123

Via properdina, na ativação do complemento, 105, 104f, 123

Vias aéreas, flora microbiana das, 74, 74q

Vibrio, *314-319*
    diagnóstico laboratorial de, 319
    doenças causadas por, 317-318, 317q
    epidemiologia de, 317
    espécies importantes de, 314, 315q
    estrutura de, 314
    fisiologia de, 314
    mecanismos patogênicos de, 315-317
    sorogrupos de, 314
    toxinas de, 314-317, 316t

Vibrio cholerae, 314, 315q, 315t
    doenças causadas por, 317, 317q, 319
    epidemiologia de, 317
    fisiologia de, 314
    mecanismos patogênicos de, 315-317
    toxinas de, 314-317, 316t
    vacinas para, 319

Vibrio parahaemolyticus, 314, 315q, 315t
doenças causadas por, 317-319, 317q
epidemiologia de, 317
fisiologia de, 314
mecanismos patogênicos de, 317
toxinas de, 317, 316t

Vibrio vulnificus, 314, 315q, 315t
doenças causadas por, 317q, 318
epidemiologia de, 317
fisiologia de, 314
mecanismos patogênicos de, 317
toxinas de, 316t, 317

Vibrionaceae, 314

Viremia, 458
adenovírus, 498
alfavírus, 595-596, 597f
durante a picada do mosquito, 595-596
flavivírus, 595-596, 597f
ortoreovírus, 587
vírus da cachumba, 562-563, 563f
vírus da hepatite C, 640
vírus da rubéola, 600, 600f
vírus varicela-zóster, 511, 511f

Virilha pendente, na oncocercíase, 841

Virilha, infecções por tíneas na, 697, 698t, 701

Vírion(s)
agrupamento de, como alvo antiviral, 471
capsídeos do(s), 41, 43-46, 44q, 45f
defeituosos, 47, 55
DNA, 42t
envelope do(s), 41, 43, 44q, 46, 46f
estruturas do(s), 41, 41f, 43-46, 43f, 44q, 46f
RNA, 43t
rompimento por agente antiviral, 468
tamanhos do(s), 40-41, 43f

Viropexia, na replicação viral, 48-49

Vírus, 40-57, 44q, 46, 46f.*Veja também vírus e doenças específicos*.
ação evasiva dos, 134, 135t, 462
burst size, 47, 47f
capsídeos, 44-46, 44q, 45f
classificação dos, 40, 41f, 41t-43t
como vetores da terapia gênica, 56
crescimento dos, 479-481, 480q, 481f
cultura dos, 480-481
defesas do hospedeiro contra os, 462
definição dos, 3, 41q
descrição dos, 40
DNA, 40, 41f
propriedades do, 42t, 51q

replicação do, 51-52, 51q
envelopados, 44q, 46, 46f, 462, 465
estruturas dos, 40-41, 43-46, 44q, 44f-46f
exposição aos, 464
fita negativa, 52-53
fita positiva, 52
genética dos, 55-56, 55f
genoma dos, 41, 43
isolamento dos, 479-481, 480q, 481f
lentos, 464, 644-648
não envelopados, 464
nomeação dos, 41q
oncogênicos. *See* Vírus oncogênicos.
parental, 55
partículas dos. *See* Vírion(s).
persistência dos, 466
propriedades dos, 41q
replicação dos, 46-55
adesão na célula-alvo na, 47-48, 48t
agrupamento na, 54-55
desnudamento na, 49
DNA, 51-52, 51q
fase inicial, 46-47, 47q, 47f
fase tardia, 47, 47q, 47f
liberação na, 55
modificação pós-traducional da, 54
passos na, 46-47, 47q, 47f
penetração na, 48-49
período de eclipse da, 47, 47q, 47f
período latente da, 47, 47q, 47f
reiniciação da, 55
RNA, 52-53, 53q, 53f
síntese macromolecular na, 50, 49f, 50f
síntese proteica na, 53-54
resposta imunológica aos, 122t, 129-134
RNA, 40, 41f
fita negativa, 46
propriedades do, 42t, 43t
replicação do, 52-53, 53q, 53f
selvagens, 55, 148
tamanhos dos, 43f
transmissão dos, 464-467, 465t

Vírus adenoassociados, 533

Vírus B (herpevírus simiae), 523

Vírus BK
diagnóstico laboratorial do, 493
doenças causadas por, 493-494
epidemiologia do, 489q, 493
estrutura do, 491-492, 492q, 492f
mecanismos patogênicos do, 488q, 492-493, 492f
propriedades características do, 487q
replicação do, 491-492, 492q, 492f

Vírus da cachumba, 149, 562-563, 562q, 563f, 564q, 563f

Vírus da coriomeningite linfocítica, 608-610

Vírus da dengue, 599

Vírus da doença de Borna, 581

Vírus da encefalite equina da Venezuela, 598

Vírus da encefalite de St. Louis, 599

Vírus da encefalite equina do leste, 594, 598

Vírus da encefalite equina do oeste, 594

Vírus da estomatite vesicular, 576

Vírus da febre de Rift Valley, 608

Vírus da floresta de Semliki, 595f

Vírus da hepatite A, 629-632, 630t, 642q
- diagnóstico laboratorial do, 632
- doenças causadas pelo, 631-632, 632f
- epidemiologia do, 631, 631q
- estrutura do, 629, 630f, 631q
- mecanismos patogênicos do, 630-631, 631f
- replicação do, 629-630
- vacinas para, 146, 632

Vírus da hepatite B, 629, 630t, 632-639, 642q
- aspectos peculiares do, 632q
- diagnóstico laboratorial do, 637f, 638, 639t
- doenças causadas pelo
  - aguda, 636-637, 637f
  - características clínicas das, 636-638, 637f
  - carcinoma hepatocelular nas, 637-638
  - crônica, 637
  - fatores de risco para as, 636
  - fulminante, 637
  - tratamento para as, 636q, 638-639
- epidemiologia do, 636, 636f
- estrutura do, 633, 633f
- interações do vírus da hepatite D com, 642, 641f
- mecanismos patogênicos do, 635-636, 635f
- replicação do, 634, 634f, 635f
- resposta imunológica ao, 635-636, 635f
- transmissão do, 636
- vacinas para o, 38, 636q, 638-639

Vírus da hepatite C, 629, 630t, 639-641, 642q
- diagnóstico laboratorial do, 641
- doenças causadas pelo, 639-642, 641f
- epidemiologia do, 639, 640q
- estrutura do, 639
- história do, 639
- mecanismos patogênicos do, 639
- replicação do, 639

resultados do, 641f

Vírus da hepatite D, 629, 630t, 642, 641f, 642q

Vírus da hepatite E, 629, 630t, 643

Vírus da hepatite G, 641

Vírus da imunodeficiência humana, 617-626
ações evasivas do, 618-619
ciclo de vida, 614f
epidemiologia do, 619-620, 619q, 619f, 620t
estrutura do, 612-613, 612f, 613f
genômica do, 613f, 623
infecções com. *See* Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana.
mecanismos patogênicos do, 617-619, 617q, 617f, 618t
origem do, 619, 619f
replicação do, 614-616, 614f-616f
resposta imunológica ao, 617-619, 617f, 618f, 618t
tipo 2, 611, 619-620
transmissão do, 620, 620t
vacinas para, 625-626

Vírus da imunodeficiência símia, 619

Vírus da leucemia, 626, 625t

Vírus da raiva, 576-580
diagnóstico laboratorial do, 479f, 579-580
doenças causadas por, 579-580, 579t
epidemiologia do, 578-579, 578f
estrutura do, 576, 577q, 577f
fisiologia do, 576, 577q, 577f
mecanismos patogênicos do, 576-578, 577q
replicação do, 576
resposta imunológica ao, 578
vacinas para o, 146, 580

Vírus da rubéola, 600-603
diagnóstico laboratorial do, 602
doenças causadas pelo
características clínicas das, 601-602, 602f
congênitas, 600-602, 600f
vacinas para, 602-603, 603f
epidemiologia do, 601, 601f
estrutura do, 600
mecanismos patogênicos do, 600, 600f
resposta imunológica ao, 600-601
vacinas para, 149

Vírus da Vacínia
doenças causadas pelo, 530
estrutura do, 526, 527f
nas vacinas, 148-149
replicação do, 527f

Vírus da varíola, 526

epidemiologia do, 528
mecanismos patogênicos do, 528q
variantes do, 529

Vírus de Marburg, 580-581

Vírus de RNA. *See* Vírus, RNA.

Vírus do oeste do Nilo, 597-599, 602q

Vírus do sarampo, 557-561
atípico, 560
diagnóstico laboratorial do, 479f, 560
doenças causadas pelo, 559-561, 559f, 559t
duração do, 558f
epidemiologia do, 558-559, 558q
mecanismos patogênicos do, 557-558, 557q, 557f, 558f
resposta imunológica ao, 558, 558f
transmissão do, 557, 558
vacina para o, 149, 558-561, 561q

Vírus do sarcoma de Rous, 611

Vírus dos sarcomas, 626, 625t

Vírus Ebola, 580-581, 580f

Vírus envelopado(s), 465

Vírus Epstein-Barr, 513-519, 523q
diagnóstico laboratorial do, 518-519, 518q, 518t
doenças causadas por, 516-519, 517f, 518q, 518t
epidemiologia do, 515-516, 517q
estrutura do, 514, 515t
mecanismos patogênicos do, 514-515, 515q, 516f
replicação do, 514, 515t
resposta imunológica ao, 514-515, 516f

Vírus Hendra, 565

Vírus herpes simples, 503-511, 523q
diagnóstico laboratorial do, 479f, 481f
doenças causadas pelo, 507-511, 508f, 509f, 510q
epidemiologia do, 506-507
estrutura do, 504
genoma do, 496-505
infecções recorrentes com, 506-507, 506q
mecanismos patogênicos do, 505-506, 505q, 506f
replicação do, 504-505
resposta imunológica ao, 506
tipos de, 503-505, 507-509

Vírus influenza, 567-575
aviária (H5N1), 571
características exclusivas do, 568q
diagnóstico laboratorial do, 573-574, 574t
doenças causadas pelo, 567
características clínicas das, 572-573, 573t, 574t

tratamento das, 475, 574
duração do, 570, 570f
epidemiologia do, 570-572, 571f, 572q, 572t
estrutura do, 567-568, 568q, 568f, 569t
genoma do, 567
glicoproteína hemaglutinina do, 46f
linhagens de, 570-572, 571f, 572t
mecanismos patogênicos do, 569-570, 569q
proteínas do, 567-569, 569t
replicação do, 568-569, 569f, 569t
resposta imunológica do, 570
tipos de, 567
trocas antigênicas no, 570-572, 571f, 572q, 572t
vacinas para, 146, 149, 574
visão histórica do, 567

Vírus JC
diagnóstico laboratorial do, 493
doenças causadas por, 493-494
epidemiologia do, 489q, 493
estrutura do, 491-492, 492q, 492f
mecanismos patogênicos do, 488q, 492-493, 492f
propriedades características do, 487q
replicação do, 491-492, 492q, 492f

Vírus Junin, 608, 609

Vírus La Crosse, 605, 608, 607f

Vírus Lassa, 608-610, 609q

Vírus lentos, não convencionais. *See* Príons.

Vírus linfotrófico de células T humanas, 626-627, 625t, 626t
ação oncogênica do, 461
replicação do, 614-616, 616f

Vírus Machupo, 608, 609

Vírus não envelopados, 464

Vírus Nipah, 565

Vírus Norwalk, 551-553, 553q

Vírus oncogênicos, 461, 461f, 655-656
papilomavírus humano, 487, 489f, 490, 490f
retrovírus, 626-627, 625t, 626t

Vírus parainfluenzae, 561-562, 561q

Vírus selvagens, 55

Vírus sincicial respiratório, 563-565, 564q, 565t

Vírus Sindbis, 594

Vírus varicela-zóster, 511-513, 523q

diagnóstico laboratorial da, 513
doenças causadas pelo, 512-513, 512f, 513f
epidemiologia da, 512, 512q
estrutura do, 511
mecanismos patogênicos do, 511-512, 511f
reativado, herpes zóster no, 512, 513, 513f
resposta imunológica ao, 512
vacinas para, 149, 513

Vitamina B_{12}, para infecções por *Dyphillobothrium latum*, 859

Vittaforma, 806-808

Vômito, nas infecções por *Bacillus cereus*, 253

Voriconazol, 686t, 687
para aspergilose, 743
para fusariose, 746
para infecções por *Blastoschizomyces capitatus*, 740
para micetoma eumicótico, 709

W

Wuchereria bancroft, 837-839, 837f-839f

X

Xenodiagnóstico, de doenças parasitárias, 784

Y

Yersinia, 309-311, 310q

Yersinia enterocolitica, 309-311, 310q, 312

Yersinia pestis, 309-311, 310q

Yersinia pseudotuberculosis, 309-311, 310q

Z

Zanamivir, 471, 475, 567, 574

Zidovudina, 471, 473-474

Zigomicose, 705t, 709-711, 710f, 744-745, 744f

Zona de equivalência, no diagnóstico sorológico, 169

Zoonoses. *See also* Doenças parasitárias.
- adiaspiromicose, 751-753, 752f, 753t
- *Anaplasma*, 424-427, 425q
- *Bartonella*, 366-367, 367q, 368f
- *Campylobacter*, 323
- doenças de Lyme, 404-405
- *Ehrlichia*, 424-427
- *Francisella tularensis*, 353-357, 354q, 355f-356f
- infecções por *Yersinia*, 309
- infecções virais, 465
- *Leptospira*, 408-410, 408q
- para infecções por *Chlamydophila psittaci*, 437-438, 438f
- *Rickettsia*, 417-423
- *Streptobacillus moniliformis*, 369-370, 369f
- toxoplasmose, 815-818, 816f
- vírus da raiva, 576-580
- vírus influenza, 570-571, 571f

Zoósporos, de *Pythium insidiosum*, 756

Zigomycetos, 60, 61t