



## ÍNDICE

Título	Número da página
Comentário do Editor	29
WSPID webinars & journal club	30
Uma revisão da artrite séptica em crianças	30 - 33
Uma revisão do citomegalovírus (CMV)	33 - 38
Características laboratoriais de <i>Streptococcus pneumoniae</i> : Um agente patogénico persistente	38 - 41
O diagnóstico laboratorial da febre tifoide	41 - 46
Malária odisséana na província do Cabo Ocidental da África do Sul	46 - 48
Intervenções para reduzir o risco de doença diarreica em crianças	48 - 48
Três ensaios que avaliam a eficácia da vacina conjugada tifoide em ambientes endémicos	48 - 50
Conselho Editorial & Política	51
Diretrizes de Autor	51 - 52
Revisão por pares, revisão de texto, arquivo de informações, taxas de publicação e detalhes de contato	52
Adesão a AfSPID	52

## COMENTÁRIO DO EDITOR

### O FUTURO DAS INFEÇÕES VIRAIS

Desde o início da pandemia COVID-19, há um interesse científico crescente nos vírus animais e no potencial de transmissão de futuras espécies transversais.

Embora os vírus sejam os mais diversos e abundantes organismos vivos, sabemos menos sobre a sua diversidade, evolução e potencial de transmissão de espécies cruzadas do que de outros organismos vivos.<sup>1</sup>

Poucas espécies animais, principalmente as localizadas no filo Chordata foram investigadas para vírus, enquanto a vigilância entre espécies invertebradas tem-se focado principalmente nos vetores comuns da doença, como carraças e mosquitos, ambos localizados na *phylum arthropoda*, um dos 21 invertebrados do filo. Recentemente, o advento da sequenciação da próxima geração metagénica permitiu o estudo do viroma animal,

revelando novos conhecimentos sobre a biodiversidade. Por exemplo, enquanto morcegos e roedores têm demonstrado albergar uma grande variedade de coronavírus, as recentes explorações moleculares documentaram coronavírus em outros vertebrados, como anfíbios e peixes.<sup>1</sup>

Estudos moleculares em larga escala, uma característica da produção científica decorrente da atual pandemia COVID-19, forneceram informações importantes sobre a trajetória evolutiva da SARS-CoV-2. Apesar de descender de um coronavírus de morcegos, a SARS-CoV-2 foi imediatamente bem-sucedida em humanos devido à eficiente transmissão humano-humano. A recém emergida variante Ómicron fornece pistas sobre o futuro relacionamento entre o SARS-CoV-2 e o seu hospedeiro humano, sendo altamente transmissível, exibindo escape imune com perda da actividade de neutralização quando exposta ao plasma de indivíduos vacinados, e causando doença menos severa que as variantes anteriores.<sup>2</sup>

Estima-se que aproximadamente 10.000 vírus circulam em mamíferos selvagens com a capacidade de infetar os humanos. Prevê-se que o derrame zoonótico aumente substancialmente durante os próximos 50 anos. Uma modelação quantitativa robusta sugere que as alterações do clima e da terra causadas pelo aquecimento global aproximarão cada vez mais humanos e mamíferos selvagens, particularmente em áreas de alta densidade populacional, criando muitas oportunidades para a transmissão de vírus entre espécies. No entanto, não é claro como isso irá influenciar a saúde humana.<sup>3</sup>

A resposta à pandemia COVID-19 fornece lições importantes para futuros surtos e preparação para pandemias. O rápido desenvolvimento de diagnósticos, tratamentos e vacinas, bem como avanços epidemiológicos, contribuiu substancialmente para a resposta global à pandemia COVID-19. A gestão de futuros surtos e pandemias contará, sem dúvida, com os contributos da comunidade científica. No entanto, a pandemia COVID-19 também nos ensinou muito sobre os factores mais importantes a serem considerados, nomeadamente: os sistemas de saúde resilientes, superando desigualdades nos países e a nível global, o envolvimento e a participação da comunidade, as redes de segurança social robustas, atenção à comunicação, desinformação, desconfiança da comunidade e cepticismo, fadiga pandémica, saúde mental, e bioética, são os mais relevantes.<sup>4</sup>

Brian Eley, editor

#### Referências

- Harvey E, Holmes EC. Diversity and evolution of the animal virome. *Nat Rev Microbiol* 2022;20:321-334. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00665-x>
- Teleni A, Hodcroft EB, Robertson DL. The Evolution and Biology of SARS-CoV-2 Variants. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2022;12(5):a041390. doi: 10.1101/cshperspect.a041390.
- Carlson CJ, Albery GF, Merow C, et al. Climate change increases cross-species viral transmission risk. *Nature* 2022 Jul;607(7919):555-562. doi: 10.1038/s41586-022-04788-w.
- Moeti M, Gao GF & Herrman H. Global pandemic perspectives: public health, mental health, and lessons for the future. *Lancet* 2022 4;400(10353):e3-e7. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01328-9.

---

## NOTÍCIAS DA SOCIEDADE

---

### WSPID WEBINARS E CLUBE DE DIÁRIO

Em setembro de 2020, a WSPID lançou a sua série webinar, uma das várias inovações destinadas a fortalecer a atividade educativa de doenças infecciosas, nomeadamente entre conferências da WSPID. Até à data, foram acolhidos dez webinars que abordam uma série de tópicos, incluindo o impacto mundial do COVID-19 em crianças menores de 18 anos; gerir crianças com HIV e Tuberculose à sombra de uma pandemia global; A alteração da epidemiologia das infeções virais respiratórias na pandemia COVID-19; Vacinas COVID-19 que vêm à luz: desenvolvimentos atuais e utilização e desafios futuros próximos; resistência antimicrobiana no período pandemia COVID-19 e pós-pandemia; questões emergentes na dengue pediátrica; e a utilidade dos testes sindrómicos para o diagnóstico e gestão da meningite/encefalite. O resultado de profissionais assistindo aos webinars ao vivo tem sido uma média gratificante de 521.

Em abril de 2022, a Young WSPID lançou um *Journal club* global com reuniões planeadas a cada dois meses. A primeira reunião, em 26 de abril de 2022, intitulou-se "segurança e eficácia de uma vacina conjugada tifoide em crianças malaias" e incidiu sobre um ensaio clínico de fase III, publicado no *New England Journal of Medicine*, em setembro de 2021. O apresentador foi o Dr. Tinsae Alemayehu da Etiópia. A segunda reunião, em 28 de junho de 2022, contou com uma publicação do *Lancet* intitulada "antibióticos para a infeção do trato respiratório inferior em crianças que se apresentam nos cuidados primários em Inglaterra (ARTIC-PC): um ensaio duplo-cego, aleatório e controlado por placebo". Este trabalho foi apresentado pela Dra. Inês Silva Costa, de Portugal. A média de presenças ao vivo nestas duas reuniões foi de 71.

As gravações de webinars anteriores e reuniões de *journal club* são arquivadas no portal de e-learning global da WSPID em <https://wspid.org/wspid-global-e-learning-portal/>.

As informações sobre os próximos eventos também podem ser encontradas no portal de e-learning global da WSPID. Por favor, consulte os registos anteriores e inscreva-se para os próximos eventos. A inscrição para o acesso ao portal de e-learning e eventos futuros é gratuita.

---

## COMENTÁRIOS & REVISÕES

---

### UMA REVISÃO DA ARTRITE SÉPTICA EM CRIANÇAS

RC Krause<sup>1\*</sup>, Lisa Jane Frigati<sup>1</sup>, Helena Rabie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Pediatria e Saúde Infantil, Universidade de Stellenbosch e Hospital Académico de Tygerberg, Cidade do Cabo, África do Sul

\*Autor correspondente: [rckrause6@gmail.com](mailto:rckrause6@gmail.com)

---

## Resumo

Diagnosticar a artrite séptica em crianças pode ser um desafio, uma vez que os sinais e sintomas podem não ser específicos. Uma história precisa, exame físico, investigações laboratoriais e de imagem, podem contribuir para o diagnóstico oportuno da artrite séptica e limitar a morbilidade crónica da disfunção articular. O objetivo deste artigo é rever a epidemiologia, características clínicas, fisiopatologia, diagnóstico diferencial, investigações específicas e manejo da artrite séptica em crianças.

## Introdução

A artrite séptica (AS) é uma infeção bacteriana da articulação que ocorre mais frequentemente em crianças com menos de cinco anos de idade<sup>1,2</sup>. Esta condição é uma emergência ortopédica e o atraso no diagnóstico e consequente deficiente manejo pode levar a deficiências para a vida.<sup>2</sup> A AS é tipicamente uma doença mono-articular e as articulações mais afectadas são os joelhos, a anca, e os tornozelos que somam mais de 80% dos casos, podendo no entanto, afectar qualquer articulação.<sup>3</sup> Um estudo retrospectivo feito no Hospital Académico Steve Biko, Pretória, África do Sul, entre 2005 e 2009, descreveu o fenótipo de 44 crianças, com menos de 12 anos de idade com um diagnóstico suspeito de AS<sup>4</sup>. Este estudo descobriu que o joelho era a articulação mais afetada seguida pela anca, ombro, cotovelo e tornozelos.<sup>4</sup>

É sabido que diagnosticar AS em crianças pode ser um desafio, uma vez que os sinais e sintomas se sobrepõem a outras patologias articulares. Isto é especialmente verdade para os recém-nascidos e bebés em que os sinais não específicos podem incluir febre, recusa de alimentação, choro e limitação dos movimentos dos membros. As crianças mais velhas apresentam-se tipicamente com imobilidade articular em associação com febre, mal-estar e dor. Cerca de 20% das crianças têm um historial de lesões no membro afetado ou uma queda não específica antes da apresentação.<sup>3</sup>

Uma história precisa, exame físico, investigações laboratoriais e de imagem podem contribuir para o diagnóstico oportuno da artrite séptica. A gestão da AS inclui a drenagem da articulação afetada e os antibióticos adequados. O objetivo deste artigo é descrever os recentes desenvolvimentos no diagnóstico e gestão da AS.

## Epidemiologia e fatores de risco

A incidência global de AS é de 4 a 10 por 100 000 crianças em países com recursos e 1 em 5000 crianças na África Subsariana. A incidência da AS na África do Sul é desconhecida<sup>3,5-7</sup> devido à falta de literatura em relação à sua epidemiologia.

Uma revisão sistemática de Gigante et al. descreveu os seguintes fatores de risco para o desenvolvimento de AS: crianças jovens, masculinas (bebés e crianças) e presença de qualquer condição imunológica, como prematuridade, baixo peso ao nascimento, pequeno para a idade gestacional e hemoglobinopatia de células falciformes. Reville relata que a incidência de AS em pessoas que vivem com HIV é semelhante à incidência de AS na população em geral, mas que a AS no grupo anterior é geralmente causada por organismos atípicos.<sup>8</sup>

## Fisiopatologia

A artrite séptica ocorre a partir de propagação hematogénica, inoculação direta, difusão a partir de osteomielite próxima ou infeções de tecido mole circundante<sup>3</sup>. No caso de propagação hematogénica, a sementeira bacteriana ocorre com posterior alojamento na sinóvia articular altamente vascular.<sup>9</sup>

Nos recém-nascidos e crianças com menos de 18 meses de idade, os vasos sanguíneos transfiários permitem a comunicação entre a placa de crescimento e a cartilagem epifisiária, fornecendo uma rota para que as bactérias se espalhem de um foco osteomielítico na metáfise para a epífise e, posteriormente, para o lúmen articular e vice-versa. A inoculação direta pode ocorrer através de picadas de animais, lesões penetrantes ou procedimentos médicos tais como a injeção intra-articular do medicamento.<sup>9,10</sup>

Os danos irreversíveis na cartilagem articular são causados por toxinas bacterianas, proteases provenientes de células sinoviais e pelo aumento da pressão da formação de pus dentro da cápsula articular. Esta pressão intracapsular aumentada pode levar à necrose avascular e é especialmente vista na cabeça femoral se a AS não for prontamente tratada. A destruição articular ocorre no prazo de 8 horas após a inoculação bacteriana<sup>3,6,11</sup>, enfatizando a necessidade de diagnóstico urgente e gestão da AS.

### Características clínicas

As características clínicas da AS não são específicas. As crianças podem apresentar uma articulação quente, edemaciada, vermelha e dolorosa que se adequa às manifestações clínicas de uma série de outras patologias articulares. À medida que a infecção progride, os sintomas podem progredir rapidamente ao longo de algumas horas. A inflamação articular provoca o alongamento da cápsula articular, levando à dor com uma gama limitada de movimentos na articulação afetada, bem como febre e mal-estar. AS do membro inferior pode apresentar com pseudo paralisia e recusa em suportar peso. Nos recém-nascidos, os sinais e sintomas da AS podem estar ausentes. Os doentes neonatais podem apresentar irritabilidade, mal-estar e recusa de alimentação. Os médicos devem, assim, manter um elevado índice de suspeita nesta faixa etária. Em contraste com as crianças mais velhas, os doentes neonatais com AS podem ter mais do que uma articulação envolvida.<sup>5</sup>

### Diagnóstico diferencial

*Sinovite transitória (coxitis fugax)*: esta condição apresenta-se numa criança entre os 3 e os 8 anos de idade. É uma condição auto-limitante que é gerida sem antibióticos e não operativamente. Os pacientes apresentam-se com início agudo da dor na anca, recusando-se a suportar o peso na ausência de febre. Os critérios Kocher podem ajudar a diferenciar esta condição da AS. A sinovite transitória é ainda assim plausível mesmo quando não se encontram factores predictivos.<sup>2</sup>

*Artrite idiopática juvenil*: esta condição é tipicamente uma artrite poliarticular e tem um início gradual de sintomas. As articulações apresentam-se edemaciadas e quentes, mas não especialmente dolorosas e a artrite é simétrica.<sup>2</sup>

Outros diagnósticos diferenciais incluem deslizamento da epífise da cabeça do fémur, malignidade, osteomielite, piomiosite e celulite.

### Organismos causadores

*Staphylococcus aureus* continua a ser a causa mais comum da AS. Nos últimos anos, panton-valentine leucocidin (PVL) foi identificado como uma citotoxina produzida por algumas estirpes de *Staphylococcus aureus*. O PVL induz a formação de poros nas membranas celulares do leucócito, atuando assim como um fator de virulência. A produção de PVL *Staphylococcus aureus* na AS está associada a internamentos hospitalares mais longos, infecções complicadas com taxas mais elevadas de choque séptico, uso prolongado de antibióticos e um maior número de intervenções cirúrgicas.<sup>3,12</sup>

Outros agentes patogénicos comuns incluem *Kingella kingae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* e *Haemophilus influenzae* tipo B, Tabela 1.<sup>2-4,13</sup>

Organismos atípicos que causam AS em crianças imunossuprimidas na África do Sul incluem estreptococos do Grupo B, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella spp.*<sup>2,4</sup>

Em casos de organismos fastidiosos, o PCR pode ser realizado no pús. Esta tecnologia não está habitualmente disponível em laboratórios de rotina. No contexto da África do Sul, o pús também deve ser enviado para testes de diagnóstico de tuberculose.<sup>2,5</sup>

### Quadro 1: Agentes patogénicos bacterianos comuns associados à artrite séptica em crianças.<sup>14</sup>

Faixa etária	Patógeno bacteriano
Recém-nascidos	<i>Staphylococcus aureus</i> Estreptococos do Grupo B Bacilo gram-negativo
Bebês e crianças (3 meses a 3 anos)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Kingella kingae</i> Estreptococos do Grupo A <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Hemophilus influenzae</i> (se não vacinado)
Crianças (>3 anos a 11 anos)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Kingella kingae</i>
Adolescentes (>11 anos a <18 anos)	<i>Staphylococcus aureus</i> Infecções gonocócicas (em doentes sexualmente ativos)

### Estudos laboratoriais

Os estudos iniciais devem incluir uma contagem completa de sangue com taxa de sedimentação diferencial, eritrócito (VS), proteína c reativa (PCR) e culturas sanguíneas (CS). Estes testes são úteis para fazer um diagnóstico, mas por si só não podem fazer um diagnóstico definitivo. Os valores normais destes testes não excluem a artrite séptica.

Em 1999, os critérios Kocher desenvolveram-se para ajudar na diferenciação entre a AS e a sinovite transitória da anca em crianças.

Os critérios incluíam os seguintes quatro parâmetros:

- história de febre,
- peso não-afectado,
- VS superior a 40mm/h e
- contagem de glóbulos brancos superior a 12 000 células/mm<sup>3</sup>.

De acordo com o número de parâmetros positivos presentes, a probabilidade do paciente de ter AS da anca é categorizada em probabilidade baixa ou alta. Um diagnóstico de sinovite transitória é plausível quando não são encontrados factores predictivos. Nos últimos anos, os níveis de proteína reativa C (PCR) superiores a 20 mg/L foram adicionados aos critérios Kocher, uma vez que este teste laboratorial geralmente tem um tempo de retorno mais rápido. A probabilidade prevista de AS para os critérios Kocher varia entre 59 e 99,6% e permanece semelhante quando a PCR é adicionada, **quadro 2.**<sup>2</sup>

**Quadro 2: Número de fatores predictivos Kocher presentes e previsíveis e a probabilidade de artrite séptica.<sup>15</sup>**

Número de preditores dos critérios Kocher presentes	Probabilidade prevista de artrite séptica (%)
0	<0.2
1	3.0
2	40.0
3	93.1
4	99.6

### Imagem

A imagem da articulação afetada deve começar com radiografias simples. Isto ajudará no diagnóstico da osteomielite, fraturas ou neoplasias como a causa de uma articulação dolorosa. A artrite séptica aguda provavelmente terá radiografias normais para além do inchaço do tecido mole. Na AS negligenciada, a destruição articular das cartilagens será evidente pelo estreitamento do espaço articular e pela erosão óssea sub-condral. Sublinhe-se que as radiografias simples não são suficientemente sensíveis para diagnosticar ou excluir a AS.<sup>37</sup>

O ultrassom é um teste rápido, não invasivo, não irradiado, que é útil para demonstrar derrames articulares. É especialmente útil na avaliação de articulações profundas, como o ombro e a anca, onde a palpação não consegue detetar de forma fiável um derrame articular. Uma ecografia onde não é detetado qualquer derrame articular nas primeiras 24 horas após o início dos sintomas, deve ser interpretado com cautela. O ultrassom é incapaz de diferenciar entre AS e sinovite transitória.<sup>3,7</sup>

A Ressonância Magnética (RM) é o método de imagem padrão de ouro na AS. Tem uma elevada sensibilidade e especificidade para detetar AS, especialmente nas fases iniciais da doença, **figura 1**. A ressonância magnética também é indicada quando se suspeita que a SA de mais de uma articulação, uma vez que ajudará o cirurgião a planejar a intervenção cirúrgica. Além disso, a necrose avascular pode complicar a AS da anca e a ressonância magnética pode delinear a isquemia precoce. Na AS do ombro e cotovelo existe um alto risco de osteomielite e a ressonância magnética pode diagnosticar estas complicações.<sup>3,7</sup>



**Esta imagem corresponde a uma ressonância magnética do joelho direito de um menino de 6 anos com artrite séptica. Apresenta a efusão articular com (b) espessamento extensivo e realce da sinóvia.**

### Manejo

O pilar do tratamento envolve drenagem rápida e desbridamento de material purulento do espaço articular associado a tratamento precoce com antibióticos.<sup>16</sup>

#### Manejo cirúrgico

As articulações afetadas pelas AS devem ser drenadas. Há três métodos para o conseguir: artrocentese, artroscopia e artrotomia. Uma revisão sistemática feita por Gigante *et al.* não foi capaz de encontrar consenso sobre o tipo de procedimento de drenagem nem o calendário da intervenção para as diferentes articulações. No entanto, os autores consideraram que a intervenção cirúrgica se torna necessária quando o quadro clínico não melhora, e a PCR não diminui nas 24 horas após a utilização do antibiótico.<sup>7</sup>

#### Manejo clínico

Nos hospedeiros imuno-competentes, os antibióticos empíricos que cobrem organismos gram-positivos devem ser selecionados com base em padrões de antibiogramas locais. Os antibióticos também devem cobrir *Staphylococcus aureus* até que os resultados da cultura fiquem disponíveis. Nos hospedeiros imuno-suprimidos, devem ser selecionados antibióticos de largo espectro que abrangem organismos gram-positivos e gram-negativos com base em padrões de antibiogramas locais.

As provas relativas à escolha e duração do tratamento com antibióticos são escassas, uma vez que até agora não foram realizados ensaios de controlo aleatórios.<sup>16</sup> Também não existem informações sobre a duração ótima da utilização dos antibióticos, o tempo de passagem dos antibióticos intravenosos para os antibióticos orais e se o tratamento oral não é inferior ao tratamento intravenoso.

Donders *et al.* recomendam que os antibióticos só devem ser iniciados uma vez que o pus tenha sido colhido para microbiologia, a menos que um paciente tenha sinais de sépsis sistémica, e neste caso os antibióticos devem ser administrados sem demora. A razão para isso é, que o antibiótico administrado antes da amostragem do pús, diminui o rendimento da cultura e, portanto, a adequada terapia antibiótica, o que prolonga a estadia de um paciente no hospital. Gigante *et al.* não diferencia entre o tempo dos antibióticos empíricos, mas diz que os antibióticos devem ser iniciados imediatamente.<sup>27</sup>

O tratamento antibiótico deve ser alterado para antibióticos definitivos assim que os resultados da sensibilidade estiverem disponíveis. A duração do tratamento antibiótico permanece incerta, com alguns autores a concordarem que a resposta do paciente e a normalização da PCR devem ser o principal indicador na decisão sobre a duração da terapia.

### Conclusão

A AS requer reconhecimento e tratamento urgentes para evitar a incapacidade. O agente patogénico mais comum para a AS em crianças continua a ser o *Staphylococcus aureus*. O tratamento envolve terapia antibiótica e drenagem cirúrgica.

## Referências

1. Cohen E, Katz T, Rahamim E, Bulkowstein S, Weisel Y, Leibovitz R, et al. Septic arthritis in children: Updated epidemiologic, microbiologic, clinical and therapeutic correlations. *Pediatr Neonatol*. 2020 Jun 1;61(3):325–30.
2. Donders CM, Spaans AJ, van Wering H, van Bergen CJ. Developments in diagnosis and treatment of paediatric septic arthritis. *World J Orthop*. 2022 Feb 18;13(2):122–30.
3. Montgomery NI, Epps HR. Pediatric Septic Arthritis. *Orthop Clin North Am*. 2017; (48):209–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ocl.2016.12.008>
4. Visser H, Visser A, Goller K, Goller R, Nel J, Snyckers C. Paediatric septic arthritis in a tertiary setting. *SA Orthop J*. 2010; (Winter):92–6.
5. Erkilinc M, Gilmore A, Weber M, Mistovich RJ. Current Concepts in Pediatric Septic Arthritis. *J Am Acad Orthop Surg*. 2021 March 1;29(5):196–206. DOI: 10.5435/JAAOS-D-20-00835.
6. Omoke N, Obasi A. Childhood pyogenic septic arthritis as seen in a teaching hospital South East Nigeria. *Niger J Surg*. 2017;23(1):26.
7. Gigante A, Coppa V, Marinelli M, Giampaolini N, Falcioni D, Specchia N. Acute osteomyelitis and septic arthritis in children: a systematic review of systematic reviews. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23(2 Suppl.): 145-158.
8. Reveille JD. The changing spectrum of rheumatic disease in human immunodeficiency virus infection. *Semin Arthritis Rheum*. 2000 December; (30):147–66.
9. Agarwal A, Aggarwal AN. Bone and Joint Infections in Children: Septic Arthritis. *Indian J Pediatr*. 2016 August; 83(8):825–33. DOI: 10.1007/s12098-015-1816-1.
10. Alderson M, Speers D, Emslie K, Nade S. Acute haematogenous osteomyelitis and septic arthritis – a single disease. *J Bone Joint Surg*. 1986 March; (68 B):268-74.
11. Nade S. Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2003; 17:183-200. Available from: <http://elsevier.com/locate/ynlabr/yberh> DOI:10.1016/S1521-6942(02)00106-7.
12. Darboe S, Dobreniecki S, Jarju S, Jallow M, Mohammed NI, Wathuo M, et al. Prevalence of Pantón-Valentine Leukocidin (PVL) and Antimicrobial Resistance in Community-Acquired Clinical Staphylococcus aureus in an Urban Gambian Hospital: A 11-year period retrospective pilot study. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019 May 22; 9(170):1-7. Available from: <http://frontiersin.org> DOI: 10.3389/fcimb.2019.00170.
13. Ufill-Brown A, Bruins MF, Dix-Peek S, Laubscher M, Bernthal NM, Held M. A clinical decision tool for septic arthritis in children based on epidemiologic data of atraumatic swollen painful joints in South Africa. *Int Orthop*. 2020 September 19; 44:2645-52. DOI: 10.1007/s00264-020-04815-3.
14. Swarup I, LaValva S, Shah R, Sankar WN. Septic Arthritis of the Knee in Children: A Critical Analysis Review. *J Bone Joint Surg*. 2020 February; 8(2):1-12. Available from: <http://dx.doi.org/10.2106/JBJS.RVW.19.00103>.
15. Kocher MS, Zurakowski D, Kasser JR. Differentiating Between Septic Arthritis and Transient Synovitis of the Hip in Children: An Evidence-Based Clinical Prediction Algorithm. *J Bone Joint Surg*. 1999 December 81A;(12):1662-70.
16. García-Arias M, Balsa A, Mola EM. Septic arthritis. *Best Practice Res Clin Rheumatol*. 2011; (25):407–21.

Recebido: 19 abril 2022; Revisto: 28 de maio de 2022;  
Aceite: 7 de junho de 2022

## UMA REVISÃO DO CITOMEGALOVÍRUS (CMV)

Lisa Jane Frigati<sup>1\*</sup>, Helena Rabie<sup>1</sup>, Shaun Lawrence Barnabas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Pediatria e Saúde Infantil, Universidade de Stellenbosch e Hospital Académico de Tygerberg

<sup>2</sup>FAMCRU, Departamento de Pediatria e Saúde Infantil, Universidade de Stellenbosch

\*Autor correspondente: [frigati@sun.ac.za](mailto:frigati@sun.ac.za)

### Resumo

O citomegalovírus humano (CMV) é um vírus ubíquo que tem um impacto significativo na saúde das crianças em África e a nível global. Pode ser adquirido na fase pré-natal, no útero (cCMV) ou pós-natal (pCMV) através de leite materno, secreções genitais ou produtos sanguíneos. O CMV também pode ser transmitido através de transplantes de células estaminais sólidas ou hematopoiéticas.

A apresentação clínica de CMV varia conforme a idade e o estado imunológico, com as crianças que vivem com HIV apresentando complicações significativas pela co-infecção. A maioria das crianças com cCMV são assintomáticas, mas podem desenvolver surdez e atraso do neurodesenvolvimento na infância. A pCMV em bebés prematuros ou com baixo peso ao nascimento pode levar a pneumonite, enterocolite necrotizante ou ainda sépsis.

O Ganciclovir e o valganciclovir, são os únicos fármacos anti-CMV disponíveis na maioria dos países africanos, embora o seu uso não seja generalizado. Estão a ser desenvolvidos novos fármacos e vacinas para melhorar as opções de tratamento e impedir a transmissão do CMV. As estratégias para gerir o cCMV incluem a utilização de durações mais longas do tratamento com ganciclovir como opção de tratamento para prevenir a surdez.

### Introdução

Embora a infeção pelo Citomegalovírus Humano (CMV) seja onnipresente e seja geralmente assintomática ou se apresente como uma mononucleose leve, a infeção congénita e a infeção em crianças imunocomprometidas podem causar doenças complexas e com risco de vida. A infeção por CMV pode contribuir para os maus resultados de saúde em adultos e crianças sem deficiência imunitária<sup>1</sup>.

O objetivo deste artigo é rever as várias apresentações clínicas de CMV em crianças e destacar os avanços na prevenção, diagnóstico e tratamento da infeção por CMV, bem como descrever futuras estratégias inovadoras que estão a ser exploradas.

### Epidemiologia

A CMV humana, também conhecida como herpesvírus humano 5, é um membro da família *herpesvirus* (*Herpesviridae*), da sub-família *beta-herpesvirus* (*Betaherpesvirinae*), e do género Citomegalovírus. O genoma viral contém ADN em dupla fita, que varia em tamanho de 196 000 a 240 000 pares de bases codificando pelo menos 166 proteínas e é o maior dos genomas do herpesvírus humano. O vírus CMV fica em latência persistindo em leucócitos e células do tecido após uma infeção primária. Pode ser produzido intermitentemente levando a uma infeção sintomática, especialmente se o hospedeiro se tornar imuno-suprimido.<sup>2</sup>

A infeção CMV pode ser adquirida no útero (cCMV) ou no período pós-natal (pCMV) através de leite materno,

secreções genitais e produtos sanguíneos. O CMV também pode ser transmitido pelo transplante de células estaminais de órgão sólido ou hematopoiética. O período de incubação das infecções de CMV transmitidas horizontalmente é altamente variável. A infecção apresenta geralmente 3 a 12 semanas após transfusões sanguíneas e entre 1 e 4 meses após o transplante de órgãos. Para a transmissão vertical através do leite materno em bebês prematuros, o tempo médio para o início da virúria CMV é de 7 semanas (intervalo, 3-24 semanas).<sup>3</sup>

A infecção por CMV resulta em várias apresentações clínicas dependentes da idade e do estado imunológico da criança.<sup>4</sup> Os bebês mais velhos podem adquirir CMV nas creches através do contacto direto com o vírus contido em secreções e transmitir o vírus às suas mães ou pessoal da creche.

### Patogênese

O CMV fica em latência no hospedeiro, mas a reativação pode ocorrer em resposta a vários estímulos, o que resulta na infecção de novas células que causam infecção do órgão final. A reativação provoca a libertação de citocinas tais como o fator de necrose tumoral alfa e o gama interferon, resultando em inflamação. As células T CD8+ desempenham um papel fundamental no controlo da infecção e doença por CMV. Portanto, em doentes com deficiência de células T a replicação viral é descontrolada e resulta em produção excessiva de CMV.

A doença grave por CMV está frequentemente ligada à inflamação, incluindo a produção pró-inflamatória de citocinas e é geralmente limitada a situações nas quais o sistema imunitário é significativamente suprimido ou ainda imaturo.

### Diagnóstico

O CMV pode ser diagnosticado através da deteção do vírus (cultura, testes moleculares como PCR ou carga viral) ou através da deteção de anticorpos para o CMV. O diagnóstico é complicado pela ubiquidade do vírus, pela elevada taxa de produção assintomática e pela frequência da reativação.

A maioria dos laboratórios usa agora testes quantitativos de reação em cadeia de polimerase (PCR; carga viral) para diagnosticar doença ativa por CMV e monitorizar a resposta à terapia. Os testes podem ser efetuados numa série de amostras, incluindo líquido cefalorraquidiano, líquido amniótico, leite humano, humor aquoso e vítreo, urina, saliva, aspirados nasofaríngeos e traqueais, bem como sangue; no entanto, a deteção do ADN do CMV nem sempre indica doença. O teste é geralmente feito em urina ou saliva para o diagnóstico de cCMV. As manchas de sangue secas têm demonstrado ter uma baixa sensibilidade para o diagnóstico do cCMV.<sup>5</sup>

Os testes de carga viral podem ser feitos usando plasma ou amostras de sangue inteiro. Valores mais elevados são observados em amostras de sangue inteiro em comparação com o plasma. O mesmo ensaio e tipo de amostra devem ser utilizados para monitorizar os pacientes ao longo do tempo.

O teste COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan CMV é um teste PCR em tempo real que visa o gene da polimerase e é calibrado pela Norma Internacional da Organização Mundial de Saúde (OMS) para quantificar a carga CMV no plasma com uma gama reportada de 137 a 9.100.000 unidades internacionais (IU)/ml. A carga viral é geralmente reportada em IU/mL e como um valor logarítmico. A carga viral pode ser usada para avaliar a resposta ao tratamento.

O CMV pode ser cultivado em fibroblastos humanos. A cultura convencional pode demorar uma a seis semanas para mostrar mudanças citopáticas, pelo que foi em grande parte substituída pela cultura em frasco, que é mais rápida. Esta técnica envolve centrifugação de baixa velocidade e deteção de antígeno precoce CMV antes do desenvolvimento de efeitos citopáticos característicos na cultura do tecido. A centrifugação dos espécimes aumenta a absorção do vírus. As monocamadas celulares são então expostas a anticorpos monoclonais contra antígenos primitivos e a ligação de anticorpos indica a replicação "precoce" do CMV dentro das células.

O exame histológico do tecido é útil para o diagnóstico de doenças invasoras. O diagnóstico baseia-se na presença de organismos de inclusão. Estes são geralmente inclusões intranucleares basófilas, embora hajam inclusões citoplasmáticas eosinofílicas que foram igualmente relatadas. O diagnóstico de CMV em secções de tecido pode ser confirmado por manchas imunocitoquímicas específicas.<sup>6</sup>

Como o CMV fica em latência e o vírus é produzido periodicamente, o diagnóstico da doença do órgão final relacionado com CMV depende da demonstração da presença do vírus CMV com características clínicas e ou histológicas que são sugestivas da doença. A deteção de ADN viral do órgão alvo pode fornecer fortes evidências de que a doença é causada por infecção por CMV. As biópsias pulmonares, embora invasivas e geralmente apenas feitas após a morte, são o "padrão dourado" para o diagnóstico de pneumonia por CMV.<sup>7,8</sup>

A infecção atual e ou anterior por CMV também pode ser avaliada através da serologia, no entanto a IgM CMV pode persistir durante vários meses e pode ser representativa de infecções passadas em vez de infecção atual.

Os ensaios de avides para a IgG medem a força de ligação entre os anticorpos IgG e o CMV. Isto pode ajudar a diferenciar uma infecção primária por CMV de uma infecção passada. Após a infecção primária, os anticorpos IgG têm baixa ligação (baixa avides), mas ao longo de 2 a 4 meses amadurecem e depois têm alta ligação (alta avides). Os testes de avides podem ser usados na gravidez.

### CMV congénito (cCMV)

O CMV é normalmente transmitido de mãe para filho quando a mãe adquire CMV pela primeira vez durante a gravidez ou quando o CMV é reativado durante a gravidez. A IgM CMV pode ser detetada em mulheres grávidas com infecções não primárias, pelo que é frequentemente interpretada juntamente com a avides para a IgG CMV. Uma IgM positiva com uma baixa avides para IgG implica uma infecção recente, enquanto uma elevada avides para IgG implica um menor risco de infecção para o feto. A cCMV é definida como a deteção do vírus CMV na urina ou saliva do recém-nascido antes das 3 semanas de idade. Anteriormente, a idade mais precoce na qual a infecção pré-natal por CMV poderia ser detetada na urina por cultura foi de 3 semanas, proporcionando assim tempo para diferenciar entre infecção perinatal e congénita. No entanto, as amostras agora precisam de ser colhidas o mais rapidamente possível após o nascimento para confirmar a cCMV. A maioria dos recém-nascidos com cCMV são assintomáticos, e apenas cerca de 10% são sintomáticos.

Os recém-nascidos sintomáticos podem apresentar icterícia, petéquias, púrpura, hepatosplenomegalia, microcefalia, calcificações intracerebrais (tipicamente periventriculares) e retinite. O atraso de desenvolvimento e a perda sensorial da audição podem ocorrer entre os bebês afetados na infância e na primeira infância.

Tanto os bebês sintomáticos como assintomáticos podem continuar a desenvolver perda de audição sensorial com cerca de um terço dos recém-nascidos sintomáticos e 10% dos recém-nascidos assintomáticos que desenvolvem perda auditiva. A maioria destes recém-nascidos terá audição normal à nascença.<sup>9</sup> cCMV é a causa não genética mais comum da perda de audição sensorial nos países ricos.<sup>10</sup> Os recém-nascidos sintomáticos tratados com 6 semanas de ganciclovir intravenoso mostraram melhores resultados auditivos.<sup>11</sup> Embora o tratamento com valganciclovir durante 6 meses, tenha melhorado moderadamente os resultados da audição e do desenvolvimento a longo prazo, não houve diferença entre 6 semanas e 6 meses de tratamento, nos resultados da audição aos 6 meses.<sup>12</sup>

Recentemente, análises de amostras iniciais de bebês com cCMV identificaram uma assinatura de 16 genes associada ao desenvolvimento da perda auditiva sensorial com 92% de precisão<sup>13</sup>, o que poderia potencialmente levar a um biomarcador que prevísse a perda auditiva.

**Quadro 1: Prevalência de cCMV em vários países africanos**

Autor & ano publicação	País / Região	Método rastreio	População especial	Prevalência
Schopfer 1978	Costa do Marfim	Cultura da urina	NA	28/2032 (1,4%)
Van der Sande de 2007	Gâmbia	PcR de urina	NA	40/741 (5,4%)
Mwaanza 2014	Zâmbia	Urina e saliva PCR	HIV	15/395 (3,8%)
Manicklal 2013	África do Sul	saliva PCR	HIV	22/748 (2,9%)
Otieno 2019	Quênia	saliva e DBS PCR	NA	39/1078 (3,6%)
Olusanya 2015	Nigéria	Saliva PCR	NA	10/263 (3,8%)
Kaye	Gâmbia	PcR de urina	NA	11/281 (3,9%)
Morgan 2003	Egito	PcR de urina	NA	10/175 (5,7%)
Salwa 2011	Egito	Cultura da urina	NA	2/178 (1,3%)
Pathirana 2019	África do Sul	saliva PCR	HIV + e HIV-	67/2685 (2,5%)
Tshabala 2018	África do Sul	saliva PCR	HIV+ e HIV-	18/302 (6%)

A prevalência de cCMV em África varia entre 1,3 e 6,3%.<sup>14</sup> O Quadro 1 mostra a prevalência de cCMV em vários países africanos. Esta é superior à prevalência global que é de cerca de 1%.<sup>15</sup> As crianças infetadas por HIV estão em maior risco de cCMV do que as que estão expostas ao HIV, mas não estão infetadas.<sup>16</sup> Além disso, o CMV pode aumentar o risco de transmissão do HIV in-utero.<sup>17</sup>

#### CMV pós-natal (pCMV)

O pCMV é definido como a deteção do vírus após 21 dias de vida com a exclusão de cCMV.<sup>18</sup> Os recém-nascidos saudáveis são geralmente assintomáticos provavelmente

como resultado da proteção induzida por anticorpos maternos.

Os recém-nascidos muito prematuros (menos de 32 semanas de idade gestacional) e com peso muito baixo ao nascimento (menos de 1,5kg)(VLBW) estão em risco de uma síndrome parecida com sépsis severa que inclui pneumonite, displasia bronco-pulmonar e enterocolite necrotizante (NEC) após a aquisição de CMV pós-natal por ingestão de leite materno.<sup>19</sup> O CMV quase não é detetado no colostro, mas o ADN do CMV é progressivamente mais detetado no leite materno, a partir das três semanas e atinge um limite máximo no período entre 4 a 8 semanas.<sup>20</sup> Num estudo prospetivo de coorte que seguiu recém-nascidos de mães positivas para CMV, onde os recém-nascidos eram CMV negativos à nascença e foram seguidos durante 14 semanas, cerca de metade dos recém-nascidos prematuros VLBW tornaram-se infetados por CMV e um quinto desenvolveu sintomas clinicamente significativos. Nenhum dos recém-nascidos incluídos neste estudo recebeu tratamento para infeção por pCMV com valganciclovir ou ganciclovir durante o período de estudo.<sup>21</sup> Aqueles que ficaram infetados por CMV tiveram estadias hospitalares mais longas e mais episódios de neutropenia prolongada. No entanto, a NEC e a displasia bronco-pulmonar não foram mais prevalentes nos recém-nascidos que, entretanto, se infetaram por CMV.

Uma síndrome infecciosa semelhante á mononucleose com febre prolongada e hepatite leve, pode ocorrer em cerca de 10% de crianças e adolescentes imunocompetentes.

#### CMV e HIV

Como anteriormente declarado a infeção cCMV é mais comum em crianças infetadas por HIV e pode aumentar o risco de transmissão in-útero do HIV. Além disso, pode ter impacto nas crianças expostas ao HIV e não infetadas, como observado num estudo feito na Zâmbia, onde a infeção por citomegalovírus estava associada a um fraco crescimento e a um menor desenvolvimento cognitivo.<sup>22</sup> Além disso, as crianças que não estão em terapia antirretroviral (TARV) podem apresentar pneumonia, esofagite, colite, retinite, meningoencefalite ou mielite transversal.<sup>23,24</sup> Uma síndrome que inclui febre, trombocitopenia, leucopenia e hepatite leve também pode ser típica de infeção por CMV.

O citomegalovírus humano é um indutor da ativação imunitária e da inflamação em pessoas imunocomprometidas.<sup>25,26</sup> Foram ainda observados níveis mais elevados de IgG específico para CMV associados à aterosclerose em adultos em TARV.<sup>27</sup> Numa coorte italiana de adultos em TARV e em supressão viral, a seropositividade para CMV foi associada a uma incidência 2 a 3 vezes maior de eventos cardiovasculares.<sup>28</sup> Além disso, em adultos assintomáticos que vivem com HIV, que foram tratados com valganciclovir, foi observada uma marcada diminuição dos biomarcadores inflamatórios que prevêm fortemente o enfarte do miocárdio e a inflamação arterial (sCD163 e sICAM-1).<sup>29,30</sup> Existem evidências limitadas sobre como a infeção por CMV poderá influenciar a aterosclerose ou eventos cardiovasculares em crianças perinatalmente infetadas por HIV.

#### CMV e TB

Recentemente, a associação entre CMV e tuberculose (TB) foi destacada num estudo, que mostrou que os bebês que adquiriram CMV antes dos 24 meses de idade, apresentavam um risco acrescido de tuberculose entre os 1 e os 9 anos com uma relação de risco ajustada de 4,2 (95% CI 2.0-8,8; p<0000). Aqueles com uma carga viral alta de citomegalovírus parecem estar em maior risco.<sup>31</sup> Curiosamente, a infeção por CMV não estava associada

a taxas mais elevadas de conversão do teste de tuberculina, mas sim à progressão da infecção para a doença. Um outro estudo de caso-controle em bebês sul-africanos concluiu que a presença de respostas IFN- $\gamma$  específicas ao citomegalovírus estavam associadas a células CD8+ T ativadas e a um aumento de 22 vezes no risco de tuberculose.<sup>32</sup>

### CMV em crianças com deficiências imunitárias primárias

Bebês com uma deficiência imunológica primária da função celular, por exemplo, deficiência imunológica combinada grave; os distúrbios de células NK também podem apresentar uma infecção pCMV grave ou fatal.<sup>33</sup>

Infeção por CMV em crianças com distúrbios celulares NK pode levar a linfo-histiocitose hemo-fagocítica (HLH). Esta é uma condição de risco de vida caracterizada por ativação imunitária excessiva e pode ser diagnosticada clinicamente quando os pacientes cumprem cinco de oito critérios: febre, esplenomegalia, citopénias que afetam duas ou mais linhagens sanguíneas, hipertrigliceridemia e/ou hipofibrinogenemia, hemofagocitose, atividade celular NK baixa/ausente, hiperferritinemia e altos níveis de receptores solúveis para interleucina 2<sup>34</sup>. Além disso, a infecção por CMV ativa e latente induz respostas inflamatórias sistêmicas sustentadas e desregulação imunitária e predispõe os pacientes ao desenvolvimento de fenômenos auto-imunes.<sup>35</sup> A CMV persistente também pode conduzir a progressão para a malignidade linfóide. A retinite, colite e pneumonite CMV também podem ser observadas em crianças com deficiências imunitárias primárias.

### Tratamento

A terapia antiviral não é geralmente indicada para infecções CMV em crianças imunocompetentes. Para o cCMV sintomático, o tratamento com ganciclovir ou valganciclovir (dependendo da gravidade da doença) é recomendado por 6 meses e deve ser iniciado no primeiro mês de vida e logo que o diagnóstico seja confirmado. A colite e pneumonite pCMV são também indicações para o tratamento com Ganciclovir. O tratamento é geralmente continuado até que haja resolução clínica, mas por pelo menos 3 semanas e muitas vezes até 6 semanas.

A tabela 2 resume os fármacos que têm sido usados para tratar a CMV. Apenas 5 medicamentos foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento do CMV: Foscarnet (1991), Ganciclovir (1994), Valganciclovir (2001), Cidofovir (1996) e Letemovir (2017).

### Mesa 2. Medicamentos para o tratamento da infecção por CMV

Droga	Rota da Administração	Toxicidade
<b>Rio Ganciclovir</b>	Intravenoso	mielotoxicidade + nefrotoxicidade
<b>Valganciclovir</b>	oral	mielotoxicidade + nefrotoxicidade
<b>Foscarnet</b>	Intravenoso	mielotoxicidade + nefrotoxicidade
<b>Cidofovir</b>	Intravenoso	mielotoxicidade + nefrotoxicidade
<b>Brincidofovir</b>	oral	mielotoxicidade + nefrotoxicidade
<b>Letemovir</b>	Oral e Intravenoso	nenhuma
<b>Maribavir</b>	oral	diseugia, náusea, diarreia, vômitos

Ganciclovir/valganciclovir (prodruga de Ganciclovir) contém quinases fosforiladas específicas para CMV são incorporadas no ADN viral e inibem a polimerase viral atuando como um exterminador de cadeia. A resistência desenvolve-se através de mutações em UL97 que codificam quinases virais ou mutações em UL54 que codificam a polimerase viral.

Foscarnet inibe o local de ligação do pirofosfato na polimerase viral, enquanto Cidofovir ou Brincidofovir (seu derivado oral) também é fosforilado por quinases celulares e atua como um exterminador de cadeia. A polimerase viral é o alvo comum e certas mutações na UL54 podem conferir resistência cruzada ao ganciclovir e ao Foscarnet. Como resultado da resistência cruzada, bem como da toxicidade hematológica e nefrotoxicidade dos fármacos anti-CMV atualmente disponíveis, estão a ser desenvolvidos novos fármacos.

Letemovir inibe a fase terminal do ciclo de vida viral, visando a sub-unidade pUL56 do complexo enzimático exterminador. É específico da CMV e não tem atividade contra o vírus herpes simplex (HSV). Pode ser administrado oralmente ou por via intravenosa e é atualmente aprovado para recetores de transplante de células estaminais para adultos. Infelizmente, tem uma barreira baixa para a resistência e uma única mutação pode levar à resistência.<sup>36</sup>

Maribavir, um benzimidazol, é um inibidor competitivo da ligação ATP ao pUL97 (uma quinase proteica que fosforilase e outras proteínas essenciais para o ciclo de vida viral).<sup>37</sup> Mutações em UL97 e UL27 conferem resistência. O pUL97 é necessário para a fosforilação e atividade antiviral de ganciclovir, assim ganciclovir e maribavir são antagonísticos. Tem atividade in vitro contra o vírus Epstein Barr (EBV), mas não HSV 1 e 2, vírus Varicella Zoster, vírus Herpes Humano 6 e 8. Pode causar disgeusia.<sup>38</sup> A indicação primária para Maribavir é para infecção latente e CMV refratário, no entanto a recorrência foi documentada. Está disponível para uso compassivo para crianças no Reino Unido e já foi descrita resistência nesta população.<sup>38</sup>

A imunoglobulina humana passiva (HIG) tem sido usada para impedir a transmissão de CMV da mãe à criança e retardar a progressão da doença de CMV em doentes com transplante de órgãos sólidos. Um anticorpo monoclonal que imitaria esta resposta seria de grande benefício. Estão em curso ensaios para o TRL345 e este parece ser o candidato mais promissor.<sup>39</sup>

As sirtuínas são antivirais direcionados para o hospedeiro (HTAs) que são direcionados contra os processos das células hospedeiras dos quais os vírus são dependentes. Em comparação com os antivirais que atuam diretamente, as HTAs têm o potencial de reduzir ou eliminar a resistência viral e demonstrar uma atividade de largo espectro. As HTAs de primeira geração, tais como os interferões, ativam amplamente as respostas imunes inatas e adaptáveis do hospedeiro (por exemplo, hepatite B e C), mas são limitadas pela toxicidade.

### Prevenção

Devido à ubiquidade da infecção da CMV, o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz é de grande interesse. No entanto, existem três grandes obstáculos para alcançar este objetivo: a falta de clareza quanto à melhor população a ter em frente para a vacinação (mães grávidas ou lactentes a amamentar); obstáculos virológicos como a latência do CMV, a reativação da doença por CMV durante períodos de supressão imunitária e, a capacidade do CMV de evitar a resposta imunitária utilizando a propagação celular; e



obstáculos laboratoriais, tais como correlações desconhecidas de proteção e falta de modelos animais disponíveis para experimentação.<sup>40,41</sup>

Os primeiros esforços publicados foram em meados da década de 1970, que utilizaram vírus atenuado, mas estes não forneceram proteção clínica suficiente.<sup>42,43</sup> Embora tenha sido desenvolvido um número crescente de candidatos à vacina, nenhum foi ainda licenciado. As vacinas atenuadas ao vivo com base numa estirpe AD169 atenuada estão atualmente a ser submetidas a um ensaio de fase 2 no Japão.<sup>44</sup> As vacinas de sub-unidade que contêm apenas as partes antigénicas do CMV foram descritas desde a década de 1990.<sup>45</sup> No entanto, estas vacinas precisam frequentemente de impulsionar ou conjugar um adjuvante devido à sua pobre imunogenicidade e o ensaio mais recente de 2016 mostrou uma vacina que era segura, mas não eficaz.<sup>46</sup> Outros métodos que foram experimentados incluem a vacina vectorada por vírus utilizando o Vaccinia Ancara modificado ou o vírus da coriomeningite linfocítica; vacinas quiméricas pepídicas que colocam genes patogénicos de codificação de antígenos em organismos seguros e, mais recentemente, vacinas de RNA mensageiro que utilizam metodologia semelhante à utilizada nas vacinas bem-sucedidas para o COVID foram igualmente alvo de ensaios.<sup>47-49</sup>

O Valganciclovir tem sido usado para prevenir cCMV em grávidas positivas para o CMV.<sup>50</sup> A globulina hiper-imune não foi capaz de impedir de forma consistente o cCMV em mulheres grávidas que eram CMV positivas.<sup>51</sup>

## Conclusão

Em resumo, o CMV é um vírus omnipresente que muitas vezes pode ser assintomático, mas pode causar um peso significativo de morbilidade em crianças através de várias apresentações clínicas. O diagnóstico pode ser feito em múltiplas amostras de diferentes origens e geralmente requer técnicas moleculares, bem como a presença clínica ou histológica da doença. Há relativamente poucos medicamentos licenciados para o tratamento da infeção por CMV, no entanto estão a ser desenvolvidos novos fármacos e vacinas para prevenir a infeção por CMV.

## Referências

1. Griffiths PD. Burden of disease associated with human cytomegalovirus and prospects for elimination by universal immunisation. *The Lancet Infectious Diseases* 2012; 12(10): 790-8.
2. Dupont L, Reeves MB. Cytomegalovirus latency and reactivation: recent insights into an age old problem. *Reviews in Medical Virology* 2016; 26(2): 75-89.
3. Kurath S, Halwachs-Baumann G, Müller W, Resch B. Transmission of cytomegalovirus via breast milk to the prematurely born infant: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection* 2010; 16(8): 1172-8.
4. Adler SP. Cytomegalovirus and child day care: risk factors for maternal infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 1991; 10(8): 590-4.
5. Koontz D, Baecher K, Amin M, Nikolova S, Gallagher M, Dollard S. Evaluation of DNA extraction methods for the detection of cytomegalovirus in dried blood spots. *Journal of Clinical Virology* 2015; 66: 95-9.
6. Wreghitt T, Teare E, Sule O, Devi R, Rice P. Cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clinical Infectious Diseases* 2003; 37(12): 1603-6.
7. Goussard P, Kling S, Gie R, et al. CMV pneumonia in HIV-infected ventilated infants. *Pediatric Pulmonology* 2010; 45(7): 650-5.
8. Chintu C, Mudenda V, Lucas S, et al. Lung diseases at necropsy in African children dying from respiratory illnesses: a descriptive necropsy study. *The Lancet* 2002; 360(9338): 985-90.
9. Fowler KB, McCollister FP, Dahle AJ, Boppana S, Britt WJ, Pass RF. Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *The Journal of Pediatrics* 1997; 130(4): 624-30.
10. Fowler KB, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus (CMV) infection and hearing deficit. *Journal of Clinical Virology* 2006; 35(2): 226-31.
11. Kimberlin DW, Lin C-Y, Sánchez PJ, et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *The Journal of Pediatrics* 2003; 143(1): 16-25.
12. Kimberlin DW, Jester PM, Sánchez PJ, et al. Valganciclovir for symptomatic congenital cytomegalovirus disease. *New England Journal of Medicine* 2015; 372(10): 933-43.
13. Ouellette CP, Sánchez PJ, Xu Z, et al. Blood genome expression profiles in infants with congenital cytomegalovirus infection. *Nature Communications* 2020; 11(1): 1-11.
14. Zenebe MH, Mekonnen Z, Claeys G, Padalko E. Congenital cytomegalovirus infections:(no) focus on Africa: a review. *Gynecology & Obstetrics (Sunneyvale Calif)* 2021;11(1): No. 545.
15. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Reviews in Medical Virology* 2007; 17(4): 253-76.
16. Elington SR, Clarke KE, Kouritis AP. Cytomegalovirus infection in human immunodeficiency virus (HIV)-exposed and HIV-infected infants: a systematic review. *The Journal of Infectious Diseases* 2016; 213(6): 891-900.
17. Pathirana J, Groome M, Dorfman J, et al. Prevalence of congenital cytomegalovirus infection and associated risk of in utero human immunodeficiency virus (HIV) acquisition in a high-HIV prevalence setting, South Africa. *Clinical Infectious Diseases* 2019; 69(10): 1789-96.
18. Kadambari S, Whittaker E, Lyall H. Postnatally acquired cytomegalovirus infection in extremely premature infants: how best to manage? *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition* 2020; 105(3): 334-9.
19. Martins-Celini FP, Yamamoto AY, Passos DM, et al. Incidence, risk factors, and morbidity of acquired postnatal cytomegalovirus infection among preterm infants fed maternal milk in a highly seropositive population. *Clinical Infectious Diseases* 2016; 63(7): 929-36.
20. Prendergast AJ, Goga AE, Waitt C, et al. Transmission of CMV, HTLV-1, and HIV through breastmilk. *The Lancet Child & Adolescent Health* 2019; 3(4): 264-73.
21. Bimboese P, Kadambari S, Tabrizi SN, et al. Postnatal Cytomegalovirus Infection of Preterm and Very-low-birth-weight Infants Through Maternal Breast Milk: Does It Matter? *Pediatr Infect Dis J* 2022 Apr 1;41(4):343-351. doi: 10.1097/INF.0000000000003400.
22. Bates M, Brantsaeter AB. Human cytomegalovirus (CMV) in Africa: a neglected but important pathogen. *Elsevier*; 2016. p. 136-42.
23. Goussard P, Gie R. The role of bronchoscopy in the diagnosis and management of pediatric pulmonary tuberculosis. *Expert Review of Respiratory Medicine* 2014; 8(1): 101-9.
24. Zampoli M, Morrow B, Hsiao N-Y, Whitelaw A, Zar HJ. Prevalence and outcome of cytomegalovirus-associated pneumonia in relation to human immunodeficiency virus infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2011; 30(5): 413-7.
25. Schnittman SR, Hunt PW. Clinical consequences of asymptomatic cytomegalovirus in treated human immunodeficiency virus infection. *Curr Opin HIV AIDS*. 2021;16(3):168-176. doi: 10.1097/COH.0000000000000678.
26. Patel EU, Gianella S, Newell K, et al. Elevated cytomegalovirus IgG antibody levels are associated with HIV-1 disease progression and immune activation. *AIDS* 2017; 31(6): 807-13.
27. Hsue PY, Hunt PW, Sinclair E, et al. Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific T-cell responses. *AIDS* 2006; 20(18): 2275-83.
28. Lichtner M, Cicconi P, Vita S, et al. Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe

- non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. *The Journal of Infectious Diseases* 2015; 211(2): 178-86.
29. Subramanian S, Tawakol A, Burdo TH, et al. Arterial inflammation in patients with HIV. *JAMA* 2012; 308(4): 379-8.
  30. Tenorio AR, Zheng Y, Bosch RJ, et al. Soluble markers of inflammation and coagulation but not T-cell activation predict non-AIDS-defining morbid events during suppressive antiretroviral treatment. *The Journal of Infectious Diseases* 2014; 210(8): 1248-59.
  31. Martinez L, Nicol MP, Wedderburn CJ, et al. Cytomegalovirus acquisition in infancy and the risk of tuberculosis disease in childhood: a longitudinal birth cohort study in Cape Town, South Africa. *The Lancet Global Health* 2021; 9(12): e1740-e9.
  32. Müller J, Tanner R, Matsumiya M, et al. Cytomegalovirus infection is a risk factor for tuberculosis disease in infants. *JCI Insight*. 2019;4(23):e130090. doi: 10.1172/jci.insight.130090.
  33. Miguel CPV, Mejias A, Ramilo O, Ardura MI, Sánchez PJ. Cytomegalovirus meningitis in an infant with severe combined immunodeficiency. *The Journal of pediatrics* 2016; 173: 235-7.
  34. Bateman CM, Kesson A, Powys M, Wong M, Blyth E. Cytomegalovirus Infections in Children with Primary and Secondary Immune Deficiencies. *Viruses* 2021; 13(10): 2001.
  35. Gugliesi F, Pasquero S, Griffante G, et al. Human Cytomegalovirus and Autoimmune Diseases: Where Are We? *Viruses* 2021;13(2):260. doi: 10.3390/v13020260.
  36. Imlay HN, Kaul DR. Letermovir and maribavir for the treatment and prevention of cytomegalovirus infection in solid organ and stem cell transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases* 2021; 73(1): 156-60.
  37. Prichard MN. Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir. *Reviews in Medical Virology* 2009; 19(4): 215-29.
  38. Houldcroft CJ, Bryant JM, Depledge DP, et al. Detection of low frequency multi-drug resistance and novel putative maribavir resistance in immunocompromised pediatric patients with cytomegalovirus. *Frontiers in Microbiology* 2016; 7: 1317.
  39. Acosta E, Bowlin T, Brooks J, et al. Advances in the development of therapeutics for cytomegalovirus infections. *The Journal of Infectious Diseases* 2020; 221(Supplement\_1): S32-S44.
  40. La Rosa C, Diamond DJ. The immune response to human CMV. *Future Virology* 2012; 7(3): 279-93.
  41. Griffiths P, Baraniak I, Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus. *The Journal of Pathology* 2015; 235(2): 288-97.
  42. Plotkin S, Furukawa T, Zygraich N, Huygelen C. Candidate cytomegalovirus strain for human vaccination. *Infection and immunity* 1975; 12(3): 521-7.
  43. Elek S, Stern H. Development of a vaccine against mental retardation caused by cytomegalovirus infection in utero. *The Lancet* 1974; 303(7845): 1-5.
  44. Merck SD. C. Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase 2b, Multi-Center Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Efficacy and Immunogenicity of a 2-Dose and a 3-Dose Regimen of V160 (Cytomegalovirus [CMV] Vaccine) in Healthy Seronegative Women. *CTRN Ao*, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03486834>.
  45. Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase 2b, Multi-Center Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Efficacy and Immunogenicity of a 2-Dose and a 3-Dose Regimen of V160 (Cytomegalovirus [CMV] Vaccine) in Healthy Seronegative Women, 16 to 35 Years of Age. 2021.
  45. Gonczol E, Ianacone J, Ho W, Starr S, Meignier B, Plotkin S. Isolated gA/gB glycoprotein complex of human cytomegalovirus envelope induces humoral and cellular immune-responses in human volunteers. *Vaccine* 1990; 8(2): 130-6.
  46. Bernstein DI, Munoz FM, Callahan ST, et al. Safety and efficacy of a cytomegalovirus glycoprotein B (gB) vaccine in adolescent girls: A randomized clinical trial. *Vaccine* 2016; 34(3): 313-9.
  47. La Rosa C, Longmate J, Martinez J, et al. MVA vaccine encoding CMV antigens safely induces durable expansion of CMV-specific T cells in healthy adults. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2017; 129(1): 114-25.
  48. HookipaBiotech GmbH. A Randomized P-C, Phase 2 Study of HB-101, a Bivalent Cytomegalovirus (CMV), Vaccine. *CTRN Ao*, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03629080>.
  49. ModernaTX IAP, Randomized, Observer-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy, Safety, and Immunogenicity of mRNA-1647 Cytomegalovirus (CMV) Vaccine in Healthy Participants 16 to 40 Years of Age. *ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05085366*. Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05085366> (accessed on 22 April 2022).
  50. Shahar-Nissan K, Pardo J, Peled O, et al. Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* 2020; 396(10253): 779-85.
  51. Hughes BL, Clifton RG, Rouse DJ, et al. A trial of hyperimmune globulin to prevent congenital cytomegalovirus infection. *New England Journal of Medicine* 2021; 385(5): 436-44.

Recebido: 22 de abril de 2022; Revisto: 8 de junho de 2022;  
Aceite: 13 junho 2022

## ASSUNTOS LABORATORIAIS

### CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*: UM AGENTE PATOGENICO RESISTENTE

Lutfiyya Shaikjee-Moti<sup>1,2\*</sup>, Elizabeth Prentice<sup>1,2</sup>, Hafsa Deepa Tootla<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Serviço Nacional de Laboratório de Saúde, Microbiologia, Hospital Groote Schuur / Red Cross War Memorial Children's Hospital, Cidade do Cabo, África do Sul

<sup>2</sup>Divisão de Microbiologia Médica, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Cidade do Cabo, Cidade do Cabo, África do Sul

\*Autor correspondente: [Lutfiyya.moti@nhls.ac.za](mailto:Lutfiyya.moti@nhls.ac.za)

#### Resumo

Apesar dos avanços, como a disponibilidade de uma vacina eficaz contra *streptococcus pneumoniae*, o organismo ainda contribui significativamente para a morbidade e mortalidade em todo o mundo, especialmente em crianças. É crucial que ocorram testes precisos de identificação e suscetibilidade do organismo, de forma a permitir uma avaliação precisa da carga da doença, do desenvolvimento de vacinas e de um tratamento ótimo. Aqui, discute-se o diagnóstico laboratorial, os testes de suscetibilidade e o tratamento da infecção por *S. pneumoniae*.

#### Introdução

Apesar da introdução de vacinas contra *streptococcus pneumoniae*, este ainda contribui significativamente para a morbidade e mortalidade elevada em todo o mundo. <sup>1</sup> Este é causa de doenças invasoras, incluindo meningite, bacteriemia ou infecção de outros locais estéreis, tais como empiema e pericardite. <sup>2,3</sup> Manifestações menos graves,

mas ainda importantes, incluem pneumonia na ausência de bacteriemia, otite média e sinusite.<sup>3</sup>

Estima-se que, no ano 2000, as infecções pneumocócicas foram responsáveis por 600 000 mortes em crianças não infetadas por HIV e por mais 95 200 mortes em crianças infetadas por HIV.<sup>1</sup> Após 2010, muitos países com um elevado fardo da doença pneumocócica e que eram elegíveis para financiamento de vacinas da GAVI (*Global Vaccine Initiative Alliance*), introduziram a vacina conjugada pneumocócica (PCV) como parte do seu programa nacional de vacinação.<sup>1</sup> Entre 2000 e 2015, as mortes por infecção pneumocócica diminuíram 51% em crianças não infetadas por HIV e 71% em crianças infetadas por HIV.<sup>1</sup>

No entanto, apesar desta redução da proporção de doenças entre 2000 e 2015, em 2015, estima-se que 294 000 crianças não infetadas por HIV e 23 300 crianças infetadas por HIV tenham morrido, destacando-se o papel continuado que a doença pneumocócica continua a desempenhar na mortalidade infantil.<sup>1</sup> A Índia, a Nigéria, a República Democrática do Congo e o Paquistão foram responsáveis por cerca de 50% destas mortes em 2015, e os esforços sustentados para aumentar a cobertura da vacina contra o PCV nestes países e noutros que ainda não introduziram a vacina, são necessários para combater o fardo da doença, particularmente em crianças de baixo estatuto socioeconómico que estão em risco de morte.<sup>1</sup>

A identificação errada de *S. pneumoniae* não só afeta a estimativa da carga da doença, como também afeta o desenvolvimento de vacinas contra estirpes prevalentes, e também pode atrasar o início do tratamento ideal. Trata-se de um problema frequentemente encontrado nos países em desenvolvimento, que ainda dependem em grande parte de métodos baseados na cultura para a identificação deste organismo. Este artigo resume as características laboratoriais de *S. pneumoniae*, e cobre brevemente os testes de suscetibilidade e as suas implicações no tratamento deste importante agente patogénico, proporcionando assim um breve resumo, tanto para os clínicos como para os profissionais de laboratório

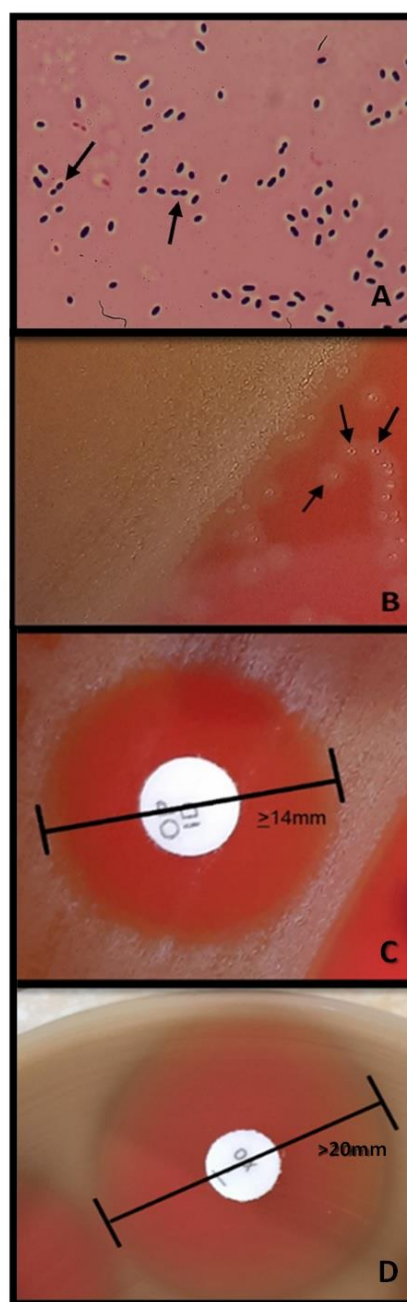
### Diagnóstico laboratorial

A microscopia e a cultura são usadas para identificação comumente em laboratórios de diagnóstico. O Gram normalmente revela diplococci em forma de lanceta, gram-positivo (pares) ou cocci em correntes curtas, Figura 1A. A maioria dos isolados contém uma cápsula extracelular de polissacarídeo que também pode ser visualizada na coloração com Gram (Figura 1A) e pela reação de Quellung. A reação de Quellung é o padrão dourado para serotipar o *S. pneumoniae*. A técnica envolve expor o pneumococcus ao antissistema anticapsular, resultando em melhoria visual da sua cápsula que aparece como uma auréola que rodeia a bactéria quando vista sob um microscópio.<sup>3,4,5</sup>

O *S. pneumoniae* pode ser cultivado em placas de agar de sangue e chocolate que são incubadas durante 24-48 horas a 35-37° C. O crescimento é melhorado em 5% de CO<sub>2</sub>. As colónias parecem pequenas e cinzentas com uma zona verde circundante, causada pela destruição parcial dos glóbulos vermelhos, a que é dado o nome  $\alpha$ -hemólise, figura 1B.<sup>3,4</sup> Estas colónias desenvolvem frequentemente uma depressão central, resultando numa aparência de gotas, figura 1B.<sup>3,4</sup> Alguns serótipos, por exemplo, serótipo três, produzem colónias muito mucoides. *S. pneumoniae* é diferenciado fenotilicamente de outros estreptococos  $\alpha$ -hemólíticos como os estreptococos viridans por suscetibilidade optoquina.<sup>3,4</sup> Optoquina (etilhidrocupreína) é um agente antibacteriano utilizado apenas para a identificação laboratorial de *S. pneumoniae*.<sup>3,4</sup> Ao contrário

dos estreptococos viridans, *S. pneumoniae* apresenta tipicamente suscetibilidade optoquina (tamanho da zona  $\geq$  14 mm) (Figura 1C), embora tenham sido relatados isolados ocasionais resistentes a optoquina.<sup>3,4,6</sup> Adicionalmente, os testes de solubilidade da bílis podem ser utilizados quando os resultados dos testes de optoquina são equívocos e baseiam-se na autólise acelerada de *S. pneumoniae* na presença de desoxiquolato de sódio.<sup>3,4</sup>

A espectrometria de massa de ionização laser assistida por matrizes (MALDI-TOF MS) é um método automatizado alternativo para a identificação de *S. pneumoniae*. No entanto, este método é limitado na sua capacidade de distinguir com precisão entre *S. pneumoniae* e o grupo *S. mitis* devido às suas semelhanças genéticas. A distinção D entre estas espécies foi melhorada pelo uso combinado de um algoritmo novo com uma base de dados MALDI expandida.<sup>7</sup> Alguns laboratórios ainda confirmarão estes resultados usando a suscetibilidade da optoquina.<sup>8</sup>



**Figura 1: Ensaios de rotina realizados no laboratório de diagnóstico para identificação e suscetibilidade de *S. Pneumoniae***

**(A)** Coloração de Gram mostrando diplococci gram-positivo em forma de lanceta (roxo) com cápsula circundante (seta).

**(B)** Colônias de *S. pneumoniae* com aparência de gota e zona verde circundante de  $\alpha$ -hemólise numa placa de agar de sangue

**(C)** Testes de suscetibilidade de optoquinas que indicam que o isolado é *S. pneumoniae* devido a uma zona de inibição  $\geq 14$  mm em torno do disco de optoínc

**D.D.** Teste de rastreio da difusão do disco de Oxacilina com uma zona de inibição da oxacilina  $>20$ mm indicando ausência de mecanismos de resistência à  $\beta$ -lactam.

A Serotipagem é uma ferramenta importante para a vigilância do *S. pneumoniae*. Isto é necessário para monitorizar a propagação da doença e o desenvolvimento de vacinas contra os serótipos causadores das doenças mais predominantes.<sup>9</sup> A distribuição geográfica, a idade da população afetada e a virulência dependem do serótipo específico identificado.<sup>9</sup> Foram identificados 98 serótipos pneumocócicos diferentes com base na composição da cápsula de polissacarídeo.<sup>10</sup> Existem vários métodos para a serotipagem, estes incluem a dactilografia capsular usando antiseria (reação quellung), MALDI-TOF MS e técnicas moleculares baseadas na sequenciação do gene da cápsula.<sup>10</sup> Os métodos moleculares incluem PCR, imunoblot, microarray e sequenciação do genoma inteiro.<sup>9,10</sup>

As limitações da cultura incluem a natureza autolítica e fastidiosa do organismo. Fatores adicionais como a baixa carga bacteriana do organismo dentro da amostra, os atrasos no transporte, a inoculação e a incubação de amostras, bem como o início da terapia antibiótica antes da recolha da amostra, podem levar a falsos resultados negativos da cultura. Para contrariar estas limitações, foram desenvolvidos diagnósticos não baseados na cultura, que incluem os seguintes:

- 1) Testes de deteção de antígenos imunocromatográficos (TIC). Estes são ensaios de fluxo lateral e têm um tempo de reviravolta rápida. Eles incluem o ensaio binaxNOW que é um teste de antígeno urinário que deteta o antígeno C-polissacarídeo de parede, comum a todos os serótipos de *S. pneumoniae*.<sup>4</sup> Também foram utilizados em amostras não urinárias, tais como líquido cefalorraquidiano e fluido pleural.<sup>4</sup> O seu papel é principalmente como uma ferramenta complementar para o diagnóstico. Foram descritos relatos de reatividade cruzada com outros estreptococos viridans.<sup>4</sup> O valor dos testes no diagnóstico de infeções em crianças é questionável, uma vez que o transporte nasofaríngeo de *S. pneumoniae* pode dar origem a resultados positivos.<sup>4</sup>
- 2) Métodos moleculares, incluindo PCR. Os alvos genéticos pneumocócicos comuns incluem *ply*, *lytA*, *psaA* e *piaB*. Em casos negativos de cultura, um PCR *lytA* pode ser complementado com *piaB* para uma melhor identificação. No entanto, devido à semelhança genética entre *S. pneumoniae* e estreptococos viridans, foi descrita a reatividade cruzada.<sup>9</sup> Por esta razão, outros métodos moleculares, incluindo a sequenciação de rRNA 16S, PCR seguidos pela análise do polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (RFLP), da tipografia da sequência multi-locus (MLST) e da

sequenciação do genoma inteiro estão a ser investigados para identificação precisa de *S. pneumoniae*, mas estão fora do âmbito do laboratório de diagnóstico de rotina.<sup>9</sup>

### Testes de tratamento e suscetibilidade

Os antibióticos  $\beta$ -Lactamicos como a penicilina, a ampicilina, a ceftriaxona e o cefotaxime são as opções de tratamento preferenciais para meningite e infeções graves não meningéas. Para a meningite, os agentes alternativos incluem a vancomicina. Para infeções não meningéas, os agentes alternativos incluem macrólidos, tetraciclina e levofloxacina. Os dois últimos podem ser utilizados para o tratamento em adultos, no entanto a sua utilização é contra-indicada em crianças.<sup>5</sup>

Antes de 2008, os pontos de rutura da concentração mínima da penicilina (MIC) para determinar a suscetibilidade a todas as infeções de *S. pneumoniae* basearam-se nos valores mais conservadores utilizados para a meningite pneumocócica (0,06ug/ml).<sup>11</sup> Como tal, foi reportado um número crescente de isolados de penicilina não suscetíveis *S. pneumoniae* (não selvagens).<sup>11</sup> Estes isolados mostraram uma redução da suscetibilidade à penicilina devido a proteínas de ligação da penicilina alteradas, o que resulta numa menor afinidade para  $\beta$ -lactamicos.<sup>12</sup> Esta constatação conduziu ao aumento da utilização de antibióticos de largo espectro no tratamento destas infeções, independentemente do local de infeção.<sup>11</sup> No entanto, posteriormente, estudos demonstraram que os pacientes tratados com doses ótimas de penicilina parenteral para infeções não meningéas causadas por estas estirpes não selvagens com resistência de baixo nível (0,12-2ug/ml) tiveram os mesmos resultados que os pacientes tratados com outros antibióticos.<sup>11</sup> Isto levou à revisão e diferenciação de pontos de rutura com base no local da infeção (meningite versus não meningite), permitindo que os médicos usassem com segurança a penicilina parenteral para tratar a infeção pneumocócica não meningéa com resistência de baixo nível à penicilina (0,12-2ug/ml). No caso das infeções por meningite, os pontos de rutura da penicilina parenteral mantiveram-se baixos e inalterados em 0,06ug/ml, devido ao aumento da mortalidade quando tratados com penicilina, no ajuste da resistência de baixo nível (MIC 0.12-2ug/ml).<sup>11</sup> No entanto, em infeções não meningéas, os pontos de rutura para suscetibilidade da penicilina parenteral foram revistos para  $\leq 2$ ug/ml. Igualmente diferentes pontos de rutura para a suscetibilidade ao cefotaxime e à ceftriaxona existem com base no facto de a infeção ser uma meningite ou uma infeção não meningéa.<sup>12,13</sup>

Para excluir mecanismos de resistência  $\beta$ -lactamica, pode ser realizado um teste de rastreio utilizando a difusão do disco com um disco de oxacilina (1ug). Quando o ecrã estiver negativo (zona de inibição de oxacilina  $\geq 20$  mm), todos os agentes  $\beta$ -lactam para os quais estão disponíveis pontos de rutura glicosídicos podem ser reportados como suscetíveis, Figura 1D. Quando o ecrã é positivo (zona de oxacilina  $<20$  mm), os MICs a estes  $\beta$ -lactamicos devem ser feitos para determinar a suscetibilidade.<sup>12,13</sup> Quando o diâmetro da zona da oxacilina é de  $<8$  mm, isto pode indicar resistência a antibióticos de largo espectro, tais como ceftriaxona/cefotaxime.<sup>12</sup> Nestes casos, deve ser adicionado um antibiótico alternativo, não  $\beta$ -lactamico, para infeção grave, até que os MICs dos  $\beta$ -lactamicos estejam disponíveis.<sup>5,12</sup> Um exemplo disso seria adicionar vancomicina à terapia antibiótica  $\beta$ -lactamica para meningite pneumocócica até que a suscetibilidade  $\beta$ -lactamica seja confirmada.

## Conclusão

Apesar dos avanços como a disponibilidade de uma vacina eficaz contra os serótipos de *S. pneumoniae* que causam infecção, o organismo continua a ser um inimigo de peso. É crucial que ocorram testes precisos de identificação e suscetibilidade do organismo para permitir uma estimativa precisa da carga da doença, o desenvolvimento de vacinas contra estirpes prevalentes e o início de um tratamento ótimo.

## Referências

1. Wahl B, O'Brien KL, Greenbaum A, Majumder A, Liu L, Chu Y, et al. Burden of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae type b disease in children in the era of conjugate vaccines: global, regional, and national estimates for 2000-15. *Lancet Glob Health*. 2018;6(7):e744-e57.
2. Brooks LRK, Mias GI. Streptococcus pneumoniae's virulence and Host immunity: Aging, Diagnostics, and Prevention. *Front Immunol*. 2018;9:1366.
3. Werno AM, Murdoch DR. Medical microbiology: laboratory diagnosis of invasive pneumococcal disease. *Clin Infect Dis*. 2008;46(6):926-32.
4. Bandettini R, Melioli G. Laboratory diagnosis of Streptococcus pneumoniae infections: past and future. *J Prev Med Hyg*. 2012;53(2):85-8.
5. Janoff EN, Musher DM. Streptococcus pneumoniae. Principles and Practice of Infectious Diseases 9th ed Philadelphia: Elsevier. 2019:2473-2490.
6. Isenberg HD. Clinical microbiology procedures handbook. 2nd ed. update. Washington DC: ASM Press; 2007.
7. Harju I, Lange C, Kostrzewa M, Maier T, Rantakokko-Jalava K, Haanperä M. Improved differentiation of Streptococcus pneumoniae and other S. mitis group streptococci by MALDI Biotyper using an improved MALDI Biotyper database content and a novel result interpretation algorithm. *J. Clin. Microbiol*. 2017;55:914-922.
8. Marín M, Cercenado E, Sánchez-Carrillo C, Ruiz A, Gómez AG, Rodríguez-Sánchez B, Bouza E. Accurate Differentiation of Streptococcus pneumoniae from other Species within the Streptococcus mitis Group by Peak Analysis Using MALDI-TOF MS. *Front Microbiol*. 2017;8:698
9. Varghese R, Jayaraman R, Veeraraghavan B. Current challenges in the accurate identification of Streptococcus pneumoniae and its serogroups/serotypes in the vaccine era. *J Microbiol Methods*. 2017;141:48-54.
10. Jauneikaite E, Tocheva AS, Jefferies JM, Gladstone RA, Faust SN, Christodoulides M, Hibberd ML, Clarke SC. Current methods for capsular typing of Streptococcus pneumoniae. *J Microbiol Methods*. 2015;113:41-9.
11. Weinstein MP, Klugman KP, Jones RN. Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus Streptococcus pneumoniae: coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance. *Clin Infect Dis*. 2009;48(11):1596-600.
12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. The EUCAST guideline on detection of resistance mechanisms, version 2.0, 2017. [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCAST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_170711.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf)
13. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd ed. CLSI guideline M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.

Recebido: 31 de dezembro de 2021; Revisto: 11 de março de 2022; Aceite: 14 março 2022

## O DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA FEBRE TIFOIDE

Colleen Bamford<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Pathcare, Leste de Londres, África do Sul

<sup>2</sup>Universidade da Cidade do Cabo, Cidade do Cabo, África do Sul

\*Autor correspondente: [colleen.bamford@pathcare.org](mailto:colleen.bamford@pathcare.org)

## Resumo

A Febre tifoide é uma infecção bacteriana grave. Dada a sua apresentação clínica não específica, o diagnóstico laboratorial é fundamental. Este artigo discute métodos de diagnóstico existentes e potenciais. A cultura, em particular do sangue, continua a ser muito importante, mas tem de ser otimizada em termos de volume e de tempo. Os testes serológicos existentes, incluindo o teste widal desatualizado e outros testes serológicos geralmente carecem de sensibilidade e especificidade suficientes, embora os testes serológicos mais recentes que detetem a imunoglobulina A à lipopolysacarida, a hemolisina E e outros antígenos novos tenham um potencial reconhecido. A reação em cadeia de polimerase multiplex no sangue, após um pequeno passo de pré-enriquecimento, também parece oferecer uma excelente sensibilidade e especificidade, mas nesta fase pode ser mais adequado para estudos de investigação. As limitações da cultura sanguínea como o método de referência existente são notadas, e algumas alternativas serão aqui discutidas.

## Introdução

A febre tifoide é uma infecção bacteriana grave que afetou em 2010, cerca de 11,9 milhões de pessoas, em todo o mundo e causou cerca de 128 775 mortes. <sup>1</sup> A doença ocorre principalmente em países de baixo e médio rendimento (LMIC) na Ásia e África e, embora a maioria (> 70%) dos casos ocorram na Ásia, a incidência da doença pode ser mais elevada em África, com taxas estimadas de até 537-557/100 000 habitantes no Leste e Médio Oriente. <sup>1</sup>

A febre tifoide é uma doença epidémica. A revisão dos dados globais de 1990-2018 mostra que o número e o tamanho dos surtos de febre tifoide estão a aumentar ao longo do tempo, particularmente em LMIC. O tamanho médio dos surtos é muito maior em África em comparação com outras regiões, sugerindo deteção tardia. <sup>2</sup> Tem havido vários surtos em África desde 2010, predominantemente na África Austral e Central, em grande parte devido a uma estirpe ou haplotipo específico resistente a vários fármacos (MDR) chamado H58 que parece ter emergido na Ásia e ter-se espalhado globalmente. <sup>3</sup>

As febres tifoides e paratífoides são causadas por infecção por *Salmonella enterica* serotip e *Typhi* e *Salmonella enterica* serótipos *Paratyphi A*, *B* ou *C* respectivamente. <sup>4</sup> Estes serótipos 'tifoidal' e 'paratyphoidal' infetam apenas os seres humanos. Em contraste, os serótipos de salmonelas "não-tifoidais" tendem a ser associados a uma variedade de hospedeiros animais e em humanos normalmente causam gastro-enterite, embora a doença invasora possa ocorrer na pessoa imunocomprometida. <sup>4</sup> A febre paratifoide é semelhante clinicamente à febre tifoide. Pensa-se que seja menos grave, embora isto tenha sido contestado. <sup>4,5</sup> Atualmente é muito menos comum do que a febre tifoide e parece ser rara fora da Ásia onde *S. paratyphi A* é responsável por até 20% dos casos. O termo febre tífica engloba as síndromes clínicas da febre tifoide

e paratifoide, embora o termo febre tifoide seja por vezes usado intercambiavelmente, com a compreensão de que os serótipos de *S. paratyphi* podem ser os organismos causadores.

As características clínicas da febre entérica não são específicas.<sup>6</sup> Na essência, a febre entérica apresenta-se como uma doença febril indiferenciada prolongada. A febre é uma constatação consistente em pacientes de todas as idades, embora os calafrios e os tremores sejam muito menos comuns nas crianças do que nos adultos.<sup>6</sup> Os sinais clínicos clássicos precoces da febre tifoide, tais como bradicardia relativa e manchas rosáceas podem estar ausentes.<sup>6</sup> Outros sintomas precoces não específicos comuns incluem dor de cabeça, náuseas, vômitos, obstipação, diarreia, tosse e dor abdominal.<sup>6</sup> Hepatomegalia e esplenomegalia também são muito frequentes.<sup>6</sup>

As complicações gastro-intestinais como hemorragia, granulomas/massas abdominais ou perfuração podem ocorrer na 2ª ou 3ª semana, mais frequentemente em crianças ou adultos mais velhos em comparação com crianças pequenas, uma vez que estas refletem uma resposta imune robusta com placas de Peyer bem preparadas.<sup>7</sup> A pancitopenia transitória é uma característica clássica da febre tifoide. Embora isto possa ocorrer em crianças, a leucocitose também ocorre, particularmente entre crianças pequenas.<sup>7</sup> Outras características mais encontradas em crianças pequenas < 5 anos de idade incluem anemia, hepatite e convulsões.<sup>6,7</sup> Além da variação com a idade, pode também haver variação geográfica na natureza de alguns sinais e sintomas, por exemplo, a bradicardia relativa é reportada em 50% dos casos na África Subsariana em comparação com menos de 20% dos casos em outros lugares.<sup>6</sup>

O diagnóstico diferencial da febre tifoide pode ser extenso, incluindo sépsis bacterianas, malária, abdómen agudo e outras doenças febris relevantes localmente, tais como dengue, brucelose ou infeções rickettsiais.<sup>6</sup>

O diagnóstico laboratorial é, portanto, fundamental para o diagnóstico e manejo individual preciso do paciente, bem como para uma melhor compreensão da epidemiologia da doença, e para limitar o uso desnecessário de antibióticos como parte do tratamento. Este artigo discutirá as diferentes opções para o diagnóstico laboratorial e sugerirá futuras direções e ações-chave.

## Cultura

A cultura de *S. typhi* ou *S. paratyphi* de locais estéreis fornece um diagnóstico definitivo da febre tifoide.<sup>4</sup> Além disso, a cultura permite testes de suscetibilidade antimicrobiana e análise molecular que orientam o tratamento e informam as atividades de saúde pública e de controlo de infeções.

O sangue é o tipo de amostra preferida, embora as amostras de fezes ou urina possam produzir resultados positivos em cerca de 30% dos pacientes na segunda semana de doença.<sup>4</sup> Teoricamente, a cultura da medula óssea ainda é considerada o padrão de ouro, uma vez que a sensibilidade é maior, até 90% e menos afetada pela terapia antimicrobiana anterior, mas a medula óssea não é uma amostra prática para recolher em praticamente qualquer cenário clínico. A sensibilidade da cultura sanguínea para o diagnóstico da febre tifoide é reportada como cerca de 60%.<sup>8</sup> Esta sensibilidade modesta pode estar relacionada com a baixa densidade bacteriana encontrada na febre tifoide, onde a mediana de *S. typhi* conta no sangue pode ser de apenas 1 ml (CFU/ml).<sup>9</sup>

Outros fatores para além da terapia antimicrobiana anterior que influenciam o rendimento da cultura sanguínea incluem a duração da doença, uma vez que a sensibilidade é maior na primeira semana de doença, bem como o volume de sangue da amostra. Muitos estudos ou não documentam os volumes de sangue cultivados ou utilizam volumes insuficientes. Uma recente revisão sistemática e meta-análise sugeriu que a sensibilidade aumenta 3% por cada 1 ml de aumento do volume sanguíneo entre 1ml – 10ml.<sup>8</sup> Foi sugerido um volume mínimo de 7ml, uma vez que deveria dar 90% de chance de deteção se a carga bacteriana mediana for de 0,3 CFU/ml, embora  $\geq 10$ ml possa ser necessário.<sup>10</sup>

O volume ideal para a cultura do sangue, em geral, nas crianças, foi considerado um enigma.<sup>11</sup> Existem algumas recomendações baseadas em idades ou em peso, mas estas diferem consideravelmente umas das outras, por exemplo, para uma criança de 8 kg os volumes recomendados variam entre 1,5 ml e 10 ml.<sup>11</sup> Em geral, dada a baixa densidade bacteriana da febre tifoide, seria preferível utilizar volumes na extremidade superior das gamas recomendadas. Fora do período neonatal (idade em que a febre tifoide raramente é uma preocupação) estes volumes são todos inferiores a 1% do volume total de sangue, pelo que devem ser tolerados com segurança na maioria das crianças.<sup>11</sup> Na prática, são frequentemente utilizados volumes mais pequenos, por exemplo, um estudo recente de coorte pediátrica baseada na comunidade cumpriu os requisitos especificados para recolher pelo menos 3ml em crianças  $\leq 3$  anos e pelo menos 5 ml em crianças mais velhas dos 3 aos 15 anos de idade e ainda mostrou que um maior volume de sangue inoculado para a cultura estava independentemente associado à positividade da cultura sanguínea com uma relação de odds (OR) de 2,82 (95% CI, 1.71-4.66).<sup>12</sup>

Os métodos laboratoriais específicos utilizados para a cultura de diferentes tipos de amostras podem igualmente desempenhar um papel no isolamento com sucesso do organismo, por exemplo, para a cultura sanguínea, o meio deve ser um caldo de nutrientes rico contendo um agente de lise, enquanto a ausência de sistemas automatizados de cultura sanguínea em laboratórios LMIC pode contribuir para um baixo rendimento e tempo prolongado para a positividade.<sup>13</sup> O rendimento da cultura das fezes pode ser aumentado através do teste de múltiplas amostras e da utilização de um passo de enriquecimento, como o caldo de selenite.<sup>4</sup>

O isolamento e identificação de organismos causais é complexo e requer protocolos laboratoriais adequados, tais como a utilização de meios seletivos para sítios não estéreis e algoritmos multi-passo para identificação que incluam métodos bioquímicos e serotipagem. A cultura tem um tempo de reviravolta mais lento em comparação com a serologia ou métodos moleculares, enquanto ferramentas mais recentes introduzidas em laboratórios de diagnóstico para acelerar a identificação, como a espectroscopia em massa (MALDI-TOF) não diferenciam os agentes patogénicos da febre entérica de outras espécies de *Salmonella*. Os protocolos de biossegurança são particularmente importantes para prevenir infeções adquiridas em laboratório entre o pessoal que trabalha com culturas concentradas de organismos vivos.<sup>14</sup>

## Métodos moleculares

Teoricamente, métodos moleculares tais como a reação em cadeia de polimerase (PCR) devem ser extremamente sensíveis e específicos, e vários PCRs foram desenvolvidos. Inicialmente, estes *genes-alvo* de *S. typhi* codificam antígenos conhecidos como flagellar H<sup>15</sup> e Vi antígenos<sup>16</sup>, mas posteriormente expandiram-se para

abranger uma ampla gama de alvos únicos em *S. typhi* e *S. paratyphi*.<sup>17,18</sup> Na prática, a sensibilidade, tipicamente em comparação com os métodos de referência imperfeitos da cultura ou uma mistura de cultura e serologia, tem sido decepcionante num máximo de aproximadamente 90%. Isto deve-se possivelmente à baixa carga bacteriana no sangue onde a contagem média de *S. typhi* é de 1 CFU/ml ou menos<sup>9,10</sup> em comparação com o limite mais baixo de detecção de muitos ensaios de PCR de 4 CFU/ml.<sup>10</sup> A necessidade de um MULTIPLEX PCR que também identifique e diferencie simultaneamente a *Salmonella paratyphi A* e as espécies de *salmonelas* não-tifoideias invasoras agrava este problema, uma vez que os PCR multiplex tendem a ter um desempenho pior do que os alvos convencionais.<sup>17</sup>

Foram descritos métodos para aumentar a sensibilidade para a detecção de *S. typhi*, tais como nested PCR<sup>20</sup> bem como métodos para enriquecer as concentrações de ADN bacteriano, removendo o ADN humano<sup>21</sup> e ou incluindo um curto período de incubação para permitir o crescimento bacteriano antes da extração do ADN.<sup>22</sup> O uso recente de tal etapa de incubação e de pré-amplificação, juntamente com um PC multiplex para a detecção de *S. typhi* e *S. paratyphi A*, em pacientes que apresentam uma doença febril de pelo menos 3 dias, sem um foco claro de infecção, mostrou uma sensibilidade e especificidade geral > 92% quando comparado com a cultura do sangue otimizada, usando volumes de sangue verificados, embora geralmente baixos num sistema sanguíneo automatizado.<sup>19</sup> Uma abordagem semelhante no Malawi, em crianças pequenas, que apresentam febre indiferenciada num hospital terciário, mostrou um aumento na detecção de casos de 62-94%.<sup>23</sup> Os métodos moleculares também podem ser aplicados em amostras de tecido intestinal, recolhidas durante a cirurgia em casos com complicações intestinais, em que antibióticos anteriores e presença de flora intestinal normal podem dificultar a detecção baseada na cultura.<sup>24</sup>

As desvantagens adicionais dos testes moleculares incluem complexidade, custo e falta de resultados de suscetibilidade. O tempo de reviravolta pode ser reduzido em comparação com a cultura, desde que os testes sejam efetuados a pedido, em vez de serem processados em lotes ou referidos a um laboratório central distante. Foi descrito um método molecular mais simples e mais acessível, que envolve a pré-concentração, seguido de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) e desenvolvimentos semelhantes podem superar algumas destas desvantagens no futuro.

## Serologia

Em cenários em que as investigações microbiológicas e a cultura não estão facilmente disponíveis, o diagnóstico da febre tifoide baseia-se frequentemente na serologia, nomeadamente no teste de Widal, descrito pela primeira vez em 1896.<sup>26</sup> O teste Widal é um teste de aglutinação que deteta anticorpos em soro a O (Lipopolysacárideo (LPS) e H (flagellin) antigénios de *S. typhi*.<sup>27</sup> É um teste rápido, barato e simples. Teoricamente, o teste deve ser repetido após 7-10 dias para demonstrar um aumento de quatro vezes no título dos anticorpos, mas geralmente a interpretação baseia-se num único teste realizado no momento da apresentação.<sup>28</sup> Existe uma variabilidade considerável no desempenho do teste e esta falta de normalização resulta numa má reprodutibilidade.<sup>26</sup>

O teste Widal carece tanto de sensibilidade como de especificidade. Os falsos negativos podem ocorrer precocemente na doença, os falsos positivos podem refletir infeções ou vacinações anteriores, ou a reatividade cruzada com anticorpos resultantes de outras infeções, incluindo *salmonelas* não-tifoideias ou outras bactérias,

como *Brucella*.<sup>27</sup> Em áreas endémicas têm sido utilizados cortes variados para determinar a positividade, idealmente baseada em valores de base contemporâneos na comunidade local. Os títulos de corte, em uso, variam tipicamente de 1: 40 a 1:200.<sup>29</sup> No entanto, mesmo com cortes personalizados, os resultados dos testes de Widal devem ser interpretados com cautela, por exemplo, num estudo de adultos hospitalizados no Vietname com uma prevalência muito elevada de febre tifoide de aproximadamente 30% num cenário em que as infeções por salmonelas não-tifoideias e a vacinação eram raras e utilizavam títulos moderadamente elevados de > 1:200 ou >: 100 para os antigénios O e H, respectivamente, o valor preditivo positivo (PPV) e o valor preditivo negativo (NPV) foram apenas 86% e 90% respectivamente.<sup>30</sup> Em geral, não é recomendada a utilização do teste Widal para o diagnóstico da febre tifoide.

Ao longo dos anos, foram desenvolvidos vários testes serológicos alternativos. Uma análise de Cochrane em 2016, de testes rápidos de diagnóstico comercial disponíveis, incluiu 37 estudos com mais de 5000 participantes principalmente de áreas altamente endémicas na Ásia. Dezasseis RDTs diferentes foram avaliados, embora 3 ensaios e suas variantes (TUBEX, Typhidot e Test-it Tifo) constituíssem a maioria dos estudos. A análise reportou apenas uma precisão moderada de diagnóstico com sensibilidades que variam entre 70- 85% e especificidades de 80-90% sem evidência de uma diferença entre o desempenho médio dos 3 testes comuns.<sup>31</sup>

Mais impressionante ainda, foi a heterogeneidade geral dos resultados, e a má qualidade geral dos estudos, por exemplo, a maioria dos estudos selecionaram pacientes com base numa suspeita clínica de febre tifoide, embora os critérios para tal suspeita não fossem geralmente indicados, e menos de um terço dos estudos tivessem febre, ou seja a população de pacientes na qual o teste de diagnóstico seria provavelmente aplicado. Além disso, 16 de 37 estudos usaram um projeto de estudo de caso-controlo que é suscetível de sobrestimar a precisão de diagnóstico. Da mesma forma, apenas 3 de 37 estudos utilizaram a cultura da medula óssea como parte do método de referência. A revisão sistemática concluiu que nenhum dos testes era suficientemente preciso para substituir a cultura sanguínea e que eram necessárias avaliações mais robustas de testes rápidos alternativos. Outras revisões sistemáticas têm salientado preocupações semelhantes sobre a qualidade e a heterogeneidade dos estudos de testes de diagnóstico alternativos, observando que não são registados na maioria dos estudos pormenores fundamentais relativos ao ensaio de referência utilizado, como o volume da amostra biológica cultivada e a receção de antibióticos anteriores.<sup>32,33</sup>

Mais recentemente, várias novas técnicas têm sido usadas para identificar novos alvos para uso em testes serodiagnósticos da próxima geração.<sup>34-37</sup> Os alvos identificados incluem LPS, hemolisina E (HlyE), toxina citotal distendente B (CdtB), preparação da membrana (MP), flagellin e vários outros. Os testes que detetam anticorpos isotípos IgA também parecem ser mais precisos em comparação com aqueles que detetam anticorpos IgG ou IgM, possivelmente porque o IgA é produzido de forma mais transitória em comparação com o IgG de longa duração, mas é mais específico e menos propenso a reações cruzadas do que o IgM.<sup>35,38</sup>

Recentemente, um teste imunocromático de cuidados rápidos (POC) foi desenvolvido usando uma tecnologia comercial de dupla plataforma (DPP) que inclui caminhos separados para amostra e conjugado, juntamente com um leitor digital portátil.<sup>39</sup> Com base na detecção de IgA para HlyE e para *S. typhi* LPS, uma avaliação inicial da sua

utilização num pequeno grupo de adultos no Bangladesh, reportou uma sensibilidade de 90% e especificidade de 96% (em comparação com os controlos endêmicos febris). São necessários mais estudos, mas este teste de POC poderá ser uma melhoria importante devido ao rápido tempo de reviravolta, à facilidade de desempenho e à não exigência de equipamento especializado ou de pessoal de laboratório altamente treinado.

### Direções futuras

Para orientar investigadores e profissionais que desenvolvem testes, já foram sugeridas especificações detalhadas para um teste de diagnóstico de tifoide melhorado.<sup>40</sup> Com base numa revisão literária, foi elaborado um perfil de produto-alvo (TPP), incluindo as características mínimas e ideais para 36 parâmetros, e posteriormente refinado utilizando 2 rondas de um inquérito da Delphi com as principais partes interessadas e os peritos. Entre os principais requisitos para o TPP estavam que a população-alvo deveria incluir doentes de todas as idades que apresentem uma doença febril indiferenciada em qualquer ponto da doença ao nível mais baixo do sistema de saúde. O teste deve abranger tanto *S. typhi* como *S. paratyphi*, requerer <1 ml de sangue, custar idealmente apenas \$1 e têm uma sensibilidade de cerca de 90% e a especificidade  $\geq$  95%. Idealmente, um teste POC também precisa de fazer parte de um algoritmo de diagnóstico e tratamento que atende a outras doenças infecciosas febris relevantes localmente.

Parte da dificuldade em desenvolver e avaliar testes de diagnóstico alternativos para a febre entérica é o padrão de referência imperfeito fornecido pela cultura do sangue, ou mesmo da medula óssea. A utilização de um padrão de referência imperfeito pode reduzir a especificidade de um novo teste de diagnóstico, ou seja, o chamado "falso positivo" pode, na verdade, ser um verdadeiro positivo.

As soluções potenciais para este problema incluem a utilização de um padrão de referência composto ou a utilização de uma abordagem bayesiana com análise de classe latente. Um padrão de referência composta (SIR) combina múltiplos testes com boa especificidade, aumentando assim a sensibilidade geral, por exemplo, a cultura positiva do sangue ou da medula óssea ou da urina, ou a cultura positiva e/ou PCR positivo. As vantagens de um SIR em comparação com outras normas alternativas de referência são que pode ser mais claramente definida e é mais simples de interpretar. Foi recentemente feita uma meta-análise para o desenvolvimento de um SIR para a febre tifoide utilizando definições padronizadas claras para facilitar estudos de coorte prospetivo de boa qualidade de novos diagnósticos.<sup>32</sup> Outra meta-análise utilizando um procedimento de rede bayesiana com testes agrupados de análise de classes latentes de acordo com o princípio subjacente, ou seja, deteção de anticorpos, deteção de antígenos, PCR, etc., e apesar do problema semelhante de estudos altamente heterogêneos, foi capaz de tirar algumas conclusões amplas, bem como estabelecer um método de avaliação do desempenho das combinações de testes.<sup>33</sup>

Outras novas abordagens de diagnóstico também estão a ser exploradas para o diagnóstico da febre tifoide, incluindo proteomics,<sup>41</sup> transcriptomics<sup>42</sup> e metabolomics<sup>43</sup>, embora nenhuma tenha sido traduzida em testes para uso clínico de rotina, nem é provável que cumpram os requisitos do Perfil do Produto Alvo num futuro próximo.

### Conclusões

Há uma necessidade de melhorar o diagnóstico laboratorial da febre tifoide. Para maximizar o benefício dos métodos de ensaio existentes, é importante:

1. Otimizar o rendimento das culturas sanguíneas garantindo a recolha de volumes adequados de sangue, pelo menos 7ml em adultos, e pelo menos 3ml em crianças  $\leq$  3 anos e pelo menos 5 ml em crianças mais velhas dos 3 aos 15 anos de idade. As culturas devem também ser tomadas no momento da apresentação antes da administração dos antibióticos.
2. Assegurar que os laboratórios de microbiologia de diagnóstico rotineiro sejam capazes de tarefas complexas necessárias para o isolamento, identificação e teste de suscetibilidade baseados na cultura das espécies de salmonelas de tifoide a partir de sangue e outros espécimes. Isto pode significar um apoio contínuo em termos de um número adequado de pessoal devidamente treinado, desenvolvimento de procedimentos operacionais e algoritmos de ensaio atualizados e um fornecimento fiável dos meios de comunicação e reagentes necessários. Os laboratórios mais pequenos devem ser apoiados por laboratórios de referência ou de saúde pública de maior dimensão, que também desempenham um papel importante no controlo dos surtos de febre tifoide, fornecendo relatórios de vigilância oportunos e precisos, incluindo a tipagem molecular de estirpes.
3. Nas áreas geográficas, onde o teste de Widal continua a ser o único teste prático de diagnóstico disponível atualmente, o seu desempenho e interpretação devem ser cuidadosamente interpretados, e os resultados aplicados com cautela. Os sistemas de saúde precisam de garantir que os pacientes em diferentes níveis de cuidados tenham acesso a testes de diagnóstico fiáveis para a febre tifoide.

São também urgentemente necessários testes de diagnóstico melhorados.

1. Em especial, é necessário um teste de POC com características de desempenho melhoradas para utilização, nomeadamente entre doentes em ambulatório. Idealmente, este teste POC deve satisfazer os requisitos sugeridos do Perfil de Produto Alvo. Ainda não é claro se o teste POC da Plataforma de Dupla Trajetória que direciona o IgA para a HlyE e para o LPS cumpre estes requisitos. No entanto, a identificação de uma variedade de outros antígenos novos e respostas imunes hospedeiras tem potencial para o desenvolvimento de testes rápidos alternativos.
2. São necessários testes moleculares que ofereçam uma melhor sensibilidade, ao mesmo tempo que visam e diferenciam *S. typhi* e *S. paratyphi* e espécies de salmonelas não-tifoideias. Embora tais testes possam não ser práticos como testes de diagnóstico de rotina, podem ser úteis em contextos de investigação como estudos epidemiológicos em situações de elevada carga da doença e como pontos finais secundários em estudos de eficácia da vacina. Métodos moleculares mais simples usando a amplificação LAMP têm potencial para uso futuro como testes que podem ser realizados mais perto de pacientes em laboratórios menores.
3. Os estudos de futuros testes de diagnóstico potenciais devem ser de elevada qualidade, incluindo uma conceção melhorada do estudo, a



otimização da metodologia de cultura sanguínea e a acomodação de um padrão de referência imperfeito.

## Referências

1. Mogasale V, Maskery B, Ochiai RL, Lee JS, Mogasale VV, Ramani E, et al. Burden of typhoid fever in low-income and middle-income countries: a systematic, literature-based update with risk-factor adjustment. *Lancet Glob Health*. 2014;2(10):e570-80.
2. Kim S, Lee KS, Pak GD, Excler JL, Sahastrabuddhe S, Marks F, et al. Spatial and Temporal Patterns of Typhoid and Paratyphoid Fever Outbreaks: A Worldwide Review, 1990-2018. *Clin Infect Dis*. 2019;69(Suppl 6):S499-S509.
3. Wong VK, Baker S, Pickard DJ, Parkhill J, Page AJ, Feasey NA, et al. Phylogeographical analysis of the dominant multidrug-resistant H58 clade of *Salmonella* Typhi identifies inter- and intracontinental transmission events. *Nat Genet*. 2015;47(6):632-9.
4. Crump JA, Sjolund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(4):901-37.
5. Maskey AP, Day JN, Phung QT, Thwaites GE, Campbell JI, Zimmerman M, et al. *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A and *S. enterica* serovar Typhi cause indistinguishable clinical syndromes in Kathmandu, Nepal. *Clin Infect Dis*. 2006;42(9):1247-53.
6. Azmatullah A, Qamar FN, Thaver D, Zaidi AK, Bhutta ZA. Systematic review of the global epidemiology, clinical and laboratory profile of enteric fever. *J Glob Health*. 2015;5(2):020407.
7. Britto C, Pollard AJ, Voysey M, Blohmke CJ. An Appraisal of the Clinical Features of Pediatric Enteric Fever: Systematic Review and Meta-analysis of the Age-Stratified Disease Occurrence. *Clin Infect Dis*. 2017;64(11):1604-11.
8. Antillon M, Saad NJ, Baker S, Pollard AJ, Pitzer VE. The Relationship Between Blood Sample Volume and Diagnostic Sensitivity of Blood Culture for Typhoid and Paratyphoid Fever: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Infect Dis*. 2018;218(suppl\_4):S255-S67.
9. Wain J, Diep TS, Ho VA, Walsh AM, Nguyen TT, Parry CM, et al. Quantitation of bacteria in blood of typhoid fever patients and relationship between counts and clinical features, transmissibility, and antibiotic resistance. *J Clin Microbiol*. 1998;36(6):1683-7.
10. Wain J, Pham VB, Ha V, Nguyen NM, To SD, Walsh AL, et al. Quantitation of bacteria in bone marrow from patients with typhoid fever: relationship between counts and clinical features. *J Clin Microbiol*. 2001;39(4):1571-6.
11. Huber S, Hetzer B, Crazzolaro R, Orth-Holler D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(2):168-73.
12. Srinivasan M, Sindhu KN, Ramanujam K, Ramasamy RK, Subramaniam S, Ganesan SK, et al. Factors Predicting Blood Culture Positivity in Children With Enteric Fever. *J Infect Dis*. 2021;224(Suppl 5):S484-S93.
13. Wain J, Diep TS, Bay PV, Walsh AL, Vinh H, Duong NM, et al. Specimens and culture media for the laboratory diagnosis of typhoid fever. *J Infect Dev Ctries*. 2008;2(6):469-74.
14. Smith AM, Smouse SL, Tau NP, Bamford C, Moodley VM, Jacobs C, et al. Laboratory-acquired infections of *Salmonella enterica* serotype Typhi in South Africa: phenotypic and genotypic analysis of isolates. *BMC Infect Dis*. 2017;17(1):656.
15. Song JH, Cho H, Park MY, Na DS, Moon HB, Pai CH. Detection of *Salmonella typhi* in the blood of patients with typhoid fever by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1993;31(6):1439-43.
16. Hashimoto Y, Itho Y, Fujinaga Y, Khan AQ, Sultana F, Miyake M, et al. Development of nested PCR based on the *ViaB* sequence to detect *Salmonella typhi*. *J Clin Microbiol*. 1995;33(11):3082.
17. Nga TV, Karkey A, Dongol S, Thuy HN, Dunstan S, Holt K, et al. The sensitivity of real-time PCR amplification targeting invasive *Salmonella* serovars in biological specimens. *BMC Infect Dis*. 2010;10:125.
18. Ho CC, Wu AK, Tse CW, Yuen KY, Lau SK, Woo PC. Automated pangenomic analysis in target selection for PCR detection and identification of bacteria by use of ssGeneFinder Webserver and its application to *Salmonella enterica* serovar Typhi. *J Clin Microbiol*. 2012;50(6):1905-11.
19. Pouzol S, Tanmoy AM, Ahmed D, Khanam F, Brooks WA, Bhuyan GS, et al. Clinical Evaluation of a Multiplex PCR for the Detection of *Salmonella enterica* Serovars Typhi and Paratyphi A from Blood Specimens in a High-Endemic Setting. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;101(3):513-20.
20. Sultana S, Hossain MA, Alam MA, Paul SK, Mahmud C, Kabir MR, et al. Nested polymerase chain reaction for early diagnosis of typhoid fever. *Mymensingh Med J*. 2012;21(1):21-7.
21. Zhou L, Pollard AJ. A novel method of selective removal of human DNA improves PCR sensitivity for detection of *Salmonella Typhi* in blood samples. *BMC Infect Dis*. 2012;12:164.
22. Zhou L, Pollard AJ. A fast and highly sensitive blood culture PCR method for clinical detection of *Salmonella enterica* serovar Typhi. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2010;9:14.
23. Msefula CL, Olgemoeller F, Jambo N, Segula D, Van Tan T, Nyirenda TS, et al. Ascertaining the burden of invasive *Salmonella* disease in hospitalised febrile children aged under four years in Blantyre, Malawi. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(7):e0007539.
24. Olgemoeller F, Waluza JJ, Zeka D, Gauld JS, Diggle PJ, Read JM, et al. Intestinal Perforations Associated With a High Mortality and Frequent Complications During an Epidemic of Multidrug-resistant Typhoid Fever in Blantyre, Malawi. *Clin Infect Dis*. 2020;71(Suppl 2):S96-S101.
25. Kaur A, Ruhela A, Sharma P, Khariwal H, Seth S, Kumar A, et al. Simultaneous and high sensitive detection of *Salmonella typhi* and *Salmonella paratyphi a* in human clinical blood samples using an affordable and portable device. *Biomed Microdevices*. 2019;21(4):95.
26. Olopoenia LA, King AL. Widal agglutination test - 100 years later: still plagued by controversy. *Postgrad Med J*. 2000;76(892):80-4.
27. Jason R. Andrews JBH, Edward T. Ryan Typhoid Fever, Paratyphoid Fever, and Typhoidal Fevers. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier; 2020. p. 1365-79.e3.
28. Saha SK, Ruhulamin M, Hanif M, Islam M, Khan WA. Interpretation of the Widal test in the diagnosis of typhoid fever in Bangladeshi children. *Ann Trop Paediatr*. 1996;16(1):75-8.
29. Bahl S, Dogra S, Bahl R, Sachdeva A, Mahajan B. Estimation of Baseline Widal Antibody Titers among Apparently Healthy Urban Population of District Jammu. *Indian J Community Med*. 2021;46(2):292-4.
30. Parry CM, Hoa NT, Diep TS, Wain J, Chinh NT, Vinh H, et al. Value of a single-tube widal test in diagnosis of typhoid fever in Vietnam. *J Clin Microbiol*. 1999;37(9):2882-6.
31. Wijedoru L, Mallett S, Parry CM. Rapid diagnostic tests for typhoid and paratyphoid (enteric) fever. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;5:CD008892.
32. Story HL, Huang Y, Crudder C, Golden A, de los Santos T, Hawkins K. A Meta-Analysis of Typhoid Diagnostic Accuracy Studies: A Recommendation to Adopt a Standardized Composite Reference. *PLoS One*. 2015;10(11):e0142364.
33. Arora P, Thorlund K, Brenner DR, Andrews JR. Comparative accuracy of typhoid diagnostic tools: A Bayesian latent-class network analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(5):e0007303.
34. Davies DH, Jain A, Nakajima R, Liang L, Jasinskis A, Supnet M, et al. Serodiagnosis of Acute Typhoid Fever in Nigerian Pediatric Cases by Detection of Serum IgA and IgG Against Hemolysin E and Lipopolysaccharide. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;95(2):431-9.
35. Andrews JR, Khanam F, Rahman N, Hossain M, Bogoch, II, Vaidya K, et al. Plasma Immunoglobulin A Responses Against 2 *Salmonella Typhi* Antigens Identify Patients With Typhoid Fever. *Clin Infect Dis*. 2019;68(6):949-55.
36. Najib MA, Mustaffa KMF, Ong EBB, Selvam K, Khalid MF, Awang MS, et al. Performance of Immunodiagnostic Tests for Typhoid Fever: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens*. 2021;10(9):1184. doi: 10.3390/pathogens10091184.
37. Darton TC, Baker S, Randall A, Dongol S, Karkey A, Voysey M, et al. Identification of Novel Serodiagnostic

- Signatures of Typhoid Fever Using a Salmonella Proteome Array. *Front Microbiol.* 2017;8:1794.
38. Felgner J, Jain A, Nakajima R, Liang L, Jasinskas A, Gotuzzo E, et al. Development of ELISAs for diagnosis of acute typhoid fever in Nigerian children. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(6):e0005679.
  39. Kumar S, Nodoushani A, Khanam F, DeCruz AT, Lambotte P, Scott R, et al. Evaluation of a Rapid Point-of-Care Multiplex Immunochromatographic Assay for the Diagnosis of Enteric Fever. *mSphere.* 2020;5(3):e00253-20. doi: 10.1128/mSphere.00253-20.
  40. Mather RG, Hopkins H, Parry CM, Dittich S. Redefining typhoid diagnosis: what would an improved test need to look like? *BMJ Glob Health.* 2019;4(5):e001831.
  41. Liang L, Juarez S, Nga TV, Dunstan S, Nakajima-Sasaki R, Davies DH, et al. Immune profiling with a Salmonella Typhi antigen microarray identifies new diagnostic biomarkers of human typhoid. *Sci Rep.* 2013;3:1043.
  42. Blohmke CJ, Muller J, Gibani MM, Dobinson H, Shrestha S, Perinparajah S, et al. Diagnostic host gene signature for distinguishing enteric fever from other febrile diseases. *EMBO Mol Med.* 2019;11(10):e10431.
  43. Nasstrom E, Parry CM, Vu Thieu NT, Maude RR, de Jong HK, Fukushima M, et al. Reproducible diagnostic metabolites in plasma from typhoid fever patients in Asia and Africa. *eLife.* 2017;6.

Recebido: 7 de maio de 2022; Revisto: 31 de agosto de 2022; Aceite: 1 de setembro de 2022

## RELATÓRIOS DE CASOS E IMAGENS MÉDICAS

### MALÁRIA ODISSEANA NO CABO OCIDENTAL, ÁFRICA DO SUL

Nondumiso Mkhize 1,2<sup>1</sup>, Heloise Comprá 1,2

<sup>1</sup>Divisão de Pediatria de Ambulatório e de Emergência, Departamento de Pediatria e Saúde Infantil, Universidade da Cidade do Cabo

<sup>2</sup>Red Cross War Memorial Children's Hospital, Klipfontein Road, Rondebosch, Cidade do Cabo, 7700, Cabo Ocidental, África do Sul

\*Autor correspondente: [nondumk@gmail.com](mailto:nondumk@gmail.com)

#### Resumo

Devido ao diagnóstico inesperado da malária odisseana, os casos são muitas vezes ignorados, e a apresentação é geralmente retardada, resultando em complicações graves. O que torna estas infecções tão intrigantes é a falta de histórico de viagem dos pacientes que adquirem a infecção enquanto vivem numa área de malária não endêmica. Relatamos o primeiro caso de malária odisseana numa jovem da Cidade do Cabo que se apresentou várias vezes aos serviços de saúde com uma febre não resolvida entre muitos outros sintomas não específicos.

**Palavras-chave:** Malária odisseana, mosquito *Anopheles*, Cabo Ocidental, malária grave

#### Introdução

A confirmação laboratorial da malária é essencial para o diagnóstico de malária odisseana. O nome da malária odisseana é derivado da mitologia grega onde o Rei grego Odysseus sobreviveu à Guerra de Troia e depois passou uma década a vaguear pelo Mediterrâneo antes de regressar a casa.

A malária transmitida através da picada de um mosquito que viajou passivamente milhares de quilómetros (de avião, estrada ou comboio) de uma área endêmica de malária sobrevivendo numa área não-endêmica de malária foi reconhecida como malária odisseana, comparada a esta mítica viagem do rei. <sup>1</sup> Relatamos um caso deste raro tipo de malária numa criança do rio Lotus, um subúrbio da Cidade do Cabo, na província do Cabo Ocidental, da África do Sul.

#### Apresentação do caso

No dia 25 de dezembro de 2021, vimos a apresentação do caso que mais tarde foi descoberto como malária odisseana numa menina de 7 anos, HIV negativa e totalmente imunizada. Inicialmente apresentou febre de 38,4°C, letargia, diarreia e três convulsões, uma das quais focal. Uma série de investigações foram realizadas incluindo a análise de urina, fezes, sangue e líquido cefalorraquidiano após uma tomografia computadorizada normal do cérebro. Apesar de uma contagem normal de sangue completo (FBC), os seus marcadores inflamatórios estavam significativamente elevados com uma proteína C-reativa (CRP) de 247mg/L. O exame de sangue restante não era relevante. A paciente iniciou ceftriaxona, um antibiótico intravenoso de largo espectro, e seu nível de CRP de 48hr melhorou para 53mg/L. Apesar de não ter sido identificada uma fonte de infecção, recuperou-se bem e teve alta após cinco dias de cobertura de antibióticos intravenosos. Apesar de provas contraditórias relativas à realização de eletroencefalogramas (EEGs) em pacientes que apresentam convulsões febris, foi reservado um EEG eletivo para o dia 18 de janeiro de 2022. <sup>2</sup>

Cerca de duas semanas depois, no dia 14 de janeiro de 2022, a paciente apresentou-se novamente ao hospital com um historial de dois dias de febre (39,8°C), vômitos e diarreia, dores nas costas, falta de apetite e letargia. Foi diagnosticada com gastroenterite aguda e tratada com zinco e paracetamol, depois de ter recebido terapia de reidratação. Apresentou-se ao serviço de urgência no domingo, dia 16 de janeiro, com febre contínua, vômitos e letargia e foi diagnosticada com otite aguda e tratada com amoxicilina oral. No dia seguinte, voltou de novo e foi a quarta vez num mês, que se apresentou aos serviços de saúde, onde foi encaminhada para a urgência médica com letargia persistente após o seu EEG eletivo ter mostrado encefalopatia moderada anormal.

À chegada à unidade de emergência médica, tinha uma Escala de Coma de Glasgow de 14, tinha febre (38,5°C) e estava marcadamente pálida. Estava hemodinamicamente estável com um murmúrio sistólico de 1/6 e uma hepatomegalia de 2 cm. Mais uma vez, o seu CRP foi elevado (254mg/L), mas o FBC nesta admissão mostrou uma bicitopenia significativa com uma hemoglobina de 5,4g/dL e uma trombocitopenia de  $59 \times 10^9/L$ . Também foi positiva para o COVID-19. No reconhecimento do FBC anormal, o laboratório realizou astutamente uma película grossa e fina que foi positiva para *Plasmodium falciparum* com uma alta parasitaemia de 9,3% — um indicador de malária grave. Outros marcadores de gravidade foram a insuficiência renal (ureia de 11,6 mmol/L), nível de consciência deficiente e histórico de convulsões na primeira apresentação. Foi feito um diagnóstico subsequente de malária cerebral. A paciente recuperou completamente após o tratamento com artesunato intravenoso. No entanto, estávamos curiosos sobre como esta jovem que estava sem histórico de viagem e que vivia numa área não-endêmica de malária adquiriu esta infecção. Uma investigação ambiental do Instituto Nacional de Doenças Transmissíveis da África do Sul não encontrou uma fonte de infecção, mas suspeitava-se de um mosquito-fonte vetorial que potencialmente se deslocava na

bagagem de um vizinho que viajou de Moçambique na última semana de dezembro de 2021.<sup>3</sup>

## Discussão

São investidos anualmente bilhões de dólares na investigação da malária e em estratégias globais de eliminação da malária. Como resultado, as mortes por malária reduziram significativamente nas últimas duas décadas. No entanto, a pandemia COVID-19 dificultou alguns dos progressos em 2020, quando em 2020 se verificou um aumento global de 12% nas mortes por malária em comparação com 2019.<sup>4</sup> Em muitos países em desenvolvimento, a malária continua a ser a principal causa de morbidade e mortalidade.<sup>5</sup> Na África do Sul, apenas certas áreas são sazonalmente endêmicas para a malária (Limpopo, Mpumalanga e KwaZulu-Natal do Norte); o risco de transmissão é maior entre setembro e maio.<sup>6</sup> Os avanços tecnológicos no turismo e nos transportes colocam, no entanto, os sul-africanos em risco perene de adquirir malária importada e a malária odíssa mais invulgar.

Entre o período de 1996 e 2004, foram registados 46 casos de malária odíssa na província não endêmica de Gauteng. Seguiu-se um surto de 8 casos entre 2007 e 2013 e um surto de 2-grupos de 5 casos em janeiro de 2021.<sup>1</sup> Não é de estranhar que todos os casos foram detetados na província de Gauteng, uma vez que é o centro para viajantes da África endêmica subsariana. Gauteng também está perto de províncias endêmicas o que torna a transmissão de malária uma possibilidade – os mosquitos Anopheles podem viajar até 300km de distância em voos de alta altitude.<sup>7</sup> O caso da malária odíssa no Cabo Ocidental é intrigante e, tanto quanto sabemos, não foi reportado previamente.

A trombocitopenia, um dos sinais de malária grave, deve ser confirmada através da análise sanguínea por esfregaço, para excluir a diluição de plaquetas induzida por etilenediamina tetra-acética.<sup>8</sup> No esfregaço, pode-se ainda ver o trofozoíta da malária que é como o laboratório identificou a infecção no nosso caso. Os sintomas e a apresentação clínica da malária não são específicos o que tornou este processo laboratorial crítico neste diagnóstico de malária odíssa que acabou salvando esta paciente. A malária deve ser suspeitada em qualquer paciente que apresente febre numa área endêmica de malária. Numa área não endêmica, investigar todos os doentes com febre seria dispendioso, pelo que os médicos devem ser treinados para realizar um teste parasitológico onde exista uma febre sem causa óbvia, especialmente em associação com a trombocitopenia, mesmo na ausência de viagens.<sup>9</sup>

Os sintomas clínicos da malária e da bacteriemia sobrepõem-se, e a bacteriemia concomitante tem sido frequentemente relatada em associação com a malária grave em áreas endêmicas com um risco notável de mortalidade em crianças.<sup>10</sup> Cefalosporinas de terceira geração, como ceftriaxona, são recomendadas como uma terapia adicionada com antimaláricos apropriados em casos de malária grave para cobrir a sépsis concomitante.<sup>9</sup> A nossa paciente mostrou uma boa resposta clínica e permaneceu livre de sintomas durante duas semanas após receber cinco dias de ceftriaxona. Esta é uma resposta adequada quando cefalosporinas de terceira geração são usadas para tratar a sépsis gram negativo/ gram positivo, quando há uma resposta improvável para uma infecção grave da malária. É, portanto, possível que a infecção da malária tenha ocorrido após a apresentação e tratamento da sépsis inicial.

Pensava-se que a fonte vetorial do nosso caso estava ligada a Moçambique, um dos países vizinhos da África do Sul onde existe risco de malária ao longo do ano. O período

de tempo da viajante identificada, que se nota ser a última semana de dezembro, corresponde ao período de incubação da malária (que é no mínimo sete dias) e a segunda apresentação clínica no dia 14 de janeiro. Isto pode sugerir a possibilidade de uma infecção da malária ocorrer após o tratamento da sépsis inicial. Outra possibilidade que deve ser considerada é uma picada de mosquito durante uma de muitas datas de jogo numa comunidade próxima e diversificada que é ocupada por indivíduos e famílias da África do Sul e países da África Subsariana com malária endêmica, que poderiam involuntariamente ter transportado um mosquito Anopheles infetado de uma área endêmica ao longo de uma "viagem odíssa" de vários milhares de quilómetros.

Nos últimos dois anos, o COVID-19 tem impactado todas as esferas da vida (sociais, económicas, psicológicas), incluindo colocar uma grande pressão no Departamento de Saúde sul-africano. A sua presença dominante resultou num comportamento retardado de procura de tratamento devido a restrições de circulação e redução da consciência da malária dos profissionais de saúde.<sup>11</sup> É importante notar que a infecção COVID-19 em crianças é muitas vezes uma "descoberta acidental" e pode não ser a causa de doenças graves em crianças gravemente doentes, mas sim algo que pode atrasar ainda mais a verdadeira identificação de apresentações incomuns de febre.

O COVID-19 também perturbou e complicou os programas de controlo da malária a todos os níveis.<sup>11</sup> A Organização Mundial de Saúde encoraja o mundo a reorientar-se para estratégias globais de controlo e eliminação, mesmo durante a pandemia COVID-19. Especificamente para a África do Sul, o objetivo é eliminar a malária (erradicação da transmissão local) até 2023.<sup>12</sup>

## Conclusão

O transporte moderno tornou as viagens facilmente acessíveis. Neste âmbito, é essa acessibilidade que facilita a propagação de doenças infecciosas a lugares improváveis e a proporções globais. Este caso da malária odíssa é um claro lembrete de que a malária não tem fronteiras. Os médicos devem considerar e testar a malária em todos os pacientes que apresentam uma causa desconhecida de febre, mesmo durante a pandemia COVID-19, onde a coinfeção é possível, para evitar atrasos no diagnóstico e progressão para apresentações graves da doença como na nossa paciente. Isto deve ser rapidamente seguido de notificação, que é igualmente importante, para garantir uma investigação oportuna por parte do programa de controlo da malária.

**Agradecimentos:** Nenhum

**Declaração de interesses:** Os Autores declaram não ter conflito de interesses.

**Fonte de financiamento:** Nenhuma

## Referências

1. Frean J, Brooke B, Thomas J, Blumberg L. Odyssean malaria outbreaks in gauteng province, South Africa, 2007 - 2013. *South African Med J.* 2014;104(5):335–8.
2. Shah PB, James S, Elayaraja S. EEG for children with complex febrile seizures. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;2020(4).
3. Diseases S. Odyssean malaria : Western Cape Province Respiratory syncytial virus – defining the start of the season. 2022;21(February):2021–3. [https://www.nicd.ac.za/wp-content/uploads/2022/02/NICD\\_Monthly\\_Communicue\\_February-4-61.pdf](https://www.nicd.ac.za/wp-content/uploads/2022/02/NICD_Monthly_Communicue_February-4-61.pdf)

4. WHO. World Malaria Report 2021. World Malaria report Geneva: World Health Organization. (2021). Licence: CC. 2021. 2013–2015 p.
5. CDC. Impact of Malaria Worldwide. Centers Dis Control Prev [Internet]. 2020 [cited 2022 Apr 25]; Available from: [https://www.cdc.gov/malaria/malaria\\_worldwide/impact.html#](https://www.cdc.gov/malaria/malaria_worldwide/impact.html#)
6. South African Malaria Risk Map. 2018– National Department of Health [Internet]. [cited 2022 Apr 25]. Available from: <https://www.health.gov.za/malaria/>
7. Huestis DL, Dao A, Diallo M, Sanogo ZL, Samake D, Yaro AS, et al. Windborne long-distance migration of malaria mosquitoes in the Sahel. Nature [Internet]. 2019;574(7778):404–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-019-1622-4>
8. Tan GC, Stalling M, Dennis G, Nunez M, Kahwash SB. Pseudothrombocytopenia due to Platelet Clumping: A Case Report and Brief Review of the Literature. Case Rep Hematol. 2016;2016:1–4.
9. WHO. Guideline WHO Guidelines for malaria. 16 Febr 2021 [Internet]. 2021;225. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.
10. Bassat Q, Guinovart C, Sigaúque B, Mandomando I, Aide P, Sacarlal J, et al. Severe malaria and concomitant bacteraemia in children admitted to a rural Mozambican hospital. Trop Med Int Heal. 2009;14(9):1011–9. doi: 10.1111/j.1365-3156.2009.02326.x
11. Brooke BD, Raman J, Frean J, Rundle K, Maartens F, Misiani E, et al. Implementing malaria control in South Africa, Eswatini and southern Mozambique during the COVID-19 pandemic. South African Med J. 2020;110(11):1072–6.
12. WHO. Tailoring malaria interventions in the COVID-19 response. 2020;34. Available from: <https://www.who.int/malaria/publications/atoz/tailoring-malaria-interventions-covid-19.pdf?ua=1>

Recebido: 19 abril 2022; Revisto: 10 de agosto de 2022; Aceite: 12 agosto 2022

---

## OBSERVATÓRIO DE PUBLICAÇÕES

---

### INTERVENÇÕES PARA REDUZIR O RISCO DE DOENÇA DIARREICA EM CRIANÇAS

Brian Eley, Unidade de Doenças Infeciosas Pediátricas, Hospital Infantil Memorial da Cruz Vermelha e Departamento de Pediatria e Saúde Infantil, Universidade da Cidade do Cabo.

Autor correspondente: [brian.eley@uct.ac.za](mailto:brian.eley@uct.ac.za)

---

Aproximadamente 2,0 mil milhões de pessoas não têm acesso a água potável gerida de forma segura, serviços de saneamento, nem instalações de lavagem de mãos nas suas casas. A água, saneamento e higiene inseguros (WASH) causam mais de 800.000 mortes diarreicas por ano, com aproximadamente 300.000 destas mortes a ocorrerem em crianças com menos de 5 anos de idade. <sup>1</sup>

Um dos resumos publicados na última edição do Boletim AfSPID e apresentados na recente conferência da Sociedade Mundial de Doenças Infeciosas Pediátricas descreveu a eficácia da cloração do ponto de uso na redução do risco de diarreia em crianças com menos de cinco anos num ambiente rural na Etiópia. O estudo do IDI documentou uma redução significativa de 36% no risco de diarreia no braço de intervenção em comparação com o braço de controlo, demonstrando a importância das medidas de prevenção primária para reduzir o peso da doença diarreica infantil. <sup>2</sup>

A publicação em foco, uma revisão sistemática e meta-análise fornecem estimativas de eficácia atuais das intervenções da WASH sobre o risco de doença diarreica infantil em países de baixo e médio rendimento. <sup>3</sup>

Nesta análise foram incluídos 124 estudos, incluindo 23 novos estudos que não tinham sido utilizados em revisões sistemáticas anteriores.

Em comparação com a água não tratada de uma fonte não melhorada, a água tratada no ponto de utilização por filtração, tratamento solar ou cloração reduziu o risco de doença diarreica infantil em 50%, 37% e 34%, respectivamente.

O impacto global de 20 estudos de intervenção no saneamento foi uma redução de 24% no risco de doença diarreica infantil. Embora o fornecimento de saneamento básico com ligação aos esgotos tenha resultado num risco 47% reduzido para a doença diarreica, a provisão de saneamento básico sem ligação aos esgotos apenas conseguiu uma redução de 21% no risco de doença diarreica.

As intervenções de lavagem das mãos que promoveram a lavagem manual ou melhoraram o acesso a instalações e materiais de lavagem de mãos (41 estudos), mostraram uma redução global do risco de doença diarreica infantil de 30%

Em conclusão, este estudo oportuno fornece estimativas atualizadas do impacto destas importantes intervenções no risco de doença diarreica infantil e reafirma a importância das intervenções da WASH para melhorar a saúde infantil global.

#### Referências

1. Prüss-Ustün A, Wolf J, Bartram J, et al. Burden of disease from inadequate water, sanitation and hygiene for selected adverse health outcomes: An updated analysis with a focus on low- and middle-income countries. Int J Hyg Environ Health. 2019;222(5):765-777. doi: 10.1016/j.ijheh.2019.05.004.
2. Solomon ET. Effect of chlorination on diarrhoea among children under the age of five years in total Dire Dawa, Eastern Ethiopia: a cluster randomised trial. AfSPID Bulletin 2022;9 (Suppl 1):5.
3. Wolf J, Hubbard S, Brauer M, et al. Effectiveness of interventions to improve drinking water, sanitation, and handwashing with soap on risk of diarrhoeal disease in children in low-income and middle-income settings: a systematic review and meta-analysis. Lancet 2022 Jul 2;400(10345):48-59. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00937-0.

Recebido: 12 de abril de 2022; Aceite: 15 agosto 2022

### TRÊS ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA VACINA CONJUGADA DE FEBRE TIFOIDE EM LOCAIS ENDÉMICOS

Tinsae Alemayehu, American Medical Center and St. Paul's Hospital Millennium Medical College, Addis Ababa, Ethiopia

Autor correspondente: [tinsae.alemayehu@sphmmc.edu.et](mailto:tinsae.alemayehu@sphmmc.edu.et) ou [tigisttinsae@gmail.com](mailto:tigisttinsae@gmail.com)

---

#### Resumo

Nesta análise, o resultado dos recentes ensaios de eficácia da vacina conjugada com tifo (TCV) entre crianças em três países de baixo rendimento é apresentado juntamente com a sua implicação para a prática de doenças infecciosas

pediátricas em contextos em que a febre tifoide é endêmica.

### Fundo

A febre entérica é predominantemente diagnosticada em crianças, nomeadamente na faixa etária entre os 5 e os 15 anos de idade. É causada principalmente por *Salmonella enterica serovar typhi* (febre tifoide) e *Salmonella enterica serovars paratyphi* A, B e C (febre paratifoide) e comunidades com má prática sanitária e fornecimento de água inadequado estão em risco elevado. As Nações Populosas, com habitantes predominantemente jovens, e economias em desenvolvimento como os países africanos, sul e sudeste asiáticos, carregam o maior fardo da febre tifoide a nível global. Em todo o mundo, nove milhões de infeções e mais de 100.000 mortes ocorrem devido à febre tifoide todos os anos. Os países africanos são responsáveis por 13% e 17% das infeções e mortes globais, respectivamente, todos os anos.<sup>1</sup>

Tal como acontece com outras infeções, o tratamento da febre tifoide enfrenta desafios da resistência antimicrobiana, nomeadamente uma taxa crescente de resistência à fluoroquinolona. Particularmente preocupante é o desenvolvimento da mutação R717Q no gene *acrB*, responsável por conferir resistência à azitromicina que é usada para tratar a infeção causada por isolados extensivamente resistentes a drogas.<sup>2</sup> Embora os laboratórios de bacteriologia clínica sejam escassos em países africanos, os estudos notam uma tendência semelhante de agravamento da resistência à ampicilina, ao trimethoprim-sulfamethoxazol e ao cloranfenicol e fluoroquinolona.<sup>3</sup>

Nestes contextos, a imunização tem um papel significativo a desempenhar na prevenção da febre tifoide. Duas vacinas previamente avaliadas revelaram-se moderadamente eficazes contra a febre tifoide. A vacina Ty21a atenuada oralmente administrada em quatro doses com reforço a cada 5 anos tem uma eficácia de 48% enquanto a Typhim ViCPS, uma vacina contra o polissacarídeo administrada com uma dose única e reforçada a cada 2 anos, tem uma eficácia de 55%.<sup>4,5</sup> Desde 2017, o Consórcio de Aceleração da Vacina tifoide realizou três ensaios de eficácia de TCV no Nepal, Bangladesh e Maláwi.<sup>1</sup> Esta vacina conjugada tem as vantagens da administração de dose única e por não ser uma vacina viva pode ser considerada para uso em crianças imuno-comprometidas.

### Lições dos três ensaios de vacina conjugada recentemente realizados

Uma comparação entre o país de base e as características sociodemográficas das populações de estudo dos três ensaios é resumida no quadro 1.<sup>1,6,7</sup>

**Quadro 1: Comparação das populações em que se situaram os três ensaios e das características da população em estudo**

Parâmetro	Nepal	Banglade sh	Malawi
Incidência da febre tifoide por 100.000 pessoas-anos	484 - 615	200	184
Menos de cinco taxa de mortalida	30.4	29	38.6

de (por 1000 nados vivos) 2020			
Faixa etária para população de estudo	9 meses - 16 anos	9 meses - 16 anos	9 meses - 12 anos
Vacina de controlo utilizada no grupo de controlo	Vacina conjugada meningocócica A	Vacina Encefalite japonesa	Vacina conjugada meningocócica A

O resultado principal nos três ensaios foi a febre tifoide confirmada pela cultura do sangue, em qualquer momento durante o período de estudo (Malawi com resultados secundários sendo os eventos adversos imediatos e a longo prazo, imunogenicidade com títulos IgG anti-Vi (ensaios do Nepal e Bangladesh), proteção indireta de vacinas em não-vacinados e proteção total por Vi-TT contra a febre paratifoide (ensaio do Bangladesh). Enquanto os investigadores do ensaio do Malawi realizaram análises de intenção de tratamento (ITT) e por protocolo (PP), as equipas de investigação nepalesas e do Bangladesh apenas realizaram análises por protocolo. Os ensaios foram devidamente empoderados, incluindo um grande número de crianças com 9 ou mais meses de idade (Quadro 1).

A eficácia da TCV nos ensaios do Nepal e do Bangladesh foi de 81,6% e 85%, respectivamente. A decisão de incluir uma análise ITT no ensaio do Malawi resultou em diferentes resultados de eficácia, 80,7% na análise do ITT e 83,7% na análise do PP. A menor eficácia na análise do ITT deve-se à inclusão da febre tifoide que ocorre antes do dia 14 após a vacinação, quando a proteção induzida pela vacina ainda era sub-ótima. A menor eficácia foi notada nas crianças mais novas nos três ensaios: 65% no grupo de 2-5 anos vs 87,5% na faixa etária dos 5-16 anos no Nepal, 80% nos menores de 2 anos e no grupo etário dos 2 aos 4 anos, contra 88% na faixa etária dos 5 aos 16 anos no Bangladesh, e 74% em crianças com menos de 5 anos vs 84-88% entre as crianças dos 5 aos 12 anos no Malawi.

Os três ensaios demonstraram a segurança da TCV sem eventos adversos relacionados com a vacina no dia 7 pós-vacina. Os investigadores do ensaio no Malawi incluíram uma avaliação de segurança mais detalhada com a vigilância de eventos adversos avaliados em 30 minutos, 7 dias, 28 dias e 6 meses, mas com conclusões semelhantes.

Em causa estava a deteção de quatro isolados resistentes à ciprofloxacina entre os 74 episódios de febre tifoide comprovados pela cultura na população de estudos malawianos. Todos os quatro isolados eram multi-resistentes a fármacos (MDR) ou resistentes à amoxicilina, trimethoprim-sulfamethoxazol e cloranfenicol. Embora nenhum dos 41 isolados no ensaio do Nepal fosse MDR, a maioria das estirpes eram resistentes à ciprofloxacina e duas tinham suscetibilidade reduzida à azitromicina. No Bangladesh, os investigadores identificaram 475 episódios comprovados pela cultura sanguínea de febre tifoide, sendo um em cada quatro MDR e 10% resistente à ciprofloxacina. A confirmação de estirpes não suscetíveis de fluoroquinolona e azitromicina nessas populações jovens deve suscitar o alarme para intensificar esforços de manejo antimicrobiano nesses países.

Na análise do sub-grupo das crianças nos ensaios do Bangladesh e do Nepal, foram demonstrados elevados níveis de imunogenicidade com taxas de seroconversão de 99% no dia 28 após a vacinação. A equipa de investigação em Dhaka, Bangladesh, não observou uma proteção indireta significativa em indivíduos não-vacinados.

A eficácia da TCV entre crianças desnutridas e infetadas com HIV não foi determinada nestes três ensaios. Como mostra o quadro 2, as taxas de desnutrição e infeção por HIV, duas condições imuno-comprometedoras que podem afetar a resposta imunitária e a eficácia da vacina entre os recetores da vacina, são elevadas nos três países que acolheram estes ensaios. A não inclusão destes grupos de doentes vulneráveis resulta numa compreensão incompleta da eficácia da vacina. No entanto, os investigadores do Malawi estão atualmente a realizar um estudo de eficácia da TCV entre as crianças que vivem com infeção por HIV. Este estudo, em curso, avaliará a administração de uma ou duas doses da TCV quando co-administrado durante as visitas de vacinação de rotina de 9 meses e 15 meses.

**Quadro 2: Estatísticas nacionais sobre a saúde infantil nos três países de estudo**

Parâmetro	Nepal	Bangladesh	Malawi
Menos de cinco taxa de mortalidade por 1000 nados vivos	28	29	39
Prevalência de atordoamento	30%	30%	37%
Prevalência nacional de infeção pelo HIV em 2020	0.1%	0.1%	8.1%

Os resultados destes três ensaios anunciam o início de uma melhor prevenção contra a febre tifoide nos países de baixo e médio rendimento. As elevadas taxas de incidência da febre tifoide, com a maioria dos países endémicos da África Subsariana a registar taxas de 50 e mais casos por 100.000 habitantes, e o perfil de segurança e eficácia de TCV justifica a sua inclusão em programas de vacinação rotineira em países endémicos para a febre tifoide.<sup>8</sup>

A monitorização do impacto da TCV nos países endémicos após a sua introdução rotineira, utilizando taxas anuais de hospitalização e mortalidade, bem como anos de vida ajustados a deficiência (DALYs) reforçará ainda mais os esforços de prevenção. A Organização Mundial de Saúde recomenda atualmente a utilização de uma dose única de TCV para indivíduos com idades compreendidas entre os 6 meses e os 45 anos, em países endémicos, com novas campanhas de reforço, para crianças com idade igual ou inferior a 15 anos no seu documento opinião/posição de março de 2018.<sup>9</sup>

## Conclusões

A publicação destes três ensaios históricos é um marco significativo na procura de um melhor controlo da febre tifoide. Uma avaliação mais diversificada da eficácia e da segurança em hospedeiros imuno-comprometidos, crianças com menos de 9 meses e mulheres grávidas fornecerão uma imagem mais holística da potencial utilidade da TCV na prática de imunização rotineira

## Referências

1. Patel PD, Patel P, Liang Y, Meiring JE, Misiri T, Mwakiseghile F et al. Safety and efficacy of a typhoid conjugate vaccine in Malawian children. *N Engl J Med* 2021; 385:1104-1115; <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2035916>
2. Hooda Y, Sajib MSI, Rahman H, Luby SP, Bondy-Denomy J, Santosham M, et al. (2019) Molecular mechanism of azithromycin resistance among typhoidal *Salmonella* strains in Bangladesh identified through passive pediatric surveillance. *PLoS Negl Trop Dis* 13(11): e0007868. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007868>
3. Browne AJ, Kashef Hamadani BH, Kumaran E. et al. Drug-resistant enteric fever worldwide, 1990 to 2018: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 18, 1 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1443-1>
4. Krishna Mohan V, Varanasi V, Singh A, Pasetti MF, Levine MM, Venkatesan R et al. Safety and Immunogenicity of a Vi Polysaccharide–Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine (Typbar-TCV) in Healthy Infants, Children, and Adults in Typhoid Endemic Areas: A Multicenter, 2-Cohort, Open-Label, Double-Blind, Randomized Controlled Phase 3 Study. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 61, Issue 3, 1 August 2015, Pages 393–402, <https://doi.org/10.1093/cid/civ295>
5. Birkhold M, Mwisongo A, Pollard AJ, Neuzil KM. Typhoid Conjugate Vaccines: Advancing the Research and Public Health Agendas. *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 224, Issue Supplement\_7, 15 December 2021, Pages S781–S787, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab449>
6. Qadri F, Khanam F, Liu X, Theiss-Nyland K, Biswas PK, Bhuiyan AI et al. Protection by vaccination of children against typhoid fever with a Vi-tetanus toxoid conjugate vaccine in urban Bangladesh: a cluster-randomized trial. *Lancet* 2021; 398, 10301, 675 – 684; [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01124-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01124-7)
7. Shakya M, Colin-Jones R, Theiss-Nyland K, Voysey M, Pant D, Smith N et al. Phase 3 efficacy analysis of a Typhoid conjugate vaccine trial in Nepal. *N Engl J Med* 2019; 381:2209-2218; <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1905047>
8. GBD 2017 typhoid and Paratyphoid collaborators. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systemic analysis for the global burden of disease study 2017. *Lancet Infect Dis* 2019; 19 (4), 369 - 81; [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30685-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30685-6)
9. World Health Organization, Typhoid vaccines: WHO position paper, March 2018 – Recommendations, Vaccine, Volume 37, Issue 2, 2019, Pages 214-216, ISSN 0264-410X, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.04.022>

Recebido: 12 de agosto de 2022; Revisto: 13 de agosto de 2022; Aceite: 15 agosto 2022

**EDITOR**

Professor Brian Eley (África do Sul)

**VICE-EDITOR**

Professora Regina Oladokun (Nigéria)

**EDITORES ASSOCIADOS**

EAST AFRICA: Dr. Ombeva Malande (Uganda &amp; Quênia) &amp; Dr Tinsae Alemayehu (Etiópia)

WEST AFRICA: Dr. Olubukola Idoko (A Gâmbia) &amp; Dr Babatunde Ogunbosi (Nigéria)

ÁFRICA AUSTRAL: Drª Harsha Lochan (África do Sul) &amp; Professora Associada Heloise Buys (África do Sul)

**MEMBROS DO CONSELHO EDITORIAL**

Professor Adegoke Falade (Nigéria), Drª Sabrina Bakeera-Kitaka (Uganda), Professor Mark Cotton (África do Sul), Dr. Joycelyn Dame (Gana), Professor Associado Victor Musiime (Uganda), Professor Rudzani Muloiwa (África do Sul), Dr. Charles Hammond (Gana), Drª Norberta Washaya (Zimbabué), Professor Charles Wiysonge (África do Sul), Dr. Hafsa Tootla (África do Sul), Dr. Tisungane Mvalo (Malawi), Professor Ebelechuku Francesca Ugochukwu (Nigéria), Dr. Anthony Enimil (Gana), Professor Ayebo Sadoh (Nigéria), Drª Lisa Frigati (África do Sul), Drª Paula Vaz (Moçambique), Professora Ebunoluwa Adejuyigbe (Nigéria), Drª Elizabeth Prentice (África do Sul), Drª Julie Copelyn (África do Sul), Dr. Colleen Bamford (África do Sul), Drª Mulugeta Naizgi Gebremicael (Etiópia), Professor Adjunto Mohammad Issack (Maurícia)

**SOBRE A PUBLICAÇÃO**

O *Boletim AfSPID* é a publicação oficial da Sociedade Africana de Doenças Infeciosas Pediátricas. Foi lançado como boletim online em abril de 2013. Em abril de 2022 tornou-se uma revista de revisão por pares. Publica artigos de educação e investigação sobre todos os aspetos das doenças infecciosas em recém-nascidos, crianças e adolescentes. A revista publica uma grande variedade de manuscritos, incluindo comentários, cartas ao editor, artigos de pesquisa, relatórios de casos, imagens médicas, relatórios de conferências e editoriais.

**DIRETRIZES DO AUTOR**

**Todas as contribuições:** O nome, apelido, título de emprego, filiação e endereço de e-mail de cada autor devem ser posicionados imediatamente abaixo do título do artigo. O manuscrito deve ser escrito em inglês do Reino Unido. O texto deve ser espaçado em fonte Arial ou Times New Roman de 12 pontos. A utilização de sub-rubricas é encorajada. As referências devem ser listadas no final do manuscrito em ordem numérica, como citado pela primeira vez no manuscrito. As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver. Consulte [https://guides.lib.monash.edu/ld.php?content\\_id=48260115](https://guides.lib.monash.edu/ld.php?content_id=48260115) Se uma referência contiver menos de 6 autores, então liste todos os autores. Se uma referência contiver 6 ou mais autores, liste os primeiros 6 autores seguidos de et al. Sempre que devem ser incluídos identificadores de objetos digitais disponíveis (DOIs) e localizadores uniformes de recursos (URLs). Mesas, figuras, imagens ou fotografias devem ser acompanhadas por uma lenda explicativa. Mesas, figuras, imagens e fotografias devem ser obra do autor. Figuras, imagens e fotografias devem ser de alta resolução. As imagens, fotografias ou figuras não modificadas de manuscritos ou websites publicados não devem ser copiadas, a menos que o autor correspondente forneça autorização escrita do editor de origem. Envie o manuscrito no Microsoft Word.

**Aprovação ética:** A declaração de aprovação de ética com os detalhes adequados do comité de ética e o número de referência devem ser incluídos em manuscritos que descrevem séries de casos de 5 ou mais participantes e todos os estudos de investigação.

**Cartas ao editor:** Contagem máxima de palavras (excluindo as referências): 400 palavras, com no máximo 5 referências e uma figura ou tabela.

**Comentário:** Contagem máxima de palavras (excluindo o resumo e referências): 3500 palavras, não mais de 50 referências, e não mais de uma 6 tabela, figura, imagem ou fotografia. Os objetivos da revisão ou do comentário devem ser claramente indicados na introdução. A submissão deve incluir um resumo não estruturado de até 250 palavras.

**Relatórios de investigação:** breves, devem descrever brevemente os resultados originais da investigação ou uma análise de dados secundários. A descrição deve incluir os objetivos ou objetivos do estudo, métodos, resultados e discussão, e uma tabela ou figura. Limite de palavras (excluindo o resumo e referências) é de 1200 palavras. É permitido um máximo de 12 referências e um resumo não estruturado de até 75 palavras deve acompanhar o manuscrito.

**Artigo de investigação (compimento total):** Todos os tipos de artigos originais que abordam aspetos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais das doenças infecciosas pediátricas podem ser apresentados. A submissão deve incluir (1) um resumo estruturado (componentes: fundo que inclua o objetivo do estudo, métodos, resultados, conclusão; contagem de palavras não deve exceder 250 palavras), (2) uma página título (componentes: título de artigo, lista de autores, autor correspondente e seu endereço de e-mail), (3) a introdução que inclui os objetivos do estudo ou objetivos, métodos, resultados, discussão, conclusão (contagem combinada de palavras destes componentes não deve exceder 3500 palavras), (4) Reconhecimentos,

fontes de financiamento, contribuições de autor e declaração de aprovação de ética, (5) referências (máximo de 50 referências) e (6) até 6 figuras ou tabelas com lendas e, se necessário, notas de rodapé.

**Relatório do caso:** Os principais elementos devem ser um resumo não estruturado (máximo de 75 palavras), antecedentes que incluam o objetivo ou o propósito do relatório do caso, o relatório do caso e a discussão. Contagem máxima de palavras (excluindo resumo e referências): 1200 palavras com no máximo 10 referências, e uma tabela, figura, imagem ou fotografia anonimizada. Ao submeter o manuscrito preenchido, por favor forneça (1) o consentimento dos pais para publicar o relatório se a informação de menores for incluída no manuscrito ou (2) o consentimento do paciente para publicar o relatório se a informação de adolescentes legalmente suficientemente velha para dar consentimento estiver incluída no manuscrito.

**Imagem médica:** Uma ou duas imagens de alta qualidade, interessantes e/ou instrutivas ou fotografia anonimizada com uma nota explicativa de menos de 200 palavras e até 3 referências.

**Submissão para o observatório de publicações:** Os comentários sobre um único marco publicado ou um importante trabalho de investigação ou relatório clínico/técnico não devem exceder 400 palavras e 5 referências, incluindo o papel ou relatório revisto. Comentários sobre duas ou mais publicações de referência ou relatórios clínicos/técnicos que abordam um sujeito similar/relacionado não devem exceder 1500 palavras e 10 referências, incluindo os documentos ou relatórios revistos.

**Relatório de conferências:** Recomenda-se um parágrafo introdutório que descreve os detalhes da conferência. O relatório da conferência deve centrar-se em novos desenvolvimentos e no seu significado para o contexto Africano. Contagem máxima de palavras (excluindo referências): 3000 palavras, com no máximo 30 referências, e 6 tabelas, figuras, imagens ou fotografias. A submissão deve incluir um resumo não estruturado de até 250 palavras.

## REVISÕES

A partir de outubro de 2021, todos os comentários submetidos, revisões, manuscritos de pesquisa, relatórios de casos, imagens médicas e relatórios de conferências foram submetidos a revisão por pares usando um modelo de revisão por pares normalizado. Os nomes dos autores não serão divulgados aos revisores. Os nomes dos revisores só serão divulgados aos autores se a autorização for concedida pelos revisores.

## EDIÇÃO DE CÓPIAS E REVISÃO

Patti Apolles, Dr. Lisa Frigati, Professora Regina Oladokun

## TRADUÇÃO

Versão portuguesa: Dr<sup>a</sup> Paula Vaz

## INFORMAÇÃO DE ARQUIVO

O *Boletim AfSPID* está arquivado no site da Federação das Sociedades de Doenças Infeciosas da África Austral (FIDSSA) no site <https://www.fidssa.co.za/federation-members/saspid-overview> e no site da Sociedade Mundial de Doenças Infeciosas Pediátricas em <https://wspid.org/member-societies/>. Esta publicação também pode ser acedida através da conta de Twitter da AfSPID: @afspid

## ENCARGOS DE PUBLICAÇÃO

Não há encargos para publicação. A publicação é gratuita tanto para os membros como para os não-membros.

## DETALHES DE CONTATO

Caso deseje enviar cartas, comentários, comentários, artigos de investigação, relatórios de casos, imagens médicas, submissões de publicações ou relatórios de conferências para publicação no *Boletim AfSPID*, por favor envie por e-mail as suas contribuições para [brian.eley@uct.ac.za](mailto:brian.eley@uct.ac.za)

## ADESÃO AFSPID

Para se juntar à AfSPID envie a Natasha Samuels, [samuels@sun.ac.za](mailto:samuels@sun.ac.za) um breve e-mail expressando o seu interesse em juntar-se à AfSPID juntamente com as seguintes informações: (1) nome, apelido e título, (2) país de residência, (3) descrição do trabalho (especialista em identificação registada, clínico, investigador, consultor, registrar, médico, enfermeira, estudante, etc.), (4) sua instituição/filiação e (5) seus dados de contacto. Atualmente, não existe taxa de subscrição.