

## AS INFEÇÕES CAUSADAS POR FUNGOS E A IMPORTÂNCIA DO SEU DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

MARIA DA LUZ MARTINS (M.L. MARTINS) \* / \*\*  
ANA PAULA MADURO (A.P. MADURO) \* / \*\*  
JOÃO JOSÉ INÁCIO SILVA (J. INÁCIO) \*\*\*

\* Laboratório de Micologia, Unidade de Microbiologia Médica, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa. Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisboa, Portugal. *E-mail*: luz@ihmt.unl.pt (M.L. Martins). Telefone: 21 3652600;

\*\* Centro de Recursos Microbiológicos (CREM) / Universidade Nova de Lisboa.

\*\*\* Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.).

Desde a sua fundação, têm sido estudadas, no IHMT, as infeções humanas causadas por fungos. A Micologia Médica, inicialmente integrada na 5ª Cadeira (Dermatologia, Venereologia e Micologia), desde sempre se tem dedicado à pesquisa de novos métodos de diagnóstico das infeções fúngicas humanas, especialmente as invasivas e as de origem tropical, sua epidemiologia e tratamento.

As micoses estão entre as doenças infecciosas mais ubíquas que atingem a humanidade. Na sua diversidade de manifestações – superficiais, subcutâneas e sistêmicas – ocorrem em todos os continentes e em todas as regiões climáticas. Afetam todos os estratos da sociedade e todas as faixas etárias, atingindo até fetos no ventre materno. Não é de admirar que as micoses constituam um problema de saúde pública significativo mas, infelizmente, muitas vezes subestimado e negligenciado. O desafio resulta não só do grande número de vítimas estimado, mas também das dificuldades inerentes à rapidez e especificidade do diagnóstico da maior parte das micoses. A falta de especificidade da sintomatologia e dos sinais clínicos faz com que mimetizem outras doenças microbianas, bem como neoplasias. Estas características podem atrasar, ou até mesmo impedir, diagnóstico e tratamento específicos.

Os países tropicais têm grande parte das doenças fúngicas que ocorrem em todo o mundo. As suas condições climáticas, económicas e sociais influenciam significativamente a prevalência e incidência de micoses. Os fungos patogénicos, tais como a maioria dos fungos filamentosos e leveduras, crescem melhor em ambientes quentes e húmidos e onde a matéria orgânica é abundante. As micoses adquiridas através de incidentes traumáticos são mais frequentes em regiões onde é

usada pouca roupa por causa do calor e da humidade. A pobreza também desempenha um papel importante, pois pessoas subnutridas têm menor resistência a infeções. A falta generalizada de assistência médica adequada permite que as infeções fúngicas, uma vez adquiridas, se desenvolvam e disseminem inabalavelmente e cheguem a tornar-se ameaças à vida ou levem a estados incapacitantes.

O impacto relativo das micoses em relação a outras doenças infecciosas é difícil, se não impossível, para que seja documentado com precisão razoável. A OMS e os vários ministérios da saúde teriam que designar micoses como doenças de notificação obrigatória para que os dados sobre a sua incidência e prevalência passem a estar disponíveis. Somente através da publicação de casos e de relatórios pode haver uma ideia da magnitude do problema de saúde pública que elas representam (Cunha *et al.*, 2012; Vieira *et al.*, 2009). O problema estatístico tem sido comparado a um icebergue, onde a porção visível representa apenas uma pequena fração do volume submerso. As infeções fúngicas invasivas são cada vez mais frequentes em todo o mundo, mesmo nos países mais desenvolvidos, afetando especialmente indivíduos com vários graus de imunocomprometimento devido, por exemplo, à infeção por VIH ou a neoplasias hematológicas. Além disso, podem ocorrer secundariamente a tratamentos mais agressivos como cirurgias, terapêutica antirretroviral, quimioterapia, transplante de precursores hematopoiéticos e tratamentos com antimicrobianos de largo espetro. Estes tratamentos, que têm, como objetivo, a sobrevivência do paciente em relação à sua doença subjacente, tornam-no, por sua vez, suscetível a infeções por agentes oportunistas. Paralelamente, temos testemunhado, nestes últimos anos, um

notável aumento de infecções nosocomiais causadas pelos mesmos fungos emergentes, nos mesmos grupos de doentes.

Estes agentes etiológicos emergentes geralmente acabam por ser novas espécies de fungos filamentosos e leveduras, até agora considerados não patogênicos e, por isso, muitas vezes ignorados pela maioria dos laboratórios de diagnóstico. Com frequência desconcertante, estes “novos fungos” são descartados como contaminantes antes que seja realizada avaliação da sua importância médica. Além desses obstáculos, para um adequado atendimento ao paciente, existe uma escassez de clínicos, patologistas e microbiologistas treinados para diagnosticar doenças fúngicas.

As infecções fúngicas invasivas apresentam, em geral, quadros clínicos difíceis de reconhecer, uma vez que os sinais e sintomas são, muitas vezes, inespecíficos. A EORTC (*European Organisation for Research and Treatment of Cancer*) e o NIAID (*National Institute of Allergy and Infectious Diseases*) definiram que o diagnóstico de infecções fúngicas invasivas em pacientes com cancro e transplantes de precursores hematopoiéticos assenta em três índices: i) fatores predisponentes no hospedeiro; ii) elementos clínicos e radiológicos; iii) resultados laboratoriais. Estes fatores, considerados em conjunto, permitem classificar estas infecções como comprovadas, prováveis ou possíveis. Para considerar uma infecção fúngica como comprovada, é suficiente a obtenção de um exame direto ou de uma cultura positiva a partir de um local normalmente estéril, independentemente da presença de fatores predisponentes no hospedeiro, fatores clínicos e radiológicos. Uma infecção é considerada provável quando existem fatores predisponentes no hospedeiro, elementos clínicos sugestivos, mas resultados micológicos positivos não decisivos como, por exemplo, uma cultura positiva a partir de um local não estéril.

Uma infecção possível é aquela em que um dos três elementos não está presente, sejam fatores predisponentes, clínicos e radiológicos ou micológicos. É importante ter presente que uma cultura fúngica positiva a partir uma amostra de um local não estéril não é suficiente para confirmar uma infecção por fungos. Com base nas informações clínicas, deve sempre excluir-se colonização do local anatómico ou também considerar a possibilidade de que, durante a colheita da amostra ou no processamento laboratorial, possa ter ocorrido contaminação.

Uma ligação estreita entre os clínicos e o laboratório é muito importante para uma adequada

colheita das amostras, bem como o fornecimento de informações sucintas e precisas sobre o doente. O laboratório de micologia deve apoiar o médico no diagnóstico de infecções fúngicas invasivas, possuindo técnicas adequadas, rápidas e confiáveis, contribuindo para início precoce da terapêutica antifúngica apropriada. O diagnóstico micológico convencional depende principalmente de microscopia direta das amostras biológicas e de cultura do agente etiológico, embora se estejam desenvolvendo metodologias como a deteção rápida de antígeno e/ou anticorpos e técnicas de biologia molecular.

Devido a dificuldades, principalmente do tempo requerido pelas técnicas micológicas tradicionais, ao longo das últimas décadas têm sido aplicadas várias técnicas no domínio da biologia molecular, com grande potencial na área do diagnóstico micológico, tanto através da deteção e identificação do agente causador, como para avaliação de clonalidade. A amplificação de ácidos nucleicos por PCR está entre as técnicas mais comuns, especialmente pela elevada sensibilidade, rapidez e facilidade de implementação em qualquer laboratório de diagnóstico. Em relação aos fungos, tem sido muito utilizado, como alvo, o DNA ribossómico, e respetivas regiões espaçadoras, em virtude de apresentar regiões altamente conservadas alternando com regiões de sequências hipervariáveis, permitindo identificação das espécies causadoras de infeção em diferentes amostras clínicas.

No entanto, para a sua aplicação em rotina, há necessidade de melhorar numerosos aspetos técnicos, como a otimização dos métodos de extração de ADN dos fungos e redução da potencial contaminação com fungos ambientais que podem dar origem a falsos positivos. Outro aspeto a considerar é a eventual excessiva sensibilidade dos métodos moleculares, a qual, muitas vezes, torna difícil a interpretação dos resultados. A descoberta do DNA fúngico em amostras clínicas nem sempre significa infeção fúngica, principalmente se estas amostras forem, à partida, não estéreis (exs.: urina, expetoração e exsudados). Pode corresponder a uma simples colonização, contaminação ambiental, ou os fungos detetados fazerem simplesmente parte da flora microbiana normal do organismo. Enquanto os maiores desafios nesta área consistem em correlacionar os métodos propostos com os casos de doença invasiva e, acima de tudo, no desenvolvimento de técnicas padronizadas e reprodutíveis, o exame laboratorial convencional, assente na observação direta das amostras clínicas

e no isolamento do fungo em cultura, ainda continua a ser o método-padrão do diagnóstico laboratorial em Micologia Médica.

Presentemente, e no futuro, o Laboratório de Micologia do IHMT continuará a dedicar-se ao desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico das infeções fúngicas que sejam simples, económicas, mais eficazes e rápidas, também com o objetivo de serem facilmente utilizadas em laboratórios de fracos recursos técnicos e económicos (Inácio e Martins, 2013; Lucas *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2010). Simultaneamente, continuará a apostar na formação de profissionais de saúde na área da Micologia Médica.

## BIBLIOGRAFIA

### Nota introdutória

DAVIS, J. R. & LEDERBERG, J. (2000) - *Public Health Systems and Emerging Infections: Assessing the Capabilities of the Public and Private Sectors*. National Academy Press, Washington DC.

HOTEZ, P. J., FENWICK, A., SAVIOLI, L. & MOLYNEUX, D.H. (2009) – “Rescuing the bottom billion through control of neglected tropical diseases”. *Lancet*, 373: 1570-1575.

SNOWDEN, F. M. (2008) – “Emerging and reemerging diseases: a historical perspective”. *Immunol. Rev.*, 225: 9-26.

### “Principais helmintoses negligenciadas – ontem, hoje e amanhã IHMT”

AZEVEDO, J. F., ROQUE, R. A., COLAÇO, A., CRISTINO, E., RES, J. F. & COELHO, M. F. (1948) – “A ancilostomíase rural em Portugal”. *An. Inst. Med. Trop.*, 5: 31-70.

AZEVEDO, J. F., COLAÇO, A. T. F. & FARO, M. M. C. (1954) – “As bilharzioses humanas no sul do Save (Moçambique)”. *An. Inst. Med. Trop.*, 11: 5-121.

AZEVEDO, J. F. (1976) – “Parasitoses portuguesas de carácter continental”. *O Médico*, XXVIII: 51-53.

BARBOSA, W., ROMBERT, P. C. & MARTINS DA ROCHA, R.P. (1971) – “Notas sobre a imunologia das filarioses. I – Diagnóstico pela técnica de imunofluorescência indirecta, em lâmina, com um novo antígeno de *Onchocerca volvulus* obtidos dos nódulos”. *J. Soc. Ciênc. Méd. Lisboa*, Tomo CXXXV: 463-478.

BONAPARTE, F., TRINCA, A., CLEMENTE, I., GONÇALVES, L., BELO, S. & GRÁCIO, M. A. A. (2005) – “Avaliação da transmissão de filarioses linfáticas em Timor-Leste através de dois métodos indirectos”. *Acta Parasitol. Port.*, 12: 53.

CASACA, V. M. R. (1966) – “Contribuição para o estudo das filarioses existentes em Angola. 1 – *Onchocerca volvulus*. 2 – *Loa-loa*. 3 – *Dipetalonema perstans*”. *An. Inst. Med. Trop.*, 23: 133.

DAVID, H. L. & EDESON, J. F. (1965) - “Filariasis in Portuguese Timor, with observations on a new microfilaria found in man”. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 59: 193-204.

DUMBA, B. (2006). *Contribuição para o estudo epidemiológico das schistosomoses e helmintoses intestinais no Planalto Central de Angola províncias do Huambo e do Bié*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

FENWICK, A., MOLYNEUX, D. & NANTULYA, V. (2005) – “Achieving the Millennium Development Goals”. *Lancet*, 365: 1029-1030.

FERREIRA, E. C. (1953) – “Distribuição e incidência de algumas endemias em Angola”. *An. Inst. Med. Trop.*, 10: 1759-1764.

FERREIRA, F. S. C., CUNHA, C. A. C. L., VIEIRA, R. A. & MATEUS, M. S. (1965) – “Filariase linfática em Timor Português. I – Aspectos gerais da infestação por *Brugia* (Timor)”. *An. Inst. Med. Trop.*, 22: 75-97.

GOMES, J. J. C. (2002) - *Estudo epidemiológico da dirofilariose canina no concelho de Setúbal: sua importância como zoonose*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

GRÁCIO, M. A. A. (1977/1978a) – “Contribuição para o conhecimento da incidência de bilharziose vesical no distrito de Benguela. I – Área de Bocoio (Sousa Lara). II – Concelho de Vila Mariano Machado (Ganda). III – Concelho de Cubal”. *An. Inst. Med. Trop.*, 5: 281-292.

GRÁCIO, M. A. A. (1988) – “The genus *Bulinus* in São Tomé e Príncipe: First record and contribution to the life history”. *J. Med. Appl. Malacology*, 1: 165-172.

GRÁCIO, M. A. A., ROLLINSON, D., COSTA, C., & NHAQUE, A. T. (1992) – “Intestinal schistosomiasis: report of the first cases in Guinea Bissau”. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86: 183.

GRÁCIO, M. A. A., NHAQUE, A. T. & ROLLINSON, D. (1995) - Schistosomiasis in Guinea Bissau. *Science and Technology for Development, Second Programme Parasitology*, Vol. A: 239-247.

HOTEZ, P. J., BRINDLEY, P. J., BETHONY, J. M., KING, C. H., PEARCE, E. J. & JACOBSON, J. (2008) – “Helminth infections: the great neglected tropical diseases”. *J. Clin. Invest.*, 118: 1311-1321.

HOTEZ, P. J. & FENWICK, A. (2009) – “Schistosomiasis in Africa: An emerging tragedy in our new global health decade”. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 3: e485.

JEREMIAS, I. R. (2006) - *Avaliação do impacto das helmintoses intestinais na etiologia da anemia por deficiência de ferro: estudo parasitológico e hematológico*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

KJETLAND, E. F., NDOLUVU, P. D., GORNO, E., MDULUZA, T. & MIDZI (2006) – “Association between genital schistosomiasis and HIV in a rural Zimbabwean women”. *AIDS*, 20: 593-600.

KOUKOUNARI, A., GABRIELLI, A. F., TOURE, S., BOSQUE-OLIVA, E., ZHANG, Y., SELLIN, B., DONNELLY, C. A., FENWICK, A. & WEBSTER, J. P. (2007) – “*Schistosoma haematobium* infection and morbidity before and after large-scale administration of praziquantel in Burkina Faso”. *J. Infect. Dis.*, 196: 659-669.

LOBO, M. T. (2011) - *Contribuição para o estudo das parasitoses em Portugal: helmintas intestinais em crianças escolares do concelho de Palmela*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

- MANGAL, T. D., PATERSON, S. & FENTON, A. (2008) – “Predicting the impact of long-term temperature changes on the epidemiology and control of schistosomiasis: a mechanistic model”. *PLoS ONE*, 3: e1438.
- MAXWELL, P. D. (2008) – “The global burden of urinary bladder cancer”. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 218: 1-9.
- PARTONO, F., AENNIS, D. T., ATMOSOEDJONO, S., OEMIJATI, S. & CROSS, J. H. (1977) – “*Brugia timori* sp. (Nematoda: Filarioidea) from Flores Island, Indonesia”. *J. Parasitol.*, 63:540-546.
- PERABOIA, H. R. G. (2002) - *Helmintas Intestinais em alunos de escolas primárias nos concelhos de Lisboa e Setúbal*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.
- PINHÃO, R. C. (1973) – “A variabilidade morfológica das microfilarias e a sua importância para a classificação específica”. *O Médico*, 66: 69-74.
- PULLAN, R. & BROOKER, S. (2008) – “The health impact of polyparasitism in humans: are we underestimating the burden of parasitic diseases?” *Parasitol.*, 135: 783–794.
- RAPOSO, J. F. P., LOPES, M. A., ALVES, A. O. & MORENO, F. G. (1981) – “Dados para um estudo clínico-epidemiológico das helmintíases endémicas na freguesia de S. Pedro da Gafonheira”. *J. Soc. Ciênc. Méd. Lisboa*, 145: 207-230.
- RÊGO, F. B. (2004) - *Estudo epidemiológico: helmintoses intestinais e filariose linfática nos alunos das escolas primárias nos distritos de Manatuto e Baucau Timor Leste*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.
- TAKOUGANG, I., KAMTCHOUING, P., MELI, J., NKELE, N., KEUZETA, J. J., FOTSO, S., FOKOUA, S. & TEMGOUA, M. W. (2008) – “Female genital schistosomiasis: Is there an association with infertility?” *Trop. Med. Health*, 36: 149-154.
- WHO (2006) – “Preventive chemotherapy in human helminthiasis”. [online]. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43545/1/9241547103\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43545/1/9241547103_eng.pdf). Acedido em 12-11-2012.
- WHO (2012) – “Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases”. [online]. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70809/1/WHO\\_HTM\\_NTD\\_2012.1\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70809/1/WHO_HTM_NTD_2012.1_eng.pdf). Acedido em 12-11-2012.
- “Tripanossomose humana americana – a doença de Chagas”**
- MILES, M., LLEWELLYN, M., LEWIS, M., YEO, M., BALEELA, R., FITZPATRICK, S., GAUNT, M. & MAURICIO, I. (2009) – “The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future”. *Parasitol.*, 136: 1509-1528.
- PÉREZ-MOLINA, J. A., NORMAN, F. & LÓPEZ-VÉLEZ, R. (2012) – “Chagas Disease in Non-Endemic Countries: Epidemiology, Clinical Presentation and Treatment”. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 14:263-274.
- WHO (2010) – “First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases”. [online].
- [http://www.who.int/neglected\\_diseases/2010report/WHO\\_NTD\\_report\\_update\\_2011.pdf](http://www.who.int/neglected_diseases/2010report/WHO_NTD_report_update_2011.pdf).
- WHO (2012) – “Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases: a roadmap for implementation”. [online]. [http://www.who.int/neglected\\_diseases/At\\_a\\_glance.pdf](http://www.who.int/neglected_diseases/At_a_glance.pdf).
- ZINGALES, B., ANDRADE, S. G., BRIONES, M. R. S., CAMPBELL, D. A., CHIARI, E., FERNANDES, O., GUHL, F., LAGES-SILVA, E., MACEDO, A. M., MACHADO, C. R., MILES, M. A., ROMANHA, A. J., STURM, N. R., TIBAYRENC, M. & SCHIJMAN, A. G. (2009) – “A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI”. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 104: 1051–1054.
- “Protozooses intestinais e microsporídia”**
- BEZIRTOGLOU, C., DEKAS, K. & CHARVALOS, E. (2011) – “Climate changes, environment and infection: Facts, scenarios and growing awareness from the public health community with in Europe”. *Anaerobe*, 17: 337-340.
- GARCIA, L. S. (2007) – “Intestinal protozoa: amebae”. *Em: Diagnostic medical parasitology*. 5ª edição. ASM Press, Washington (pp. 6-32).
- HOTEZ, P. J. (2008) – “Neglected infections of poverty in the United States of America”. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2: e256.
- HOTEZ, P. J. (2009) – “Neglected diseases amid wealth in the United States and Europe”. *Health Affairs*, 28: 1720–1725.
- HOTEZ, P. J. & GURWITH, M. (2011) – “Europe’s neglected infections of poverty”. *Int. J. Infect. Dis.*, 15: e611-e619.
- KHAW, M. & PANOSIAN, C. B. (1995) – “Human Antiprotozoal Therapy: Past, Present, and Future”. *Clin. Microb. Rev.*, 8: 427–439.
- LOBO, M. L. (2010) - *Epidemiologia e caracterização de espécies implicadas na microsporidiose humana em Portugal por análise parasitológica e molecular*. Tese de doutoramento. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.
- MATOS, O., ÂNGELO, H. & ANTUNES, F. (2011) – “Protozoários oportunistas e *Pneumocystis jirovecii*”. *Em: ANTUNES, F. (ed.), Manual sobre sida*. 4ª edição. Permanyer Portugal, Lisboa
- MURRAY, P. R., ROSENTHAL, K. S., KOBAYASHI, G. S. & PFALLER, M. A. (2004) - “Protozoários intestinais e urogenitais”. *Em Microbiologia Médica*. 4ª edição. Guanabara Koogan, Porto Alegre.
- SAVIOLI, L., SMITH, H. & THOMPSON, A. (2006) – “*Giardia* and *Cryptosporidium* join the Neglected Diseases Initiative”. *Trends Parasitol.*, 22: 203-208.
- “Tripanossomose humana africana”**
- ATOUGUIA, J. M., JENNINGS, F. W. & MURRAY, M. (1995) – “Successful treatment of experimental murine *Trypanosoma brucei* infection with topical melarsoprol gel”. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 89: 531-533.
- ATOUGUIA, J. & COSTA, J. (1999) – “Therapy of human African trypanosomiasis: current situation”. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94: 221-224.

- ATOUGUIA, J. & KENNEDY, P. G. (2000) – “Human African Trypanosomiasis”. *Em*: Davis, L. & Kennedy, P. (eds.), *Infectious Diseases of the Nervous System*. Butterworth Heinmann, Oxford.
- ATOUGUIA, J. & NELSON, B. D. (2009) – “African Trypanosomiasis”. *Em*: SPECTOR, J. M. & GIBSON, T. E. (eds.), *Atlas of Pediatrics in the Tropics and Resource-Limited Settings*. American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village / IL.
- GOMES, J., LEÃO, C., FERREIRA, F., AFONSO, M. O., SANTOS, C., JOSENANDO, T., SEIXAS, J., ATOUGUIA, J. & CENTENO-LIMA, S. (2009) – “Molecular identification of *T. brucei* s. Linsetse flies after long-term permanence in field traps”. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 3: 735-738.
- JENNINGS, F. W., ATOUGUIA, J. M. & MURRAY, M. (1993) – “Topical melarsoprol for trypanosomiasis”. *Lancet*, 341: 1341-1342.
- LANÇA, A. S., DE SOUSA, K., ATOUGUIA, J., PRAZERES, D.M. F., MONTEIRO, G. A. & SILVA, M. S. (2011) – “*Trypanosoma brucei*: Immunisation with plasmid DNA encoding invariant surface glycoprotein gene is able to induce partial protection in experimental African trypanosomiasis”. *Exper. Parasitol.*, 127: 18-24.
- LUTJE, V., SEIXAS, J. & KENNEDY, A. (2010) – “Chemotherapy for second-stage Human African trypanosomiasis”. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, nº 8, Art. CD006201.
- ROCHA, G., MARTINS, A., GAMA, G., BRANDAO, F. & ATOUGUIA, J. (2004) – “Possible cases of sexual and congenital transmission of sleeping sickness”. *Lancet*, 363: 247.
- SILVA, M. S., PRAZERES, D. M. F., LANÇA, A. S., ATOUGUIA, J. & MONTEIRO, G. A. (2009) – “Trans-sialidase from *Trypanosoma brucei* as a potential target for DNA vaccine development against African trypanosomiasis”. *Parasitol. Res.*, 105: 1223-1229.
- SIMARRO, P. P., JANNIN, J. & CATTAND, P. (2008) – “Eliminating Human African Trypanosomiasis: Where Do We Stand and What Comes Next?” *PLoS Med.*, 5: e55.
- “Malária – deficiência em glucose-6-fosfato-desidrogenase e terapêutica com primaquina”**
- ALVES, J., MACHADO, P., SILVA, J., GONÇALVES, N., RIBEIRO, L., FAUSTINO, P., DO ROSÁRIO, V. E., MANCO, L., GUSMÃO, L., AMORIM, A. & AREZ, A. P. (2010) – “Analysis of malaria associated genetic traits in Cabo Verde, a melting pot of European and sub-Saharan settlers”. *Blood Cells Mol. Dis.*, 44:62-68.
- ALVING, A. S., CARSON, P. E., FLANAGAN, C. L. & ICKES, C. E. (1956) - “Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*, 124: 484-485.
- DIAS, F. (2012) - *Efeito de factores do hospedeiro e parasitários na susceptibilidade à malária e gravidade da doença*. Tese de Doutoramento. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.
- MATOS, J., DA CRUZ, F. P., CABRITA, E., GUT, J., NOGUEIRA, F., DO ROSÁRIO, V. E., MOREIRA, R., ROSENTHAL, P. J., PRUDÊNCIO, M. & GOMES, P. (2011) – “Novel potent metallocenes against liver stage malaria”. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 56: 1564-1570.
- MIRANDA, J., GONÇALVES, N., PICANÇO, I., DO ROSÁRIO, V. E., FAUSTINO, P. & AREZ, A. P. (2007) – “Sickle-cell trait and red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase status and malaria morbidity in Angola”. *Trop. Med. Int. Health*, 12(Suppl 1): 238.
- VALE, N., MOREIRA, R. & GOMES, P. (2009a) – “Primaquine revisited six decades after its discovery”. *Eur. J. Med. Chem.*, 44:937-953.
- VALE, N., NOGUEIRA, F., DO ROSÁRIO, V. E., GOMES, P. & MOREIRA, R. (2009b) – “Primaquine dipeptide derivatives bearing an imidazolidin-4-one moiety at the N-terminus as potential antimalarial prodrugs”. *Eur. J. Med. Chem.*, 44: 2506-2516.
- VALE, N., PRUDÊNCIO, M., MARQUES, C. A., COLLINS, M. S., GUT, J., NOGUEIRA, F., MATOS, J. P., ROSENTHAL, J., CUSHION, M. T., ROSÁRIO, V. DO, MOTTA, M. M., MOREIRA, R. & GOMES, P. (2009c) – “Imidazoquinones as antimalarial and antipneumocystis agents”. *J. Med. Chem.*, 52: 7800.
- WHO (2011) – “World Malaria Report 2011”. [online]. [http://www.who.int/malaria/world\\_malaria\\_report\\_2011/9789241564403\\_eng.pdf](http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/9789241564403_eng.pdf). Acedido em 11 nov 2012.
- “Leishmaniose: doença negligenciada da pobreza e emergente no mare nostrum – oito décadas de contributo do IHMT”**
- ABRANCHES, P., SANTOS-GOMES, G. & CAMPINO, L. (1993) – “Epidemiology of leishmaniasis in Portugal”. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 70: 349-355.
- CAMPINO, L., SANTOS-GOMES, G., PRATLONG, F., DEDET, J. P. & ABRANCHES, P. (1994) – “The isolation of *Leishmania donovani* MON-18, from an AIDS patient in Portugal: possible needle transmission”. *Parasite*, 1: 391-392.
- CAMPINO, L. & MAIA, C. (2012) – “The role of reservoirs canine leishmaniasis”. *Em*: PONTE-SUCRE, A., PADRON-NIEVES, M. & DIAZ, E., *Drug Resistance in Leishmania Parasites – Consequences, Molecular Mechanism and Possible Treatments*. Springer Verlag, Áustria.
- CORTES, S., MAURICIO, I., ALMEIDA, A., CRISTÓVÃO, J., PRATLONG, F., DEDET, J. P. & CAMPINO, L. (2006) – “Application of kDNA as a molecular marker to analyse *Leishmania infantum* diversity in Portugal”. *Parasitol. Int.*, 55: 277-283.
- CORTES, S., VAZ, Y., NEVES, R., MAIA, C., CARDOSO, L. & CAMPINO, L. (2012) – “Risk factors for canine leishmaniasis - A Portuguese national survey”. *Vet Parasitol.*, 189: 189-196.
- KUHLS, K., CHICHARRO, C., CAÑAVATE, C., CORTES, S., CAMPINO, L., HARALAMBOUS, C., SOTERIADOU, K., PRATLONG, F., DEDET, J. P., MAURICIO, I., MILES, M., SCHAAR, M., OCHSENREITHER, S., RADTKE, O. A. & SCHÖNIAN, G. (2008) – “Differentiation and gene flow among European populations of *Leishmania infantum* MON-1”. *PLoS Negl Trop. Dis.*, 2: e261.
- MAIA, C., GOMES, J., CRISTÓVÃO, J., NUNES, M., MARTINS, A., REBÊLO, E. & CAMPINO, L. (2010) – “Feline *Leishmania* infection in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal”. *Vet. Parasitol.*, 174: 336-340.

- MAURICIO, I., YEO, M., BAGHAEI, M., DOTO, D., PRATLONG, F., ZEMANOVA, E., DEDET, J. P., LUKES, J. & MILES, M. A. (2006) – “Towards multilocus sequence typing of the *Leishmania donovani* complex: resolving genotypes and haplotypes for five polymorphic metabolic enzymes (ASAT, GPI, NH1, NH2, PGD)”. *Int. J. Parasitol.*, 36: 757-769.
- PIRES, C. (2000) - *Os flebotomos (Diptera, Psychodidae) dos focos zoonóticos de leishmanioses em Portugal*. Tese de Doutoramento. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.
- “Infecções bacterianas negligenciadas, esquecidas ou desconhecidas? A tradição exótica do IHMT”**
- Bennetto, M. A. D., Romano, N. & Firenze, A. (2012) – “Re-emergence of HIV infection and syphilis among men who have sex with men. Public Health – Social and Behavior Health”. Em: MADDOCK, J. (ed.), <http://www.intechopen.com/books/public-health-social-and-behaviour-health/re-emergence-of-HIV-infection-and-syphilis-among-men-who-have-sex-with-men>. Acedido em 12 nov 2012.
- BORGES DA COSTA, J. (2009) - *Infecções Sexualmente Transmissíveis em adolescentes. Prevalência e associações com factores sócio-demográficos*. Tese de Doutoramento. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.
- COLLARES-PEREIRA, M. (1991) – “Bovine leptospirosis in cattle in Portugal: bacteriological and serological findings”. *Vet. Rec.*, 128: 549-550.
- COLLARES-PEREIRA, M., KORVER, H., CAO-THI, B. V., SANTOS-REIS, M., BELLENGER, E., BARANTON, G. & TERPSTRA, W. J. (2000) – “Analysis of *Leptospira* isolates from mainland Portugal and Azores islands”. *FEMS Microbiol. Letters*, 185: 181-187.
- COUTO, I., MACHADO, D., VIVEIROS, M., RODRIGUES, L. & AMARAL, L. (2010) – “Identification of nontuberculous mycobacteria in clinical samples using molecular methods: a three-year study”. *Clin. Microbiol. Infect.*, 16: 1161-1164.
- DGS (2008) – “Doenças de Declaração Obrigatória 2003-2007”. Direcção de Serviços de Epidemiologia e Estatísticas da Saúde, Divisão de Epidemiologia.
- FARIA, C. L. (2010) - *Chlamydia trachomatis: Infecção na grávida e no recém-nascido*. Tese de Mestrado. IHMT, UNL.
- Ferreira, O., Lisboa, C., Ramos, F. M. & Azevedo, F. (2012) – “Sífilis numa consulta de infeções sexualmente transmissíveis – análise de 880 doentes”. *Rev. Soc. Port. Venereol. Dermatol.*, 70: 99-104.
- FIGUEIRA, L. (1931) – “Espirositose ictero-haemorrhagica em Lisboa”. *Lisb. Médica*, 8: 855-856.
- GONÇALVES, A. T., PAIVA, C., MELO-MOTA, F., VIEIRA, M. L., NUNES, M., CARREIRA, T., MOTA-VIEIRA, L., AHMED, A., HARTSKEERL, R. A., HYDE, K. & COLLARES-PEREIRA, M. (2010) – “First isolation of human *Leptospira* strains (Azores), Portugal”. *Int. J. Inf. Dis.*, 14 (Suppl 3): e148-153.
- GRIFFITH, D. E., AKSAMIT, T., BROWN-ELLIOTT, B. A., CATANZARO, A., DALEY, C., GORDIN, F., HOLLAND, S. M., HORSBURGH, R., HUITT, G., IADEMARCO, M. F., ISEMAN, M., OLIVIER, K., RUOSS, S., VON REYN, C. F., WALLACE, R. J. JR, WINTHROP, K., ATS MYCOBACTERIAL DISEASES SUBCOMMITTEE, AMERICAN THORACIC SOCIETY & INFECTIOUS DISEASE SOCIETY OF AMERICA (2007) – “An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases”. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 175: 367-416.
- LEVETT, P. N. (1999) – “Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease?”. *J. Med. Microbiol.*, 48: 417-418.
- TORTOLI, E. (2009) – “Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections”. *Clin. Microbiol. Infect.*, 15: 906-910.
- UCNTD (UNITING TO COMBAT NEGLECTED TROPICAL DISEASES) (2012) – “The London Declaration on Neglected Tropical Disease”. [online]. [http://unitingtocombatntds.org/downloads/press/ntd\\_event\\_london\\_declaration\\_on\\_ntds.pdf](http://unitingtocombatntds.org/downloads/press/ntd_event_london_declaration_on_ntds.pdf). Acedido em 12 nov 2012.
- VIEIRA, M. L. (2006) - *Aspectos da Caracterização Antigénica e Molecular da Leptospiriose em Áreas Endémicas*. Tese de Doutoramento. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.
- VIEIRA, M. L., GAMA-SIMÕES, M. J. & COLLARES-PEREIRA, M. (2006) – “Human leptospirosis in Portugal: a retrospective study of eighteen years”. *Int. J. Infect. Dis.*, 10: 378-338.
- WHO (2004) – “Surveillance and control of *Mycobacterium ulcerans* disease (Buruli ulcer)”. Fifty-seventh World Health Assembly (17-22 maio). Resolução WHA57.1. Organização Mundial da Saúde, Genebra
- WHO (2007) – “Global strategy for the prevention and control of sexually transmitted infections: 2006-2015”. Organização Mundial da Saúde, Genebra.
- WHO (2009) – “Estimating the Global Burden of Human Leptospirosis. The Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group (LERG)”. Organização Mundial da Saúde, Genebra.
- “Vírus transmitidos por mosquitos”**
- ALMEIDA, A. P., GONÇALVES, Y. M., NOVO, M. T., SOUSA, C. A., MELIM, M. & GRÁCIO, A. J. (2007) – “Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal”. *Euro Surveill.*, 12: E071115.6.
- BARROS, S. C., RAMOS, F., FAGULHA, T., DUARTE, M., HENRIQUES, M., LUÍS, T. & FEVEREIRO, M. (2011) – “Serological evidence of West Nile virus circulation in Portugal”. *Vet. Microbiol.*, 152: 407-410.
- ESTEVES, A., ALMEIDA, A. P., GALÃO, R. P., PARREIRA, R., PIEDADE, J., RODRIGUES, J. C., SOUSA, C. A. & NOVO, M. T. (2005) – “West Nile virus in Southern Portugal, 2004”. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5: 410-413.
- FILIPPE, A. R., SOBRAL, M., CAMPANIÇO, F. C. (1973) – “Encefalomielite equina por arbovírus. A propósito de uma epizootia presuntiva causada pelo vírus West Nile”. *Rev. Port. Cien. Vet.*, 68: 90-101.
- FILIPPE, A. R., ANDRADE, H. R. (1990) – “Arboviruses in the Iberian Peninsula”. *Acta Virol.*, 34: 582-591.

PARREIRA, R., SEVERINO, P., FREITAS, F., PIEDADE, J., ALMEIDA, A. P. & ESTEVES, A. (2007) – “Two distinct introductions of the West Nile virus in Portugal disclosed by phylogenetic analysis of genomic sequences”. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7: 344-352.

REZZA, G., NICOLETTI, L., ANGELINI, R., ROMI, R., FINARELLI, A. C., PANNING, M., CORDIOLI, P., FORTUNA, C., BOROS, S., MAGURANO, F., SILVI, G., ANGELINI, P., DOTTORI, M., CIUFOLINI, M. G., MAJORI, G. C., CASSONE, A. & CHIKV STUDY GROUP (2007) – “Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region”. *Lancet*, 370: 1840-1846.

WEAVER, S. C. & REISEN, W. K. (2010) – “Present and future arboviral threats”. *Antiviral Res.*, 85: 328-345.

#### “Hepatite delta”

CASACA, A., FARDILHA, M., DA CRUZ E SILVA, E. & CUNHA, C. (2011) – “The heterogeneous ribonuclear protein C (hnRNPC) interacts with the hepatitis delta virus small antigen”. *Virology*, 8: 358.

FREITAS, N., SALISSE, J., CUNHA, C., TOSHKOV, I., MENNE, S. & GUDIMA, S. (2012) – “Hepatitis delta virus infects the cells of hepatitis delta virus-induced hepatocellular carcinoma in woodchucks”. *Hepatology*, 56: 76-85.

HUGHES, S. A., WEDEMEYER, H. & HARRISON, P. M. (2011) – “Hepatitis delta virus”. *Lancet*, 8: 73-85.

MOTA, S., MENDES, M., PENQUE, D., FREITAS, N., COELHO, A. V. & CUNHA, C. (2009) – “Proteome analysis of a human liver carcinoma cell line stably expressing hepatitis delta virus ribonucleoproteins”. *J. Proteomics*, 72: 616-627.

NIRO, G. A. & SMEDILE, A. (2012) – “Current concept in the pathophysiology of hepatitis delta infection”. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 14: 9-14.

RAMALHO, F., CARVALHO, G., BONINO, F., BAPTISTA, A. & DE MOURA, M. C. (1987) – “Clinical and epidemiological significance of hepatitis delta virus (HDV) infection in chronic HBV carriers in Portugal”. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 234: 409-417.

#### “A epidemia de VIH/SIDA em Portugal e nos países africanos de língua oficial portuguesa”

CPLP/UNAIDS (2010) – “Epidemia de VIH nos países de língua oficial portuguesa”. [online]. <http://www.cplp.org/>. Acedido em 5 nov 2012.

ESTEVES, A., PARREIRA, R., PIEDADE, J., VENENNO, T. & CANAS-FERREIRA, W. F. (2000) – “Genetic characterization of HIV type 1 and type 2 from Bissau, Guinea-Bissau (West Africa)”. *Virus Res.*, 68: 51-61.

ESTEVES, A., PARREIRA, R., VENENNO, T., FRANCO, M., PIEDADE, J., GERMANO DE SOUSA, J. & CANAS-FERREIRA, W. F. (2002) – “Molecular epidemiology of HIV type 1 infection in Portugal: high prevalence of non-B subtypes”. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 18: 313-325.

ESTEVES, A., PARREIRA, R., VENENNO, T., FRANCO, M., PIEDADE, J., GERMANO DE SOUSA, J., PARREIRA, R., PÁDUA, E., PIEDADE, J., VENENNO, T., PAIXÃO, M. T. & ESTEVES, A. (2005) – “Genetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 *nef* in Portugal: subtyping, identification of mosaic genes, and amino acid sequence variability”. *J. Med. Virol.*, 77: 8-16.

INSA (2012) – “Infecção VIH/SIDA: a situação em Portugal a 31/12/2011”. [online]. <http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18984/3/reletorio%20VIH%20SIDA%202011%20versao%20web.pdf>. Acedido em 5 nov 2012.

PARREIRA, R., ESTEVES, A., SANTOS, C., PIEDADE, J., VENENNO, T. & CANAS-FERREIRA, W. F. (2000) – “Genetic variability of human immunodeficiency virus type 2 C2V3 region within and between individuals from Bissau, Guinea-Bissau, West Africa”. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 16: 1307-1312.

PARREIRA, R., MONTEIRO, F., PÁDUA, E., PIEDADE, J., VENENNO, T., PAIXÃO, M. T. & ESTEVES, A. (2006a) – “Natural polymorphisms of HIV type 2 *pol* sequences from drug-naïve individuals”. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 22: 1178-1182.

PARREIRA, R., PIEDADE, J., DOMINGUES, A., LOBÃO, D., SANTOS, M., VENENNO, T., BAPTISTA, J. L., MUSSA, S. A., BARRETO, A. T., BAPTISTA, A. J. & ESTEVES, A. (2006b) – “Genetic characterization of human immunodeficiency virus type 1 from Beira, Mozambique”. *Microbes Infect.*, 8: 2442-2451.

PIEADADE, J., VENENNO, T., PRIETO, E., ALBUQUERQUE, R., ESTEVES, A., PARREIRA, R. & CANAS-FERREIRA, W. F. (2000) – “Longstanding presence of HIV-2 infection in Guinea-Bissau (West Africa)”. *Acta Trop.*, 76: 119-124.

SANTOS, A. & SOARES, M. A. (2010) – “HIV genetic diversity and drug resistance”. *Viruses*, 2: 503-531.

SOUSA, C. I. (2012). *Diversidade genética e resistência natural ao Maraviroc em estirpes do HIV-1 em circulação em utilizadores de drogas por via endovenosa na Grande Lisboa*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.

UNAIDS (2012) – “Global AIDS epidemic facts and figures”. <http://www.unaids.org/en/resources/presscentre/factsheets/>. [online]. Acedido em 5 nov 2012.

VIDEIRA E CASTRO, S. (2010) - *Diversidade genética e resistência aos anti-retrovirais inibidores enzimáticos de HIV-1 de uma população de toxicod dependentes por via endovenosa da Grande Lisboa*. Tese de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa.

#### “Rotavírus, uma ameaça à vida das crianças nos países em vias de desenvolvimento”

BÁNYAI, K., LÁSZLÓ, B., DUQUE, J., STEELE, A. D., NELSON, E. A. S., GENTSCH, J. R. & PARASHAR, U. D. (2012) – “Systematic review of regional and temporal trends in global rotavirus strain diversity in the pre rotavirus vaccine era: Insights for understanding the impact of rotavirus vaccination programs”. *Vaccine*, 30S: A122-130.

ITURRIZA-GÓMARA, M., KANG, G. & GRAY, J. (2004) – “Rotavirus genotyping: keeping up with an evolving population of human rotaviruses”. *J. Clin. Virol.*, 31: 259-265.

MADHI, S. A., CUNLIFFE, N. A., STEELE, D., WITTE, D., KIRSTEN, M., LOUW, C., NGWIRA, B., VICTOR, J. C., GILLARD, P. H. & CHEUVART BB (2010) – “Effect of human rotavirus vaccine on severe diarrhea in African infants”. *NewEngl.J. Med.*, 362: 289-298.

MATTHIJNSSENS, J., CIARLET, M., MCDONALD, S. M., ATTOUL, H., BÁNYAI, K., BRISTER, J. R., BUESA, J., ESONA, M. D., ESTES, M. K., GENTSCH, J. R., ITURRIZA-GÓMARA, M., JOHNE, R., KIRKWOOD, C. D., MARTELLA, V., MERTENS, P. P., NAKAGOMI, O., PARREÑO, V., RAHMAN, M., RUGGERI, F. M., SAIF, L. J., SANTOS, N., STEYER, A., TANIGUCHI, K., PATTON, J. T., DESSELBERGER, U. & VAN RANST, M. (2011) – “Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG)”. *Arch. Virol.*, 156: 1397-1413.

SOW, S. O., TAPIA, M., HAIDARA, F. C., CIARLET, M., DIALLO, F., KODIO, M., DOUMBIA, M., DEMBÉLÉ, R. D., TRAORÉ, O., ONWUCHEKWA, U. U., LEWIS, K. D., VICTOR, J. C., STEELE, A. D., NEUZIL, K. M., KOTLOFF, K. L. & LEVINE, M. M. (2012) – “Efficacy of the oral pentavalent rotavirus vaccine in Mali”. *Vaccine*, 30 (S1): A71-78.

TATE, J. E., BURTON, A. H., BOSCHI-PINTO, C., STEELE, A., DUQUE, J. & PARASHAR, U. D. (2011) – “2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis”. *Lancet Infect. Dis.*, 12: 136-141.

TODD, S., PAGE, N. A., STEELE, D., PEENZE, I. & CUNLIFFE, A. (2010) – “Rotavirus strain types circulating in Africa: review of studies published during 1997-2006”. *J. Infect. Dis.*, 202(S1):S34-42.

#### “As infecções causadas por fungos e a importância do seu diagnóstico laboratorial”

CUNHA, D., AMARO, C., VIEIRA, M. R., MARTINS, M. L., MADURO, A. P., INÁCIO, J., AFONSO, A., PINTO, G. M. & CARDOSO, J. (2012) – “Phaeohyphomycosis caused by *Alternaria infectoria* presenting as multiple vegetating lesions in a renal transplant patient”. *Rev. Iberoam. Micol.*, 29: 44-46.

INÁCIO, J. & MARTINS, M. L. (2013) – “Microscopic Detection of Yeasts Using Fluorescence In Situ Hybridization”. Em: O’CONNOR, L. & GLYNN, B. (eds.), *Fungal Diagnostics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. Volume 968. Springer Science and Business Media, New York, USA.

LUCAS, S., MARTINS, M. L., FLORES, O., MEYER, W., SPENCER-MARTINS, I. & INÁCIO, J. (2010) – “Differentiation of *Cryptococcus neoformans* varieties and *Cryptococcus gattii* using CAP59-based loop-mediated isothermal DNA amplification”. *Clin. Microbiol. Infect.*, 16: 711- 714.

MARTINS, M. L., FERREIRA, A., SAMPAIO, A., VIEIRA, M. R. & INÁCIO, J. (2010) – “Direct and specific identification of *Cryptococcus neoformans* in biological samples using fluorescently labelled DNA probes”. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 29: 571-576.

VIEIRA, M. R., BOTELHO, M. M., LIMA, C., LÁZARO, A. & MARTINS, M. L. (2009) – “Intra-abdominal abscess - a clinical manifestation of african histoplasmosis”. *J. Med. Mycol.*, 19:134-137.