



_título:

Doença Meningocócica Invasiva em Portugal

Vigilância Epidemiológica de base laboratorial

_sub-título:

_Relatório Anual da Rede de Laboratórios VigLab Doença Meningocócica
2011

_edição:

_INSA, IP

_autores:

_Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis*. Departamento de Doenças Infecciosas
_Maria João Simões, Célia Betencourt, Paula Cristovão

_local / data:

_Lisboa
_Março 2013



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge



Catálogo na publicação:

PORTUGAL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP

Doença meningocócica invasiva em Portugal. Vigilância epidemiológica de base laboratorial : relatório anual da Rede de Laboratórios VigLab Doença Meningocócica 2011 / Maria João Simões, Célia Betencourt, Paula Cristovão. - Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, 2013. - 29 p. : il.

ISBN: 978-972-8643-76-8

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2013.



Título: Doença meningocócica invasiva em Portugal. Vigilância epidemiológica de base laboratorial
Relatório anual da Rede de Laboratórios VigLab Doença Meningocócica 2011

Autores: Maria João Simões, Célia Betencourt, Paula Cristovão

Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis*. Departamento de Doenças Infecciosas

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

Coordenação técnica, design e paginação: Biblioteca do INSA

ISBN: 978-972-8643-76-8

Lisboa, março de 2013

Reprodução autorizada desde que a fonte seja citada, exceto para fins comerciais.





Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge, IP

Av. Padre Cruz 1649-016 Lisboa
t: 217 519 200 @: info@insa.min-saude.pt

www.insa.pt

_título:

Doença Meningocócica Invasiva em Portugal Vigilância Epidemiológica de base laboratorial

_sub-título:

**Relatório Anual da Rede de Laboratórios VigLab Doença Meningocócica
2011**

_edição:

INSA, IP

_autores: *Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis*. Departamento de Doenças Infecciosas*

Maria João Simões, Célia Betencourt, Paula Cristovão

_local / data:

Lisboa

Março 2013



www.insa.pt



Relatório 2011_Doença Meningocócica
Invasiva em Portugal





_sumário



www.insa.pt



Relatório 2011_Doença Meningocócica Invasiva em Portugal

Agradecimentos	5
Siglas e acrónimos	6
1_ Introdução	7
2_ Rede Europeia de Vigilância de Doenças Bacterianas Invasivas	9
3_ Vigilância Epidemiológica de Base Laboratorial da Doença Meningocócica em Portugal	11
3.1 Métodos.....	12
3.2 Resultados.....	13
3.2.1 Incidência total.....	15
3.2.2 Incidência por serogrupo.....	16
3.2.3 Caracterização do subtipo.....	18
3.2.4 Caracterização da proteína FetA.....	19
3.2.5 Identificação dos tipos de sequência (ST) e de complexos clonais.....	20
3.2.6 Estudo de susceptibilidade aos antibióticos.....	21
3.2.7 Vigilância do fenómeno de alterações capsulares.....	22
3.3 Taxas de notificação laboratorial.....	22
4_ Conclusões	25
Índice de gráficos	29
Índice de tabelas	29



..



_Agradecimentos

_O INSA agradece ao Dr. Orta Gomes, da Direcção Geral da Saúde, os dados disponibilizados no âmbito da Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Meningocócica.

_Aos Laboratórios de Microbiologia dos Serviços de Patologia Clínica dos Hospitais:

Laboratórios de Microbiologia dos Serviços de Patologia Clínica dos Hospitais que integram a Rede de Vigilância Laboratorial da Doença Meningocócica (VigLab-DM)

Centro Hospitalar da Cova da Beira, Covilhã	Hospital Distrital de Bragança, Bragança
Centro Hospitalar das Caldas da Rainha, Caldas da Rainha	Hospital Distrital de Chaves, Chaves
Centro Hospitalar de Coimbra, Coimbra	Hospital Distrital de Faro, Faro
Centro Hospitalar de Torres Vedras, Torres Vedras	Hospital Distrital de Macedo de Cavaleiros, Macedo de Cavaleiros
Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia, Vila Nova de Gaia	Hospital Distrital de Mirandela, Mirandela
Centro Hospitalar do Alto Minho	Hospital Distrital de Santarém, Santarém
Centro Hospitalar do Barlavento Algarvio, Portimão	Hospital do Divino Espírito Santo, Ponta Delgada
Centro Hospitalar do Funchal, Funchal	Hospital do Espírito Santo, Évora
Centro Hospitalar do Médio Tejo	Hospital Fernando da Fonseca, Amadora-Sintra
Centro Hospitalar Lisboa Central	Hospital Garcia da Orta, Almada
Centro Hospitalar Lisboa Norte	Hospital Geral de Santo António, Porto
Centro Hospitalar Lisboa Oriental	Hospital Infante D. Pedro, Aveiro
Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra	Hospital José Joaquim Fernandes, Beja
Hospital Conde de S. Bento, Santo Tirso	Hospital José Maria Grande, Portalegre
Hospital Cuf Descobertas, Lisboa	Hospital Padre Américo - Vale do Sousa, Penafiel
Hospital da Senhora da Oliveira, Guimarães	Hospital Pedro Hispano, Matosinhos
Hospital de Cascais	Hospital Reynaldo dos Santos, Vila Franca de Xira
Hospital de Nossa Senhora do Rosário, Barreiro	Hospital S. João de Deus, Vila Nova de Famalicão
Hospital de Santo André, Leiria	Hospital S. Pedro Pescador, Póvoa de Varzim
Hospital de São Bernardo, Setúbal	Hospital S. Sebastião, Santa Maria da Feira
Hospital de São Gonçalo, Amarante	Hospital SAMS, Lisboa
Hospital de São João, Porto	Hospital Santa Luzia de Elvas, Elvas
Hospital de São Marcos, Braga	Hospital Santa Maria Maior, Barcelos
Hospital de São Pedro, Vila Real - C. H. Vila Real-Régua SA	Hospital São Miguel, Oliveira de Azeméis
Hospital de São Teotónio, Viseu	Hospital Sousa Martins, Guarda
Hospital Distrital da Figueira da Foz, Figueira da Foz	



Siglas e acrónimos

CE – Comissão Europeia

cc – complexo clonal

CIM – Concentração inibitória mínima

DGS – Direcção Geral da Saúde

DM – Doença meningocócica

ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control

EMERT – European Meningococcal Epidemiology in Real Time

Eu-IBD – European Invasive Bacterial Diseases Surveillance Network

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

LCR – Líquido céfalo-raquidiano

MLST – multilocus sequence typing

ST – Sequence type

TESSy – The European Surveillance System

VR1 – Região variável 1

VR2 – Região variável 2

'relatório _2011



1. Introdução

A Doença meningocócica (DM) é endémica em muitos países industrializados, com uma incidência baixa no conjunto da população (1 a 2 por 100 000 habitantes). Contudo, apesar dos avanços conseguidos no seu controlo, continua a constituir um grave problema de saúde pública devido à elevada taxa de incidência em crianças com idade inferior a quatro anos (20 a 50 por 100 mil), à elevada letalidade (8 a 10%), à elevada frequência de sequelas graves (cerca de 20%) (Heymann, 2004) e ao facto de ser potencialmente epidémica. A incidência e epidemiologia da DM são influenciadas quer por factores de

virulência bacterianos quer pela susceptibilidade do hospedeiro.

A vigilância desta doença é fundamental para um correcto conhecimento da sua epidemiologia e monitorização, no tempo e no espaço, das estirpes circulantes. Os dados da vigilância epidemiológica deverão pois constituir a base da fundamentação de políticas de controlo e da monitorização do impacto das mesmas.

Em Portugal, a partir de Setembro de 2002, a notificação da DM passou a incluir, para além da notificação clínica já obrigatória desde 1939, a notificação laboratorial, por implementação do Sistema de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Meningocócica, estabelecida pela Circular Normativa N° 13/DEP da Direcção Geral



da Saúde (DGS), de 5 em Setembro de 2002 (DGS, 2002). A partir de então, a DGS e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) estabeleceram uma colaboração no sentido de operacionalizar esta vigilância a qual obriga, não só à confirmação laboratorial de todos os casos clinicamente suspeitos (por métodos culturais ou não culturais) de modo a conhecer-se a incidência da doença, mas também à caracterização de estirpes.



2. Rede Europeia de Vigilância de Doenças Bacterianas Invasivas

Portugal, através do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, integra, conjuntamente com outros 29 países europeus*, a rede europeia “European Invasive Bacterial Diseases Surveillance Network” (EU-IBD), coordenada pelo European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). No âmbito desta rede, cada país notifica anualmente os seus dados de vigilância na base europeia – “The European Surveillance System” (TESSy).

Esta rede tem como principais objectivos:

- _melhorar a vigilância nos países membros, nomeadamente para melhor avaliarem os programas de prevenção e controlo implementados;
- _promover a utilização alargada dos dados no seu conjunto para benefício da saúde pública europeia.

Na persecução destes objectivos, o ECDC disponibiliza aos laboratórios de referência dos

países participantes formação laboratorial em metodologias moleculares e, ainda, programas de avaliação externa da qualidade.

Esta estratégia possibilita a implementação de métodos padronizados de diagnóstico e caracterização, o que garante a qualidade dos dados de vigilância e a possibilidade de proceder a comparações entre os diversos países europeus (ECDC¹).

Os relatórios anuais referentes à vigilância epidemiológica das doenças bacterianas invasivas podem ser consultados no site do ECDC.

* Países europeus participantes na rede EU-IBD – Alemanha, Áustria, Bélgica, Bulgária, Chipre, Dinamarca, Eslováquia, Espanha, Estónia, Finlândia, França, Grécia, Holanda, Hungria, Irlanda, Islândia, Itália, Letónia, Liechtenstein, Lituânia, Luxemburgo, Malta, Noruega, Polónia, Portugal, Reino Unido, República Checa, Roménia e Suécia.





3. Vigilância Epidemiológica de Base Laboratorial da Doença Meningocócica em Portugal

A definição de caso de DM adoptada no presente relatório é o da Comissão Europeia (CE) de 19 de Março de 2002 (Decisão 2002/253/CE), publicada pelo Jornal Oficial das Comunidades Europeias em 3 de Abril de 2002. De acordo com os critérios da CE, um caso confirmado de doença meningocócica tem clínica compatível e confirmação laboratorial; um caso provável tem clínica compatível mas não tem confirmação laboratorial.

Neste documento define-se o quadro clínico do seguinte modo:

“Quadro clínico compatível com doença meningocócica, por exemplo meningite e/ou meningococémia que pode degenerar rapidamente em púrpura fulminante, choque e morte. São possíveis outras manifestações”.

Os critérios laboratoriais para o diagnóstico compreendem:

- *Isolamento de Neisseria meningitidis a partir de um local normalmente estéril ou de lesões purpúricas;*

- *Detecção de ácidos nucleicos de Neisseria meningitidis a partir de um local normalmente estéril ou de lesões purpúricas;*
- *Detecção do antígeno de Neisseria meningitidis no líquido céfalo-raquidiano (LCR);*
- *Detecção de diplococos gram-negativo no LCR.*

A definição de caso de DM foi posteriormente alterada pela decisão da Comissão Europeia de 28 de Abril de 2008, estabelecendo critérios clínicos mais consistentes (sinais meníngeos, exantema petequial, choque séptico, artrite séptica) e acrescentando critérios epidemiológicos (relação epidemiológica por contágio de pessoa a pessoa).

Caso possível – pessoa que preenche os critérios clínicos;

Caso provável – pessoa que preenche os critérios clínicos e apresenta uma relação epidemiológica;

Caso confirmado – pessoa que preenche os critérios laboratoriais.

A recente emenda da Comissão Europeia às definições de caso de doenças de declaração obrigatória, datada de 2012, em nada altera as definições relativas a doença meningocócica publicadas em 2008 (Official Journal EU, 2012)



O compromisso dos países participantes na rede EU-IBD para com o ECDC compreende a pesquisa e identificação de *N. meningitidis* a partir de amostras clínicas de locais habitualmente estéreis, a caracterização molecular de estirpes e a determinação da susceptibilidade aos seguintes antibióticos: Penicilina, Ceftriaxine (utilizados em terapêutica), Rifampicina e Ciprofloxacina (utilizados em profilaxia).

Os constituintes antigénicos úteis para a caracterização de *Neisseria meningitidis*, localizam-se no envelope celular: na cápsula polissacarídica e na membrana externa da parede bacteriana. O seu grau de polimorfismo permite a diferenciação de génotipos e a monitorização da sua dispersão geográfica. Estes são também constituintes que induzem a produção de anticorpos bactericidas pelo que são possíveis alvos para a produção de vacinas.

3.1 Métodos

As notificações laboratoriais são feitas pelos patologistas dos laboratórios dos hospitais de internamento, no impresso do anexo III da Circular Normativa da DGS N° 13/DEP ou *online* na plataforma “Rios”. No caso das notificações em papel, estas são enviadas ao Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis* do INSA,

em Lisboa. De acordo com a referida circular, além da notificação laboratorial, devem ser enviadas ao INSA as estirpes invasivas de meningococos isoladas no laboratório hospitalar ou, nos casos clinicamente suspeitos de DM com cultura negativa, devem ser enviadas amostras clínicas para pesquisa e caracterização de DNA de *N. meningitidis*.

A pesquisa de DNA *N. meningitidis* é feita por uma técnica de PCR em tempo real com sondas FRET dirigidas ao gene *ctrA*.

A caracterização do grupo é feita por uma técnica de PCR com *primers* dirigidos ao gene *siaD* (que codifica para polissialiltransferases) dos grupos B, C, W135 e Y, e dirigidos ao gene *sacC* do grupo A.

A caracterização do subtipo é feita por amplificação e sequenciação das duas regiões variáveis do gene *porA*, designadas VR1 e VR2 que, pelo seu grau de polimorfismo, são a base da subtipagem de meningococos (McGuinness *et al*, 1993). A identificação de VR1 e VR2 é feita por comparação com as sequências alélicas contidas na base de dados *Neisseria* MLST em www.pubmlst.org/neisseria.

A caracterização da proteína FetA (Ferric enterobactin transport protein A, proteína de membrana externa que funciona como um receptor do sideróforo com a mais alta afinidade para o ferro) é feita por amplificação e sequenciação de uma zona variável do gene *fetA*. A identificação do



alelo é feita por comparação com as sequências alélicas contidas na referida base de dados *Neisseria* MLST.

A técnica de *multilocus sequence typing* (MLST) para caracterização de *Neisseria meningitidis* inclui a amplificação e sequenciação de sete alelos de sete genes *housekeeping* (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *ghd*, *pdhC* e *pgm*). O perfil alélico que resulta da identificação dos sete alelos, na ordem alfabética porque foram enumerados, é submetido à mesma base de MLST para identificação do tipo de sequência (ST) e do complexo clonal, tendo em conta que estirpes que partilham pelo menos quatro alelos iguais pertencem ao mesmo complexo clonal.

O estudo de susceptibilidade aos antibióticos é realizado pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método ETest. Os critérios de interpretação qualitativa usados são os do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Presentemente, a tipagem de estirpes de meningococos é inteiramente realizada por métodos moleculares. Actualmente, o fenótipo é geneticamente definido e as suas características só não serão conhecidas se se verificar a ausência do gene. Deverá então alterar-se a designação para genótipo. De acordo com as recomendações do EMGM publicadas em 2007 (Jolley *et al.*, 2007) a designação do genótipo

deve referir o **grupo: as duas VR de PorA: o tipo de FetA: o ST (complexo clonal)**. A notificação Δ representa a ausência de gene e o hífen (-) significa um ST não incluído em nenhum complexo clonal (Jolley *et al.*, 2007). Exemplo — B:P1.5-2, Δ :F1-8:ST-16(-). Esta nomenclatura é a adoptada para designar as estirpes de meningococos caracterizadas no âmbito da vigilância epidemiológica e referidos nos boletins de resultados emitidos pelo laboratório de referência do INSA.

Para o cálculo da incidência utilizou-se a dimensão da população em cada grupo etário de acordo com as estimativas provisórias da população residente calculada anualmente pelo Instituto Nacional de Estatística.

A análise comparativa de dados de epidemiologia molecular registados em Portugal e nos restantes países europeus notificadores para o ECDC baseia-se, como já foi mencionado, na informação contida na base de dados *Neisseria* MLST em www.pubmlst.org/neisseria.

3.2 Resultados

Entre 1 de Janeiro e 31 de Dezembro de 2011 registaram-se 85 casos de doença invasiva meningocócica, dos quais 45 casos (53%) em indi-



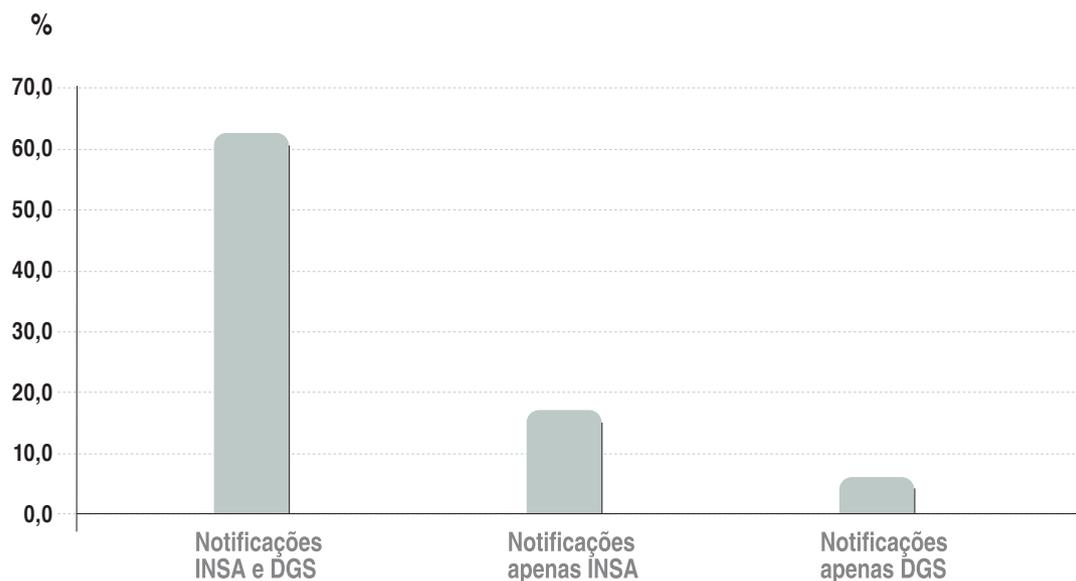
víduos do género masculino, 39 casos (46%) em indivíduos do género feminino. Num caso o género não foi registado.

Dos 85 casos de DM, 68 casos (80%) tiveram confirmação laboratorial e 17 foram classificados como prováveis (notificação apenas clínica).

A notificação clínica e laboratorial foi feita em 47 dos casos confirmados (69,1%), dando cumprimento à circular normativa N° 13/DEP da DGS, e em 15 casos (22,1%) houve apenas notificação laboratorial ao INSA (VigLab Doença meningocócica). Seis casos confirmados em laboratórios hospitalares, sem caracterização genotípica (8,8%) foram apenas notificados à DGS (Gráfico 1).

Em 56 casos (82,4% dos casos confirmados) houve isolamento da estirpe de meningococos em cultura. Nos restantes 12 casos (17,6%) a confirmação de DM foi feita por identificação de DNA de *Neisseria meningitidis* por PCR. Estas proporções não têm variado significativamente ao longo do tempo, embora existam já alguns laboratórios hospitalares que fazem a pesquisa de DNA por PCR, anteriormente apenas realizada no INSA.

Gráfico 1 – Tipos de notificação de casos de doença meningocócica com confirmação laboratorial.





3.2.1 Incidência total

Em 2011 a incidência da DM na população total foi de 0,80 por 100 mil habitantes, valor que confirma a tendência decrescente, observada desde 2003 (Gráfico 2).

A incidência por grupo etário apresenta uma incidência máxima em crianças menores de um ano, decresce acentuadamente no grupo de crianças de um a dez anos e mantêm-se com valores baixos na idade adulta (Gráfico 3).

Gráfico 2 – Incidências da doença meningocócica observadas no período entre 2003 e 2011.

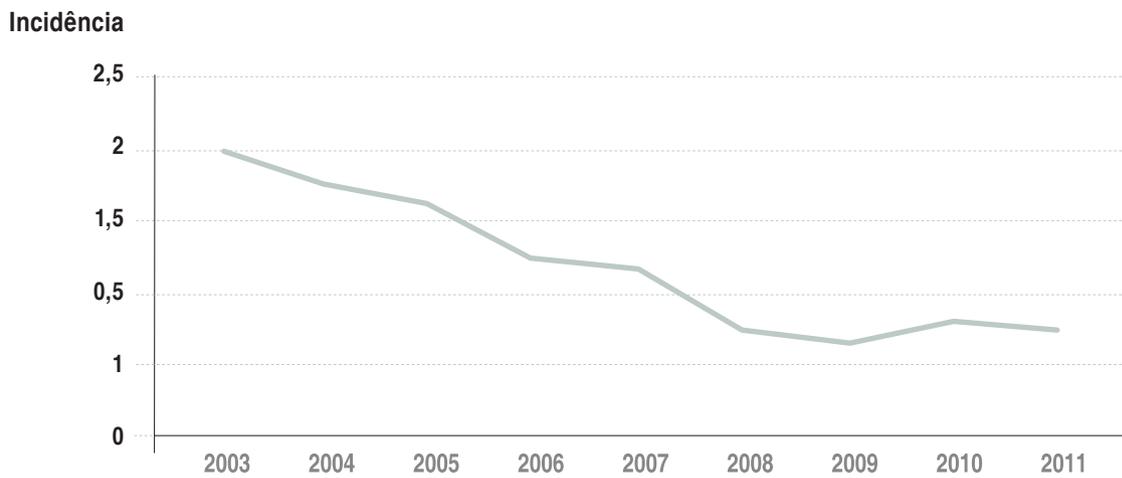
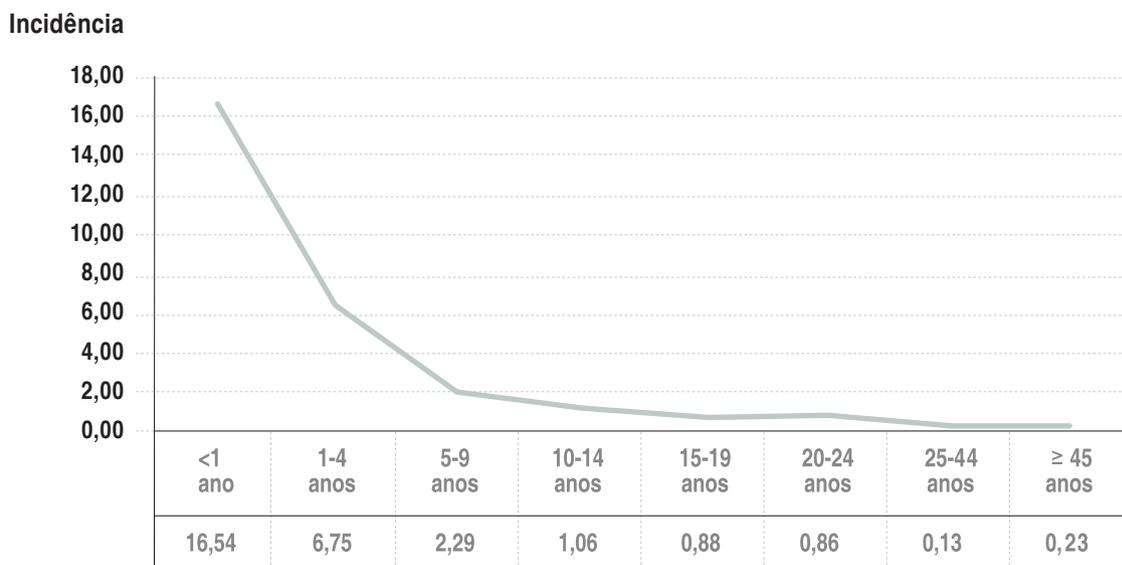


Gráfico 3 - Incidências da doença meningocócica em 2011, por grupo etário.





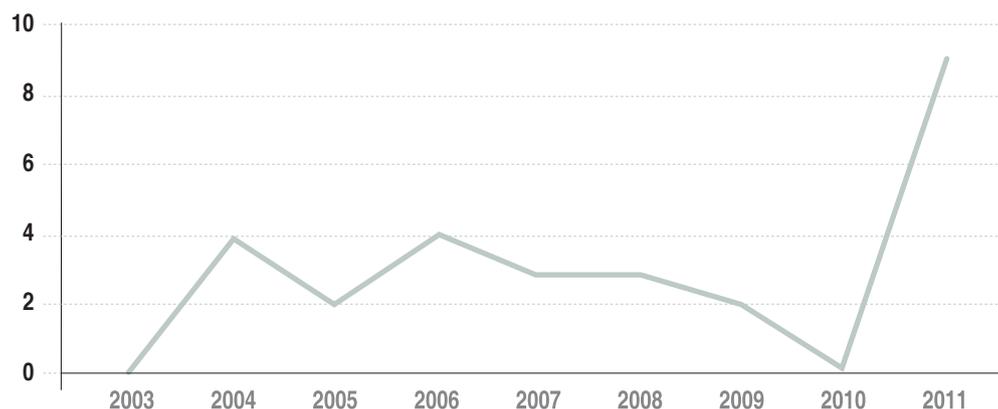
3.2.2 Incidência por serogrupo*

Em 2011, as estirpes mais frequentes foram as do grupo B (72%). Em apenas dois doentes foram isoladas estirpes do grupo C: num indivíduo adulto, não nacional, em turismo na ilha da Madeira e numa criança portuguesa de 11 anos, da qual se desconhece o status vacinal. No conjunto das estirpes dos diversos grupos destacam-se as do grupo Y cujo número aumentou significativamente (**Gráfico 4**). Em 2011 identificaram-se nove casos com estirpes Y (14,5% do total de estirpes com grupo caracterizado). Uma caracterização mais detalhada, indica que estas pertencem maioritariamente ao complexo clonal ST-23 (ver ponto 3.2.5).

Este aumento, quer do número de casos de DM por meningococos do grupo Y quer da sua proporção relativamente aos outros grupos (aumentou de 1,7% no período 2002 a 2010 para 14,5% em 2011), tem vindo a ser observado em países europeus desde o início do século XXI. Até então, as estirpes invasivas do grupo Y eram raras na Europa (~2%), ocorriam sobretudo em indivíduos idosos, frequentemente associadas a infecção pulmonar, ou em jovens com *deficits* no sistema do complemento (Broker *et al.*, 2012). Este é um fenómeno esperado, precedido pelo aumento significativo de incidência da doença por grupo Y observado no continente americano. Nos Estados Unidos da América a incidência de doença invasiva por serogrupo Y aumentou a partir da década de 1990,

Gráfico 4 – Número de estirpes invasivas do grupo Y, isoladas em Portugal no período entre 2003 e 2011.

Nº estirpes



*A designação de serogrupo poderá ser substituída por genogrupo, uma vez que a sua caracterização é realizada por PCR dirigido a genes que codificam para a síntese de enzimas necessárias à biossíntese dos polissacáridos capsulares de *N. meningitidis*.



de 2% no período entre 1989 e 1991 para 37% em 2007 (Harrison, 2010). No Canadá, em 1999, os meningococos do serogrupo Y representavam 10,1% das estirpes invasivas e em 2003 a sua percentagem era já 25,3% (Tsang *et al.*, 2007). Na Suécia, a incidência de DM por serogrupo Y mais do que quintuplicou entre 2005 e 2010 (Hedberg *et al.*, 2011).

Uma vez que não foi possível ao INSA proceder à caracterização do grupo em 23 doentes com estirpes responsáveis por doença invasiva registada em 2011 (17 correspondem a casos sem confirmação laboratorial e 6 correspondem a casos confirmados por PCR em laboratórios hospitalares), procedeu-se ao cálculo da incidência estimada da DM por grupo, no pressuposto que a distribuição

dos grupos será idêntica à dos casos confirmados e prováveis.

No estudo comparativo de incidência por serogrupo, no período entre 2003 e 2011 verifica-se que a incidência da DM por estirpes do serogrupo B foi a mais alta em todo o período. O serogrupo C evidenciou uma marcada diminuição a partir de 2003-2004. Em 2006 verificou-se uma nova diminuição do número de casos por serogrupo C (Gráfico 5 e Gráfico 6). Assinale-se que se registou uma vacinação em massa, por iniciativa dos pais e pediatras no inverno de 2002-2003, e que a vacina foi introduzida no PNV em Outubro de 2006. A mesma redução foi observada em países europeus onde a vacina MenC foi introduzida no calendário de vacinação (EU-IBIS, 2007 e ECDC(2), 2010).

Gráfico 5 – Evolução da incidência estimada de doença meningocócica (casos confirmados e prováveis) causada por estirpes de diferentes serogrupos, observadas entre 2003 e 2011.

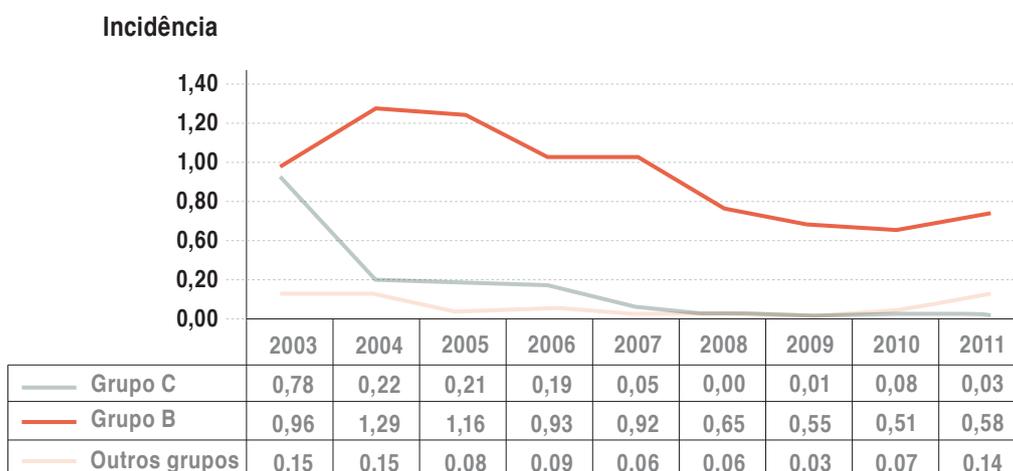
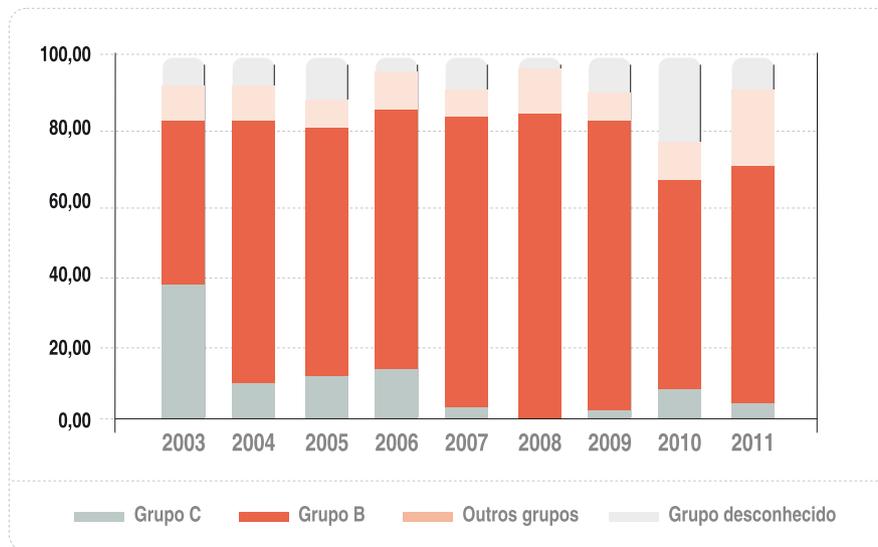




Gráfico 6 – Distribuição da percentagem de estirpes de *N. meningitidis* de diferentes serogrupos, responsáveis por casos confirmados e prováveis de DM (percentagem estimada), entre 2003 e 2011.

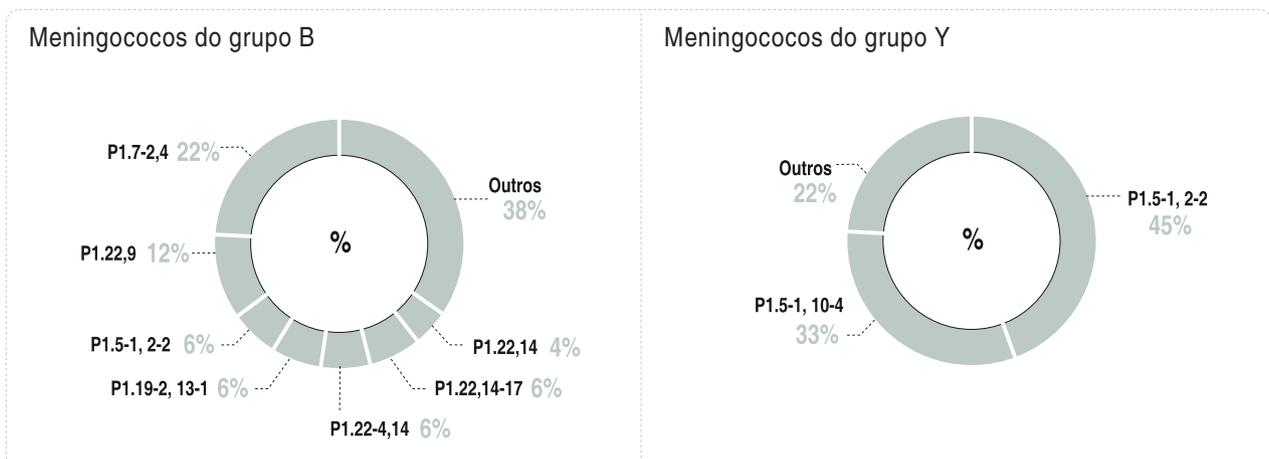


3.2.3 Caracterização do subtipo

Da caracterização das duas zonas variáveis da proteína de membrana externa de classe 1 (proteína PorA), que identifica o subtipo, verifica-se que existe uma associação entre subtipo e

grupo. As estirpes do grupo B apresentam uma grande variedade de subtipos, dos quais os dois mais frequentes são P1.7-2,4 (22%) e P1.22,9 (12%). As estirpes Y são maioritariamente do subtipo P1.5-1,2-2 (45%) e P1.5-1,10-4 (33%) (**Gráfico 7**).

Gráfico 7 – Proporção de subtipos de meningococos dos grupos B e Y responsáveis por doença invasiva em 2011.





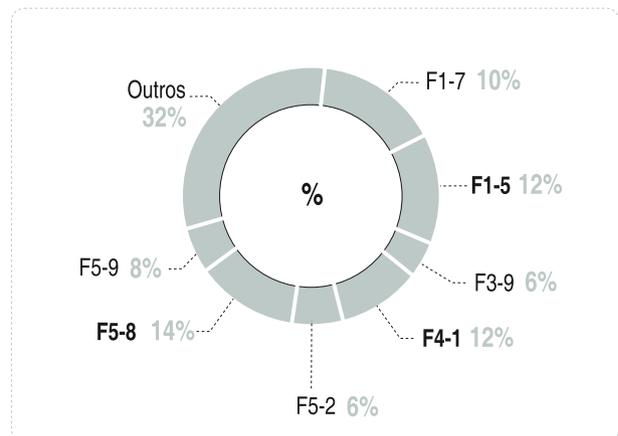
Ao longo da década tem-se observado uma grande diversidade de subtipos entre as estirpes do grupo B. Observa-se uma tendência crescente na taxa de isolamento de estirpes com os subtipos mais frequentes P1.7-2,4 e P1.22,9, que acompanha igual tendência observada no mesmo período nos restantes países europeus (dados registados na base EMERT).

Devido ao número baixo de estirpes invasivas do grupo Y recém introduzidas no país não é ainda possível concluir-se sobre a sua diversidade genética. As estirpes Y isoladas nos restantes países europeus têm um carácter clonal, maioritariamente com o subtipo P1.5-1,10-1 e P1.5-2,10-1.

3.2.4 Caracterização da proteína FetA

A caracterização da zona variável da proteína FetA apresenta uma grande diversidade genética, sem associação a nenhum grupo em particular. Predominam as variantes F5-8 (14%), F1-5 (12%) e F4-1 (12%), encontradas em meningococos quer do grupo B quer do grupo Y (**Gráfico 8**).

Gráfico 8 – Proporção de variantes de FetA de estirpes invasivas de meningococos identificados em 2011.



3.2.5 Identificação dos tipos de sequência (ST) e de complexos clonais

De entre as estirpes híper invasivas de meningococos, aquelas que têm uma maior capacidade de causar doença, distinguem-se as estirpes “híper virulentas”, habitualmente associadas a doença particularmente severa (Maiden, 2002).



As linhagens híper virulentas emergem esporadicamente da população bacteriana e lentamente diversificam-se à medida que se vão acumulando alterações dispersas no genoma (resultantes de recombinação genética ou de mutações). A técnica de *multilocus sequence typing* permite avaliar o peso relativo dos fenómenos de recombinação e de mutação ocorridos ao longo do processo de diversificação clonal, identificar clones híper virulentos (HV) existentes ou emergentes e a sua dispersão geográfica.

A maioria das estirpes híper virulentas de *Neisseria meningitidis* agrupa-se num número limitado de complexos clonais: ST-8, ST-11, ST-32, ST-41/44 e ST-269 (Yazdankhah *et al.*, 2004).

Tabela 1 – Proporção de complexos clonais de estirpes invasivas isoladas em 2011.

Complexo clonal (cc)	%
ST-41/44	27
ST-269	12
ST-162	9,6
ST-23	7,7
ST-35	7,7
ST-213	5,8
ST-461	5,8
Sem cc	5,8
ST-167	3,8
ST-11	1,9
ST-32	1,9
ST-37	1,9
ST-22	1,9
ST-60	1,9
ST-175	1,9
ST-254	1,9
ST-865	1,9

A vermelho estão assinalados os complexos clonais hipervirulentos.

A distribuição de complexos clonais (cc) de meningococos isolados em 2011 indica que 42% das estirpes invasivas são híper virulentas (**Tabela 1**). Na análise por grupo etário observa-se que a maioria de estirpes responsáveis por doença em crianças menores de 5 anos não são híper virulentas (de acordo com o esperado). Na restante população a proporção de estirpes híper virulentas é um pouco inferior à média observada no grupo etário anterior (**Tabela 2**). Presentemente não dispomos de dados suficientes que nos permitam avaliar o nível de virulência das estirpes emergentes do cc ST-23.

À semelhança do que se passa nos restantes países europeus, em Portugal os meningococos do serogrupo Y são também maioritariamente do complexo clonal ST-23 (4 em 9). Parece então que está a emergir um novo clone bem adaptado, que poderá vir a tornar-se endémico e ser causa de surtos.

Tabela 2 – Distribuição por grupo etário de complexos clonais híper virulentos e não híper virulentos.

Grupo etário	Estirpes de cc híper virulentos (%)	Estirpes de cc não híper virulentos (%)
< 5 anos	36%	64%
≥ 5 anos	48%	52%



3.2.6 Estudo de susceptibilidade aos antibióticos

O aparecimento de resistência aos antibióticos, já conhecida relativamente à Penicilina, constitui um risco para o controlo da infecção e justifica a monitorização das concentrações inibitórias mínimas (CIM) que tem sido realizada nos países da comunidade europeia.

Desde 2009 que o laboratório nacional de referência para *N. meningitidis*, no INSA, procede ao

estudo sistemático da susceptibilidade dos meningococos aos antibióticos. Todas as estirpes estudadas são sensíveis ao Ceftriaxone, à Rifampicina e à Ciprofloxacina. Contudo, relativamente à Penicilina, tem-se observado o aumento de estirpes com $CIM \geq 0,12$ mg/L, valor limite inferior interpretável como susceptibilidade intermédia. O número de estirpes com $CIM \geq 0,5$ mg/L é muito baixo, o que constitui uma limitação para uma correcta interpretação de tendências (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Proporção de estirpes de meningococos susceptíveis ($CIM \leq 0,094$ mg/L), com susceptibilidade intermédia ($CIM \geq 0,125 < 0,5$ mg/L) e resistentes ($\geq 0,5$ mg/L) à Penicilina, isoladas no período entre 2009 e 2011.





3.2.7 Vigilância do fenómeno de alterações capsulares

Os meningococos têm a capacidade de rapidamente sofrerem alterações genéticas, principalmente por transferência horizontal de genes, podendo incorporar longas sequências de DNA presente no meio, presumivelmente durante a fase de colonização da nasofaringe com, pelo menos, duas estirpes diferentes (Linz *et al.*, 2000, Swartley *et al.* 1997). As alterações capsulares com alteração do serogrupo das estirpes são um exemplo de transferência horizontal de genes, havendo mesmo evidência da implicação deste tipo de alterações na origem de surtos de DM. Crê-se que a estirpe epidémica W135, responsável pela epidemia em Meca durante o Hajj de 2000 e que, posteriormente, se dispersou globalmente, tenha resultado de alteração capsular de uma estirpe C (Aguilera *et al.*, 2002; Harrison *et al.*, 2009; Mayer *et al.*, 2002).

Este fenómeno de alteração da cápsula pode ocorrer particularmente quando a bactéria está

sujeita a pressão selectiva, resultante da imunidade natural ou induzida por vacinação, o que confere aos meningococos vantagens selectivas uma vez que assim se evadem da acção bactericida, da opsonização ou da acção neutralizante de anticorpos anticapsulares previamente produzidos (Swartley *et al.*1997). Estirpes recombinantes já foram identificadas em países sem política de vacinação implementada (Stefanelli *et al.*2003; Kriz *et al.* 1999) e em países onde se registaram campanhas de imunização em massa (Alcalá *et al.* 2002).

A monitorização da circulação de estirpes recombinantes com alterações capsulares é um dos objectivos do sistema de vigilância em Portugal, estreitamente associada à vigilância das causas de valência vacinal.

No período entre 2003 e 2011 não se observou variação significativa no número de estirpes recombinantes com alterações capsulares, variando o seu número entre zero e três, em cada ano.



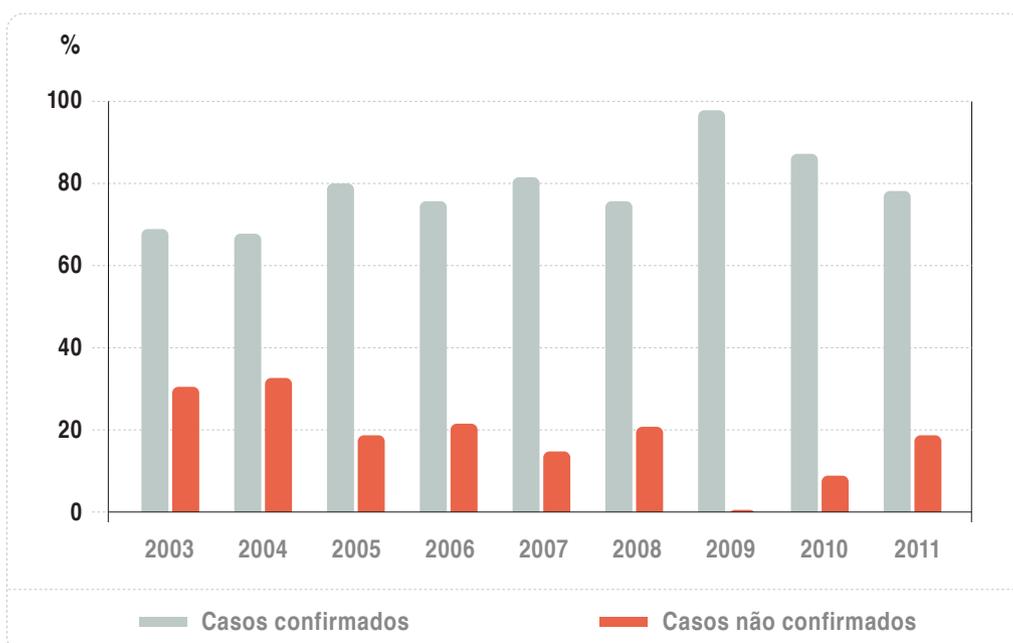
3.3 Taxas de notificação laboratorial

Embora o número de casos de DM tenha vindo a decrescer desde 2003, a proporção de casos confirmados aumentou a partir da implementação do Sistema de Vigilância até 2009, ano a partir do qual se observa um decréscimo de notificação (laboratorial e clínica) que deve merecer a nossa reflexão (Gráfico 10).

A publicação da Circular Normativa N° 13/DEP da DGS e a sua divulgação pelo INSA através do “VigLab Doença Meningocócica”, que inclui a rede laboratorial hospitalar pública e privada, teve um efeito positivo na taxa de confirmação de casos. Esta parece reflectir também a preocupação com o impacto da vacina MenC que

havia sido comercializada no Inverno de 2002-2003, introduzida no PNV em 2006 e utilizada na campanha de vacinação em 2007 dirigida aos adolescentes até 18 anos. Uma vez que muitos outros aspectos da epidemiologia da DM são monitorizados neste sistema de vigilância, a tendência decrescente de notificação é preocupante porque implica uma perda de qualidade dos dados e, conseqüentemente, uma menor capacidade de o INSA poder apoiar a melhor decisão em políticas de saúde pública. Para inverter esta tendência, há que consciencializar cada interveniente no sistema de vigilância da importância da sua participação, nomeadamente através da divulgação de estudos, relatórios e discussão alargada em reuniões especificamente organizadas para este fim.

Gráfico 10 – Proporção de casos confirmados e não confirmados de doença meningocócica registada em Portugal entre 2003 e 2011.







4. Conclusões

_As características epidemiológicas da doença meningocócica em Portugal, nomeadamente no que se refere à incidência global, incidência por grupo etário, serogrupos e genótipos de estirpes invasivas, são semelhantes às dos países participantes na rede europeia de vigilância da doença meningocócica.

_No período entre 2003 e 2011, registou-se em Portugal uma tendência decrescente na incidência da DM, com um acentuado decréscimo na incidência da doença causada por estirpes C, após a introdução da vacina meningocócica conjugada para o serogrupo C.

_Actualmente, os meningococos do grupo B são os mais frequentemente associados a doença meningocócica invasiva.

_Em 2011 observou-se em Portugal um aumento acentuado de meningococos invasivos do grupo Y. Estas estirpes são emergentes na Europa desde o início dos anos 2000, têm um carácter clonal (cc ST-23) e endémico. A emergência destas estirpes Y não representa a ocupação do nicho deixado pelos meningococos do grupo C depois da introdução da vacina. Note-se que, em países sem políticas de vacinação implementada, como é o caso da Suécia, observa-se o

aumento de estirpes Y a par do aumento de estirpes C (Relatório do LNR da Suécia – *Neisseria meningitidis* 2010).

_Tem-se observado um aumento do número de meningococos com susceptibilidade intermédia à Penicilina. Não se observa resistência a Ceftriaxone nem aos antibióticos utilizados em profilaxia.

_Em Portugal existe um número crescente de laboratórios hospitalares que realizam o diagnóstico laboratorial de DM por métodos moleculares mas não realizam a caracterização de estirpes. Nestas circunstâncias é necessário sensibilizar os patologistas para a importância desta caracterização e a necessidade de enviar, sistematicamente, ao laboratório de referência, o DNA extraído das amostras clínicas, para que se prossiga o estudo de epidemiologia molecular.

_A taxa de notificação laboratorial da DM, embora se possa considerar que ainda é elevada, tem sofrido uma redução desde 2009. Para inverter esta tendência é necessário sensibilizar todos os intervenientes na vigilância da epidemiologia da doença meningocócica. O INSA irá realizar uma reunião sobre vigilância epidemiológica laboratorial, particularmente dirigida a patologistas e pediatras com o objectivo de reforçar o sistema de vigilância de base laboratorial VilLab Doença meningocócica.



_A vigilância da doença meningocócica na Europa está actualmente associada à vigilância da doença pneumocócica invasiva e da doença causada por *Haemophilus influenzae*, as quais estão integradas numa única rede de vigilância, a “European Invasive Bacterial Diseases Surveillance Network” (EU-IBD). Dada a natureza dos problemas de saúde pública associados a estes agentes e tendo em vista a melhoria dos sistemas de vigilância, através da obtenção de um maior número de dados laboratoriais e epidemiológicos com racionalização de recursos, o INSA propõe-se diligenciar no sentido de alargar a rede de vigilância da DM à vigilância da doença por *H. influenzae*.



Referências bibliográficas

- _Aguilera, J. F., A. Perrocheau, C. Meffre, and S. Hahne. Outbreak of serogroup W135 meningococcal disease after the Hajj pilgrimage, Europe, 2000. *Emerg Infect Dis.* 2002 Aug;8(8):761-767.
- _Alcalá B, Arreaza L, Salcedo C, Uria MJ, De la Fuente L, Vazquez LA. Capsule switching among C:2b:P1.2,5 meningococcal epidemic strains after mass immunization campaign, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2002 Dec;8(12):1512-1514.
- _Bröker M, Jacobsson S, Kuusi M, Pace D, Simões MJ, Skoczynska A, Taha MK, Toropainen M, Tzanakaki G. Meningococcal serogroup Y emergence in Europe: Update 2011. *Hum Vaccines Immunother* 8(12) (2012), PMID 23032167.
- _DGS. Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Meningocócica. Circular Normativa 13/DEP de 05-09-02. Direção Geral da Saúde, Ministério da Saúde; 2002.
- _ECDC (1)
http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EU_IBD/Pages/index.aspx
- _ECDC (2) Official Journal of the European Union, L262 de 27-09-2012.
http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EU_IBD/background/Pages/Description.aspx
- _ECDC. Annual epidemiological report on communicable disease in Europe. European Center for Disease Prevention and Control; 2010.
- _EU-IBIS. Invasive *Neisseria meningitidis* in Europe 2006. European Invasive Bacterial Infections Surveillance Network; 2007.
Disponível em:
http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/euibus/documents/2006_meningo.pdf
- _Harrison LH. The Epidemiology of Meningococcal Disease in the United States. *Clin Infect Dis.* 2010 March 1; 50(S2): S37-44.
- _Hedberg ST, Törös B, Fredlund H, Olcén P, Mölling P. Genetic characterization of the emerging invasive *Neisseria meningitidis* serogroup Y in Sweden, 2000 to 2010. *Euro Surveill.* 2011 Jun 9;16(23).
- _Heymann DL 2004 (Ed.). *Control of Communicable Diseases Manual*, 18th Edition. American Public Health Assoc, United Book Press, Baltimore.
- _Jolley KA, Brehony C, Maiden MCJ. Molecular typing of meningococci: recommendations for target choice and nomenclature. *FEMS Microbiol Rev.* 2007 Jan; 31(1):89-96.
- _Kriz P, Giorgini D, Musilek M, Larribe M, Taha MK. Microevolution through DNA exchange among strains of *Neisseria meningitidis* isolated during an outbreak in the Czech Republic. *Res Microbiol.* 1999 May;150(4):273-280.



_Linz B, Schenker M, Zhu P, Achtman M. Frequent interspecific genetic exchange between commensal *Neisseriae* and *Neisseria meningitidis*. *Mol Microbiol*. 2000 Jun;36(5):1049-1058.

_Maiden MC. Population structure of *Neisseria meningitidis*. In: Ferreirós C, Criado MT, Vázquez J, editors. *Emerging strategies in the Fight against meningitis molecular and cellular aspects*. Wymondham, UK: Horizon Scientific Press; 2002. p. 151-169.

_Mayer LW, Reeves MW, Al-Hamdan N, Sacchi CT, Taha MK, Ajello GW, Schmink SE, Noble CA, Tondella ML, Whitney AM, Al-Mazrou Y, Al-Jefri M, Mishkhis A, Sabban S, Caugant DA, Lingappa J, Rosenstein NE, Popovic T. Outbreak of W135 meningococcal disease in 2000: not emergence of a new W135 strain but clonal expansion within the electrophoretic type-37 complex. *J Infect Dis*. 2002 Jun 1;185(11):1596-1605.

_McGuinness BT, Lambden PR, Heckels JE. Class 1 outer membrane protein of *Neisseria meningitidis*: epitope analysis of the antigenic diversity between strains, implications for subtype definition and molecular epidemiology. *Mol Microbiol*. 1993 Feb;7(4):505-14.

_Relatório do Laboratório Nacional de Referência Sueco - *Neisseria meningitidis* 2010, disponível em http://www.orebroll.se/Files-sv/USO/Kliniker_e_nheter/Laboratoriemedicin/Mikro/Dokument/Neisseria/MC2010%20annual%20report.pdf

_Stefanelli P, Fazio C, Neri A, Sofia T, Mastrantonio P. First report of capsule replacement among electrophoretic type 37 *Neisseria meningitidis* strains in Italy.

J Clin Microbiol. 2003 Dec;41(12):5783-5786.

_Swartley JS, Marfin AA, Edupuganti S, Liu LJ, Cieslak P, Perkins B, Wenger JD, Stephens DS. Capsule switching of *Neisseria meningitidis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997 Jan 7;94(1):271-276.

_Tsang RS, Henderson AM, Cameron ML, Tyler SD, Tyson S, Law DK, Stoltz J, Zollinger WD. 2007. Genetic and antigenic analysis of invasive serogroup Y *Neisseria meningitidis* isolates collected from 1999 to 2003 in Canada. *J Clin Microbiol*. 2007 Jun;45(6):1753-1758.

_Yazdankhah SP, Kriz P, Tzanakaki G, Kremastinou J, Kalmusova J, Musilek M, Alvestad T, Jolley KA, Wilson DJ, McCarthy ND, Caugant DA, Maiden MCJ. Distribution of serogroups and genotypes among disease-associated and carried isolates of *Neisseria meningitidis* from the Czech Republic, Greece, and Norway. *J Clin Microbiol*. 2004 Nov;42(11):5146-53.



Índice de gráficos

Gráfico 1 – Tipos de notificação de casos de doença meningocócica com confirmação laboratorial.....	14
Gráfico 2 – Incidências da doença meningocócica observadas no período entre 2003 e 2011.....	15
Gráfico 3 – Incidências da doença meningocócica em 2011, por grupo etário.....	15
Gráfico 4 – Número de estirpes invasivas do grupo Y, isoladas em Portugal no período entre 2003 e 2011.....	16
Gráfico 5 – Evolução da incidência estimada de doença meningocócica (casos confirmados e prováveis) causada por estirpes de diferentes serogrupos, observadas entre 2003 e 2011.....	17
Gráfico 6 – Distribuição da percentagem de estirpes de <i>N. meningitidis</i> de diferentes serogrupos, responsáveis por casos confirmados e prováveis de DM (percentagem estimada), entre 2003 e 2011.....	18
Gráfico 7 – Proporção de subtipos de meningococos dos grupos B e Y responsáveis por doença invasiva em 2011.....	18
Gráfico 8 – Proporção de variantes de FetA de estirpes invasivas de meningococos identificados em 2011.....	19
Gráfico 9 – Proporção de estirpes de meningococos susceptíveis (CMI $\leq 0,094$ mg/L), com susceptibilidade intermédia (CIM $\geq 0,125 < 0,5$ mg/L) e resistentes ($\geq 0,5$ mg/L) à Penicilina, isoladas no período entre 2009 e 2011.....	21
Gráfico 10 – Proporção de casos confirmados e não confirmados de doença meningocócica registada em Portugal entre 2003 e 2011.....	23

Índice de tabelas

Tabela 1 – Proporção de complexos clonais de estirpes invasivas isoladas em 2011.....	20
Tabela 2 – Distribuição por grupo etário de complexos clonais híper virulentos e não híper virulentos.....	20



www.insa.pt



Relatório 2011_Doença Meningocócica
Invasiva em Portugal



_Departamento de **Doenças Infecciosas**

Instituto Nacional de Saúde *Doutor Ricardo Jorge*

Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

Tel.: (+351) 217 519 200

Fax: (+351) 217 526 400

E-mail: ddi@insa.min-saude.pt

Centro de Saúde Pública *Doutor Gonçalves Ferreira*

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

Tel.: (+351) 223 401 190

Fax: (+351) 223 401 109

E-mail: inforporto@insa.min-saude.pt

Centro de Estudos de Vectores de Doenças Infecciosas

Doutor Francisco Cambournac

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

Tel.: (+351) 265 938 290

E-mail: cevd@insa.min-saude.pt