

_REVIVE 2023 e riscos para a saúde pública em Portugal: vigilância de carraças e agentes patogénicos transmitidos a humanos

REVIVE 2023 and risks to public health in Portugal: surveillance of ticks and pathogens transmitted to humans

Isabel Lopes de Carvalho¹, Rita de Sousa¹, Teresa Luz¹, Paulo Parreira¹, Maria Salomé Gomes¹, Patrícia Soares¹, Líbia Zé-Zé¹, Hugo Costa Osório¹, Maria João Alves¹, Ana Sofia Santos¹; Equipa REVIVE², Maria Sofia Núncio¹

isabel.carvalho@insa.min-saude.pt

(1) Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Águas de Moura, Portugal

(2) Administrações Regionais de Saúde do Alentejo, Algarve, Lisboa e Vale do Tejo, Centro, Norte e Direção Regional de Saúde da Madeira

_Resumo

As carraças são um dos vetores mais importantes de agentes patogénicos para o Homem, com impacto crescente em saúde pública em todo o mundo. Os agentes infecciosos transmitidos por carraças incluem vírus, como o vírus da encefalite transmitida por carraças e da febre hemorrágica Crimeia-Congo, bactérias, tais como os agentes etiológicos da borreliose de Lyme, febre escarar nodular, outras rickettsioses e anaplasmose humana e parasitas protozoários que causam a babesiose. As doenças associadas a carraças estão a emergir e reemergir sendo um dos principais fatores, identificado particularmente no hemisfério norte, o alargamento da distribuição geográfica destes artrópodes que funcionam como vetores. Em Portugal, a vigilância das carraças e dos agentes infecciosos transmitidos é assegurada pela Rede de Vigilância de Vetores (REVIVE). Neste artigo apresentam-se, de forma resumida, os resultados das carraças colhidas em humanos e dos agentes etiológicos detetados durante o ano de 2023. Nos 430 ixodídeos colhidos em humanos não foram identificadas espécies exóticas. A pesquisa de borrelia, rickettsia e CCHV por métodos moleculares foi efetuada em todos os espécimes de carraça colhidos e identificados, tendo sido observada respetivamente a prevalência anual de 6,7%, 32,8% e 0%. O REVIVE-carraças contribui para o conhecimento da fauna de ixodídeos de Portugal e do seu papel de vetor, representando a componente entomológica indispensável à avaliação do risco de transmissão de doenças potencialmente graves dos programas de vigilância epidemiológica.

_Abstract

Ticks are one of the most important vectors of pathogenic agents to humans, with a growing impact on public health worldwide. The infectious agents transmitted by ticks include viruses, such as the tick-borne encephalitis virus and the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, bacteria, such as the causative agents of Lyme borreliosis, Mediterranean spotted fever, other rickettsioses, and human anaplasmosis, and protozoan parasites that cause babesiosis. Tick-borne diseases are emerging and re-emerging, with one of the main factors, particularly identified in the northern hemisphere, being the expansion of the geographical distribution of these arthropod vectors. In Portugal, tick surveillance and monitoring of the infectious agents they transmit are ensured by the Vector Surveillance Network (REVIVE). This article briefly presents the results of ticks collected from humans and the etiological agents detected during the year 2023. No

exotic species were identified among the 430 ticks collected from humans. The analysis for *Borrelia*, *Rickettsia*, and CCHV using molecular methods was carried out on all collected and identified tick specimens, with an annual prevalence of 6.7%, 32.8%, and 0%, respectively. REVIVE-ticks contribute to the knowledge of the ixodid fauna of Portugal and their role as vectors, representing the essential entomological component for assessing the risk of transmission of potentially serious diseases in epidemiological surveillance programs.

_Introdução

As carraças, ou ixodídeos (termo taxonómico utilizado por pertencerem à Ordem Ixodida que inclui duas famílias, Ixodidae e Argasidae) são aracnídeos, geralmente de 3 a 5 mm de comprimento. Simultaneamente com os ácaros constituem a subclasse Acari. As carraças são parasitas externos que se alimentam do sangue (hematófagos estritos) de mamíferos, aves, répteis e anfíbios. O seu ciclo de vida depende de fazerem refeições de sangue em organismos vertebrados para se conseguirem manter enquanto parasitas. Estes artrópodes existem há milhões de anos e encontram-se amplamente distribuídos em todo o mundo, especialmente em climas quentes e húmidos. As carraças podem acidentalmente parasitar humanos e, se estiverem infetadas, transmitir agentes infecciosos enquanto efetuam a sua refeição sanguínea (1). As carraças são vetores de vários agentes zoonóticos causadores de doenças no Homem e nos animais com impacto significativo para a saúde e para a economia a nível mundial (2).

Em Portugal, conhecem-se 22 espécies de carraças da família Ixodidae e as doenças mais frequentes causadas por agentes transmitidos por estas são a febre escaro nodular (FEN) e a borreliose de Lyme (BL). A FEN é endémica em Portugal (3) e caracteriza-se clinicamente como uma doença exantemática, com um processo de vasculite generalizado. As manifestações clínicas da FEN caracterizam-se em geral pela tríade clássica de escara de inoculação, febre e, entre o terceiro e quinto dia de evolução da doença, o aparecimento de um exantema maculopapular generalizada, envolvendo as palmas e plantas dos pés. A taxa de incidência desta doença em Portugal é uma das mais altas quando comparada com outros países da bacia do Mediterrâneo. Apesar da maioria dos casos apresentarem evolução benigna, registam-se casos graves e letais. A par da FEN é de salientar a existência de outras rickettsioses já descritas em doentes portugueses causadas pela infeção por *R. sibirica mongolitimonae* (4), *R. slovaca*, *R. raoultii* e *R. monacensis* (5).

No que diz respeito à BL, é uma doença multissistémica que pode afetar vários tecidos ou órgãos. Trata-se de uma doença evolutiva que na fase inicial caracteriza-se pelo aparecimento de uma lesão na pele, designada como eritema migratório. Nas fases seguintes outros órgãos podem ser afetados e causar lesões ao nível articular (artrite de Lyme), neurológico (neuroborreliose) ou dermatológico (acrodermatite crónica atroficante). Atualmente encontram-se descritas mais de 21 genoespécies do complexo *B. burgdorferi* s.l. em todo o mundo, sendo que em Portugal já foram detetadas seis. A mais prevalente é sem dúvida *B. lusitaniae* isolada pela primeira vez em 1992 no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (CEVDI/INSA), a partir de *I. ricinus* colhidos em Águas de Moura (6). Alguns estudos demonstraram que esta espécie é patogénica para o Homem (7,8).

A febre hemorrágica Crimeia-Congo (CCHF) é uma zoonose causada por um vírus pertencente ao género *Orthonairovirus*. O vírus da CCHF é transmitido por picada de carraças (sobretudo do género *Hyalomma*) ou por contato com sangue

ou tecidos de animais ou pacientes infetados. Têm sido cada vez mais descritos casos esporádicos de CCHF, alguns associados a surtos hospitalares. A infeção pelo CCHFV é assintomática em animais infetados, mas pode evoluir para doença grave em humanos, com taxas de letalidade elevadas de até 50% observadas em alguns surtos (9). O período de incubação é tipicamente de três a sete dias, dependendo da via de infeção, e caracteriza-se por início súbito de febre, mialgias e cefaleias, que podem evoluir para um quadro hemorrágico grave (10).

Em Portugal foram apenas identificados dois casos positivos, autóctones, por serologia para CCHFV em 1985 em Cuba, no Alentejo (11). No entanto, a ampla distribuição e abundância dos vetores, a presença de hospedeiros, o clima e ecologia favoráveis têm levado à emergência de CCHF (12). Em Espanha, foram identificados pela primeira vez *Hyalomma lusitanicum* e *H. marginatum* infetados em 2010, próximo da fronteira com Portugal. Desde aí, entre 2016 e 2022, foram confirmados 10 casos humanos (destes, quatro letais e um classificado como infeção nosocomial) (12).

A emergência ou reemergência da CCHF representa uma séria ameaça à saúde pública uma vez que é altamente contagiosa e potencialmente letal, tem o potencial de causar infeção nosocomial, e é difícil de prevenir, tratar e controlar, sendo, assim, essencial a vigilância da presença do vírus no vetor. A deteção de carraças infetadas com o vírus da CCHF em Espanha, perto da fronteira portuguesa, levou à inclusão do rastreio deste vírus no programa de vigilância REVIVE desde 2016. Em agosto de 2024 foi confirmado laboratorialmente o primeiro caso fatal de febre hemorrágica Crimeia-Congo em Portugal (dados não publicados).

_Objetivo

O objetivo deste estudo consistiu em identificar as espécies de carraças que parasitam o Homem e os agentes infecciosos associados, para determinação das espécies que estão presentes em Portugal e que pode levar à ocorrência de surtos de doença na população humana.

_Material e métodos

A vigilância de carraças está ativa ao longo do ano, na fase de vida livre (sobre a vegetação) e na sua fase parasitária (sobre o hospedeiro). Neste estudo, a colheita e remoção de carraças foi realizada no Homem, com o auxílio de pinças ou manualmente. O registo da colheita foi submetido eletronicamente, através da plataforma REDCap, pelos técnicos das cinco Administrações Regionais de Saúde e da Direção Regional de Saúde da Madeira. As carraças foram enviadas ao CEVDI/INSA por correio, ou entregues em mão, acondicionadas em tripla embalagem de acordo com o recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o transporte de produtos biológicos.

Os exemplares foram identificados com base em caracteres morfológicos, utilizando chaves taxonómicas ou por análise molecular (nos exemplares de imaturos ou danificados) e separados de acordo com a espécie, género, data e local de colheita. Depois de identificada a espécie e estágio, cada carraça foi processada individualmente para a extração do DNA ou RNA (no caso do CCHFV). A pesquisa de DNA específico de *Rickettsia* e *Borrelia* foi realizada pela técnica de PCR convencional e/ou PCR em tempo real. As amostras positivas foram depois sequenciadas para confirmação e identificação da espécie do agente. A pesquisa do CCHFV foi realizada pela técnica de RT-PCR em tempo real.

_Resultados

Durante o ano de 2023, foram removidas de humanos 430 carraças, número muito superior ao registado em 2022, em que só foram removidas 243 carraças (1,13). As carraças foram identificadas como pertencentes a dez espécies, nomeadamente, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes ricinus*, *I. ventalloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*. Todas estas espécies já tinham sido assinaladas a parasitar o Homem em Portugal. De sublinhar que na ilha da Madeira, só foram removidos e identificados exemplares da espécie *I. ricinus*. As cinco espécies encontradas com maior frequência no Continente

a parasitar humanos foram *I. ricinus* (n=207, 48,1%), seguida por *R. sanguineus* (n=133, 30,9%), *H. marginatum* (n=38, 8,8%), *D. marginatum* (n=31, 7,2%) e *H. lusitanicum* (n=12, 2,7%). As restantes cinco espécies foram encontradas de forma ocasional, com menos de 1% de prevalência.

O período em que as carraças estão ativas constitui um risco acrescido de contacto com o Homem e, por consequência, para a transmissão de agentes infecciosos. Apesar de ser claro que o esforço de captura não é homogéneo durante todo o ano, os dados colhidos demonstram que duas das espécies de carraças consideradas mais importantes em termos de transmissão de agentes patogénicos em Portugal, *I. ricinus* e *R. sanguineus* estão ativas praticamente durante o ano inteiro. Em contrapartida o género *Hyalomma* demonstra ter um período de atividade mais reduzido, estando ativo sobretudo durante os meses de verão, o que está de acordo com a sua biologia - preferência por habitats quentes e secos (gráfico 1).

No que se refere à pesquisa de agentes infecciosos, nos 15 exemplares do género *Hyalomma* que chegaram vivos ao laboratório (nove *H. lusitanicum* e seis *H. marginatum*) foram negativos para CCHFV.

No caso da pesquisa de *Borrelia*, no total foram detetadas 29 carraças positivas. Em 13 *I. ricinus* foi possível identificar a presença de três espécies de borrelias patogénicas para o Homem, *B. afzelii* (n=1, 3,4%), *B. garinii* (n=1, 3,4%) e *B. lusitaniae* (n=12, 41,3%). Em 16 (55,1%) carraças de várias espécies (*D. marginatum*, *H. lusitanicum*, *H. marginatum*, *I. ricinus* e *R. sanguineus*) não foi possível identificar especificamente a genospecie presente, pelo que ficaram identificados apenas como *Borrelia* spp.

No que diz respeito à pesquisa de *Rickettsia*, registaram-se 141 amostras positivas em cinco espécies de carraças. *I. ricinus* foi a espécie com maior número de exemplares positivos (n=75), seguida de *R. sanguineus* (n=38), *H. marginatum* (n=17), *D. marginatus* (n=10) e *I. ventalloi* (n=1). No total, foram detetadas seis espécies de rickettsias, *R. aeschlimanii* (n=17, 12%), *R. helvetica* (n=29, 20,5%), *R. massiliae* (n=38, 26%), *R. monacensis* (n=47, 33,3%),

artigos breves_ n. 1

R. raoultii (n=4, 3%) e *R. slovacica* (n=6, 4,2%). As espécies de rickettsias detetadas apresentam uma associação à espécie de carraças infetadas (tabela 1) e três delas já foram associadas a casos de doença em Portugal: *R. monacensis* e *R. raoultii* sem denominação de doença e *R. slovacica*, agente responsável de TIBOLA. Neste estudo foram ainda identificadas 14 carraças co-infetadas, nomeadamente, 13 *I. ricinus* e um exemplar de *R. sanguineus*. Nos exemplares de *I. ricinus*, as coinfeções detetadas foram *Borrelia* spp.

e *R. monacensis* (n=3), *B. lusitaniae* e *R. monacensis* (n=6), *B. lusitaniae* e *R. helvetica* (n=1) e *Borrelia* spp. e *R. helvetica* (n=3). Estas coinfeções devem-se à espécie de carraça ser um vetor competente para borrelíias e rickettsias simultaneamente. No exemplar de *R. sanguineus*, foi detetada uma coinfeção com *Borrelia* spp. e *R. massiliae*. Todas estas coinfeções já foram detetadas em anos anteriores e o seu impacto na transmissão ao Homem continua por esclarecer.

Gráfico 1: Atividade mensal das espécies de carraças no âmbito do REVIVE em 2023.

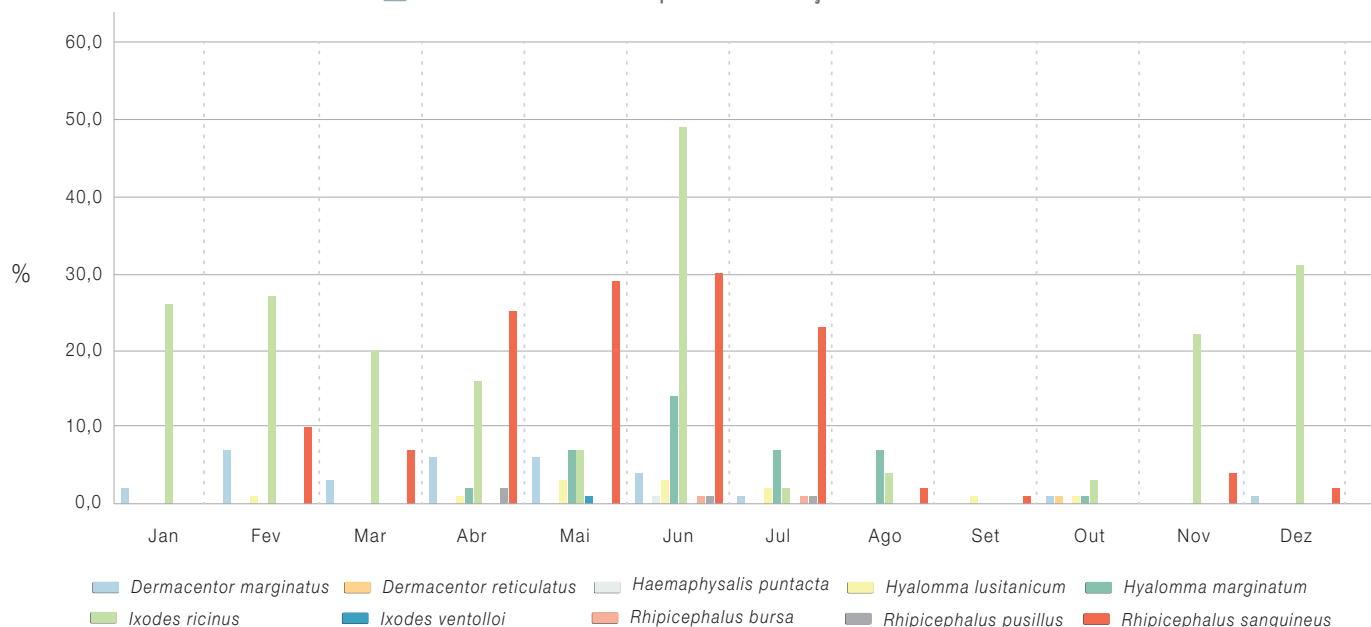


Tabela 1: Espécies de Rickettsia e Borrelia detetadas em ixodídeos colhidos no Homem.

Agentes infecciosos identificados	Espécie de Ixodídeo	Número de positivos
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	<i>H. marginatum</i>	17
<i>R. helvetica</i>	<i>I. ricinus</i> ; <i>I. ventraloi</i>	29
<i>R. massiliae</i>	<i>R. sanguineus</i>	38
<i>R. monacensis</i>	<i>I. ricinus</i>	47
<i>R. raoultii</i>	<i>D. marginatus</i>	4
<i>R. slovacica</i>	<i>D. marginatus</i>	6
Total Rickettsia		141
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>I. ricinus</i>	1
<i>Borrelia garinii</i>	<i>I. ricinus</i>	1
<i>Borrelia lusitaniae</i>	<i>I. ricinus</i>	11
<i>Borrelia</i> spp.	<i>D. marginatus</i> ; <i>H. lusitanicum</i> ; <i>H. marginatum</i> ; <i>I. ricinus</i> ; <i>R. sanguineus</i>	16
Total Borrelia		29

_Discussão e conclusões

O ano de 2023 correspondeu ao 13º ano do programa REVIVE-carrasças. Nestes 13 anos, o número de concelhos onde têm sido realizadas colheitas aumentou de 55 para 169. O número de ixodídeos removidos do Homem e enviados para o laboratório também tem aumentado. Em 2023 foi possível identificar 430 carrasças em humanos, todas analisadas para a presença de *Rickettsia* e *Borrelia*. A pesquisa do CCHFV foi feita em 15 exemplares de *Hyalomma* que chegaram vivos ao laboratório, sem que tenha sido detetada a sua presença.

Os géneros de carrasças considerados como uma ameaça para a saúde pública, *Hyalomma*, *Ixodes* e *Rhipicephalus*, dadas as suas capacidades e competências como vetores de agentes patogénicos para o Homem são, como tal, alvo principal do programa REVIVE-Carrasças. Espécies destes géneros foram capturadas no Homem, *Hyalomma* sp. sobretudo nos meses de verão e *Ixodes* e *Rhipicephalus* praticamente em todos os meses do ano, confirmando a necessidade de manter o programa ativo durante todo o ano e em todo o território.

Durante muitos anos a FEN foi considerada uma doença sazonal, uma vez que o *R. sanguineus* estava ativo sobretudo nos meses de primavera-verão. Da mesma forma, *I. ricinus* era capturado sobretudo nos meses mais frios, durante o outono e inverno. Os dados do REVIVE indicam que atualmente o padrão de atividade destas duas espécies poderá estar alterado, provavelmente devido a fatores como as alterações climáticas, a ação humana e diferentes modos de exploração agropecuária, à semelhança do que acontece em outros países europeus.

A pesquisa de agentes nos ixodídeos comprovam a infeção com várias espécies de borrélias e rickettsias patogénicas para o Homem. No caso das borrélias, todas as espécies encontradas são agentes etiológicos de uma só doença, a borreliose de Lyme. No caso das rickettsias foram encontradas três espécies de rickettsias patogénicas, mas que não estão envolvidas na etiologia da FEN. Estes resultados estão de acordo com dados prévios que demonstram que,

para além da FEN, existem em Portugal outras rickettsioses associadas a doença no Homem, mas cuja sintomatologia e eco-epidemiologia são completamente diferentes, o que obriga a uma atenção específica por parte dos profissionais de saúde competentes para o seu diagnóstico clínico e confirmação laboratorial (12).

Em 16 exemplares de carrasças foi possível detetar a presença de *Borrelia*, mas foi impossível identificar molecularmente a espécie em causa. Este facto pode ser devido à diminuta quantidade de borrélias presentes nas amostras e/ou à presença de uma nova espécie de borrélia, pelo que serão necessários estudos adicionais para esclarecer a situação.

Em Portugal, a doença transmitida por carrasças com maior impacto é a FEN, apesar de em 2023 não ter sido detetada a presença de *R. conorii* nos exemplares enviados para o laboratório, continua a ser fundamental a sua monitorização e deteção atempada. Os resultados obtidos confirmam que no nosso País as rickettsioses são as doenças mais frequentes, seguida pela borreliose de Lyme, no que diz respeito aos agentes infecciosos associados a carrasças incluídos neste estudo e que atualmente constituem a maior ameaça para a saúde pública em Portugal.

A deteção de mais de um agente infeccioso na mesma carrasça levanta questões sobre a possível co-transmissão destes agentes aos seres humanos ou aos animais e as suas consequências para a saúde humana e animal.

Os resultados apresentados realçam o papel que o programa REVIVE-carrasças tem na monitorização dos agentes patogénicos que circulam nos ixodídeos e que podem causar doença no Homem, bem como, a importância de identificar atempadamente e sinalizar as áreas geográficas onde se encontram vetores infetados.

Referências bibliográficas:

- (1) Núncio MS, Santos AS, Luz T, et al. REVIVE 2022 Ixodídeos. IN: Relatório REVIVE 2022 - Culicídeos e Ixodídeos: Rede de Vigilância de Vetores. Lisboa: INSA, 2023, pp. 33-55. <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/8611>
- (2) Alkishi AA, Peterson AT, Samy AM. Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus*. *PLoS One*. 2017 Dec 5;12(12):e0189092. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189092>
- (3) de Sousa R, Nóbrega SD, Bacellar F, et al. Mediterranean spotted fever in Portugal: risk factors for fatal outcome in 105 hospitalized patients. *Ann N Y Acad Sci*. 2003 Jun;990:285-94. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07378.x>
- (4) de Sousa R, Barata C, Vitorino L, et al. *Rickettsia sibirica* isolation from a patient and detection in ticks, Portugal. *Emerg Infect Dis*. 2006 Jul;12(7):1103-8. <https://doi.org/10.3201/eid1207.051494>
- (5) de Sousa R, Dos Santos ML, Cruz C, et al. Rare Case of Rickettsiosis Caused by *Rickettsia monacensis*, Portugal, 2021. *Emerg Infect Dis*. 2022 May;28(5):1068-1071. <https://doi.org/10.3201/eid2805.211836>
- (6) Núncio MS, Péter O, Alves MJ, et al. Isolamento e caracterização de borrelíias de *Ixodes ricinus* L. em Portugal. *Rev Port Doenç Infec*. 1992;16(3):175-79.
- (7) Collares-Pereira M, Couceiro S, Franca I, et al. First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. *J Clin Microbiol*. 2004 Mar;42(3):1316-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1316-1318.2004>
- (8) de Carvalho IL, Fonseca JE, Marques JG, et al. Vasculitis-like syndrome associated with *Borrelia lusitaniae* infection. *Clin Rheumatol*. 2008 Dec;27(12):1587-91. <https://doi.org/10.1007/s10067-008-1012-z>
- (9) European Centre for Disease Prevention and Control. Cases of Crimean-Congo haemorrhagic fever infected in the EU/EEA, 2013-present [online]. [consult. 19/09/2024]. <https://www.ecdc.europa.eu/en/crimean-congo-haemorrhagic-fever/surveillance/cases-eu-since-2013>
- (10) Charrel RN, Attoui H, Butenko AM, et al. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2004 Dec;10(12):1040-55. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.01022.x>
- (11) Filipe AR, Calisher CH, Lazuick J. Antibodies to Congo-Crimean haemorrhagic fever, Dhori, Thogoto and Bhanja viruses in southern Portugal. *Acta Virol*. 1985 Jul;29(4):324-28.
- (12) Lorenzo Juanes HM, Carbonell C, Sendra BF, et al. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Spain, 2013-2021. *Emerg Infect Dis*. 2023 Feb;29(2):252-259. <https://doi.org/10.3201/eid2902.220677>
- (13) Lopes de Carvalho I, de Sousa R, Luz T, et al. REVIVE 2023 Ixodídeos. IN: Relatório REVIVE 2023 - Culicídeos e Ixodídeos: Rede de Vigilância de Vetores. Lisboa: INSA, 2024, pp. 35-56. <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/9172>