



Brucelose humana: análise retrospectiva de casos clínicos suspeitos de infeção entre 2002 e 2013

Ana Pelerito¹, Rita Cordeiro¹, Rita Matos²,
Maria Augusta Santos², Sofia Soeiro², Sofia Núncio¹

ana.pelerito@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Unidade laboratorial Integrada. Laboratório de Imunologia. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

Introdução

A brucelose é uma das zoonoses mais frequentes a nível mundial causada por bactérias intracelulares facultativas do género *Brucella* (1). O género *Brucella* engloba atualmente 11 espécies, cinco das quais (*B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, *B. ovis* e raramente *B. canis*) podem provocar doença no Homem. *B. melitensis* é a espécie mais virulenta e a mais prevalente em todo o Mundo (1).

Em Portugal, a brucelose é uma doença de declaração obrigatória, sendo uma das três zoonoses mais incidente, com casos humanos notificados em todas as regiões do Continente, conforme consta do relatório 2009-2012 da Direção-Geral da Saúde (DGS) (2). A inclusão de *Brucella* spp. na lista de agentes com potencialidade para ser utilizado como arma biológica aumentou a preocupação das autoridades responsáveis pela saúde humana e animal (3) e obrigou os laboratórios de referência a assegurarem a melhoria e constante atualização dos métodos laboratoriais de diagnóstico e deteção rápida de *Brucella* spp em humanos, animais e alimentos (4,5).

A brucelose humana é uma doença sistémica que pode comprometer qualquer órgão ou sistema de forma subaguda, aguda ou crónica. A doença apresenta diversas formas clínicas, dependentes da espécie, do modo de transmissão e também da resposta do hospedeiro (6,7).

O diagnóstico laboratorial assenta na utilização de métodos diretos, como sejam o isolamento do agente etiológico por exame cultural e a deteção de ácidos nucleicos por métodos moleculares, e também em métodos indiretos para deteção de anticorpos específicos.

No entanto, os métodos convencionais de diagnóstico da brucelose humana não diferenciam as espécies do género *Brucella* spp. Recentemente, foram desenvolvidos vários métodos moleculares, nomeadamente o PCR em tempo real, que apresenta maior potencial para uma identificação direta e rápida das espécies do género *Brucella* spp.

Objetivo

Este estudo tem como objetivo descrever as características demográficas dos doentes com quadro clínico suspeito de brucelose, cujo diagnóstico laboratorial foi confirmado no Departamento de Doenças Infecciosas do Instituto Nacional Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2002 e 2013.

Material e métodos

Foi efetuada uma análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de todos os doentes com suspeita clínica de brucelose, que recorreram ao INSA para confirmação ou exclusão do diagnóstico entre 2002 e 2013.

Para o diagnóstico laboratorial da infeção por brucelose foram utilizados métodos serológicos para pesquisa de anticorpos (Rosa Bengala, *Wright*, 2-mercaptoetanol, teste de *Coombs*, imunofluorescência indireta e reação imunoenzimática). Todas as amostras de soro e/ou líquido céfalo-raquidiano (LCR) foram analisadas por, pelo menos, duas das técnicas descritas anteriormente no Laboratório de Imunologia de Lisboa e Porto do INSA. Paralelamente, foi também realizado um estudo molecular, que visou a identificação da espécie do género *Brucella* spp por PCR em tempo real, utilizando sondas de hidrólise em amostra clínicas de sangue, LCR, biópsias e estirpes isoladas de hemoculturas, que foram recebidas na Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação do INSA entre 2010 e 2013.

Para a análise descritiva dos dados demográficos dos casos confirmados, recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativas.

Resultados

Entre janeiro de 2002 e dezembro de 2013 foram analisadas no INSA amostras biológicas de 5990 doentes com suspeita clínica de brucelose, dos quais 10,3% (617/5990) apresentaram serologia positiva para *Brucella* spp. A distribuição de casos por ano

artigos breves_ n. 6

de diagnóstico variou entre 5,8% em 2008 e 15,9% em 2002. Em 2013, foram confirmados 12,6% (31/247) dos casos com suspeita clínica de brucelose, correspondendo a uma frequência superior à média obtida nos 12 anos em estudo (Gráfico 1).

Dos 617 doentes positivos para *Brucella* spp, 60.7% (375/617) pertenciam ao género masculino e 39.2% (242/617) ao género feminino. A idade foi conhecida em 76% (469/617) dos casos com infeção por *Brucella* spp, dos quais metade (50,3%; 236/469) eram do grupo etário 36-65 anos (Gráfico 2).

Entre 2010 e 2013 foram igualmente estudados, por PCR em tempo real, 162 doentes sendo a espécie *Brucella melitensis* a única identificada em 12.3% (20/162) dos casos analisados (Gráfico 3).

Foi possível obter informação sobre o género em 13 dos 20 doentes com amostras positivas por PCR em tempo real, verificando-se uma razão dos sexos de 1:1. Quanto à distribuição por idade nestes doentes, observou-se que a média etária foi de 48,5 anos (variando entre 6 e 91 anos) e que o grupo 36-65 anos foi o mais frequente.

Gráfico 1: Distribuição dos casos de brucelose, 2002 e 2013.

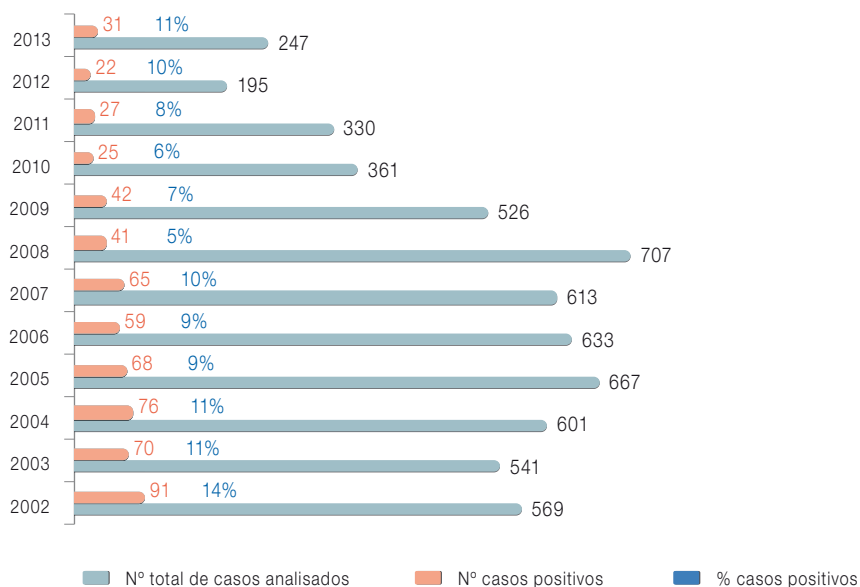


Gráfico 2: Distribuição de casos de brucelose por género e grupo etário, 2002-2013.

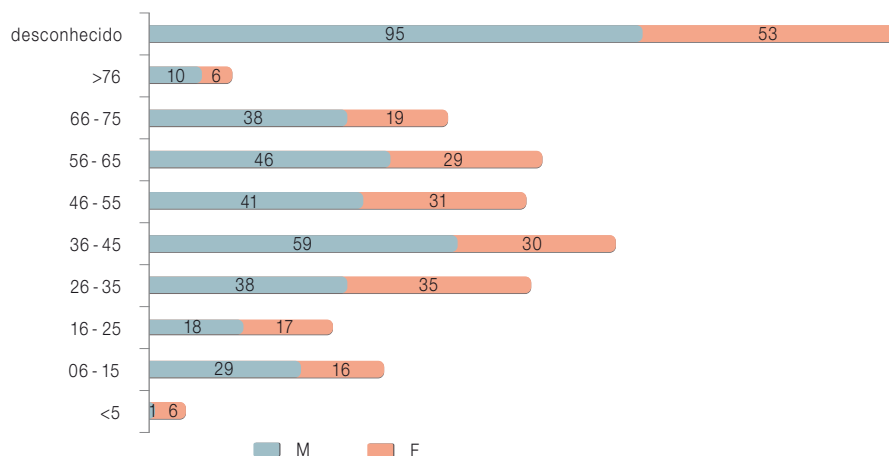
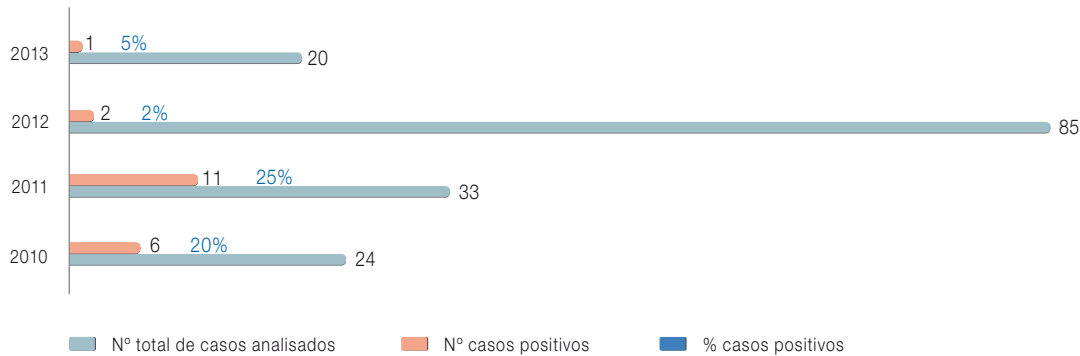


Gráfico 3: ↓ Distribuição dos casos de brucelose identificados por PCR em tempo real, 2010-2013.



_Discussão e conclusões

Em Portugal, a brucelose é uma das três zoonoses mais incidente, com casos humanos declarados em todas as regiões do Continente.

Das 162 amostras recebidas no INSA, entre 2010 e 2013, 20 foram positivas para *B. melitensis*. À semelhança do resto do Mundo (1), este estudo indicia que *B. melitensis* é também a espécie mais frequente em Portugal. Este facto, demonstra, por si só, a utilidade da técnica molecular PCR, particularmente quando aplicada a doentes com sintomatologia clínica e resultados serológicos negativos, conseguindo-se, assim, a identificação rápida do agente etiológico ainda na fase aguda da infeção.

Em conclusão, pode-se afirmar que a brucelose continua a ser uma realidade em Portugal e que este estudo reforça a necessidade de se manter uma vigilância epidemiológica ativa, que permita a deteção precoce de todos os casos de infeção. Entre 2009 e 2012 verificou-se uma diferença entre os casos notificados à DGS (n=296) e os casos identificados no INSA (n=116). Esta diferença é facilmente justificada, quer pela existência de outros laboratórios nacionais a realizar o diagnóstico, quer por alguns dos casos notificados à DGS não terem confirmação laboratorial. No entanto, esta constatação, alerta para a importância de se integrar a informação clínica e laboratorial dos casos sob vigilância, por forma a aumentar a sensibilidade dos sistemas de vigilância e, assim, melhor se conhecer a real situação epidemiológica da brucelose e de outras doenças infecciosas em Portugal.

_Agradecimentos

Ao Gabinete de Tecnologias e Sistemas de Informação do INSA pelos dados disponibilizados. À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) Young EJ. Brucella species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. New York: Elsevier/Churchill Livingstone, 2005: 2669-72.
- (2) Direção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2009-2012. Lisboa: DGS, 2013. Vol. 1. [LINK](#)
- (3) Hinic V, Brodard A, Thomann A, et al. Novel identification and differentiation of Brucella melitensis, B. abortus, B. suis, B. ovis, B. canis and B. neotamae suitable for both conventional and real-time PCR systems. J Microbiol Meth. 2008;75(2): 375-8.
- (4) Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, et al. The new global map of human Brucellosis. Lancet Infect Dis. 2006 6(2):91-9.
- (5) Tzaneva V, Ivanova S, Georgieva M, et al. Investigation of the spread of Brucellosis among human and animal populations in southeastern Bulgaria, 2007. Euro Surveill. 2009;14(17):pii=19187. [LINK](#)
- (6) European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. EFSA Journal 2013;11(4):3129. [LINK](#)
- (7) Jacobs MK. The history of biologic warfare and bioterrorism. Dermatol Clin. 2004;22(3):231-46, v.