

_título:

REVIVE 2016

Culicídeos e Ixodídeos

_subtítulo:

Rede de Vigilância de Vetores

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Administrações Regionais de Saúde
Instituto da Administração da Saúde e Assuntos Sociais
Direção Regional da Saúde
Direção-Geral da Saúde

_edição:

INSA, IP

_autores:

Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac
Departamento de Doenças Infecciosas

_local / data:

Lisboa
Abril 2017



Instituto **Nacional de Saúde**
Doutor Ricardo Jorge



Catálogo na publicação:

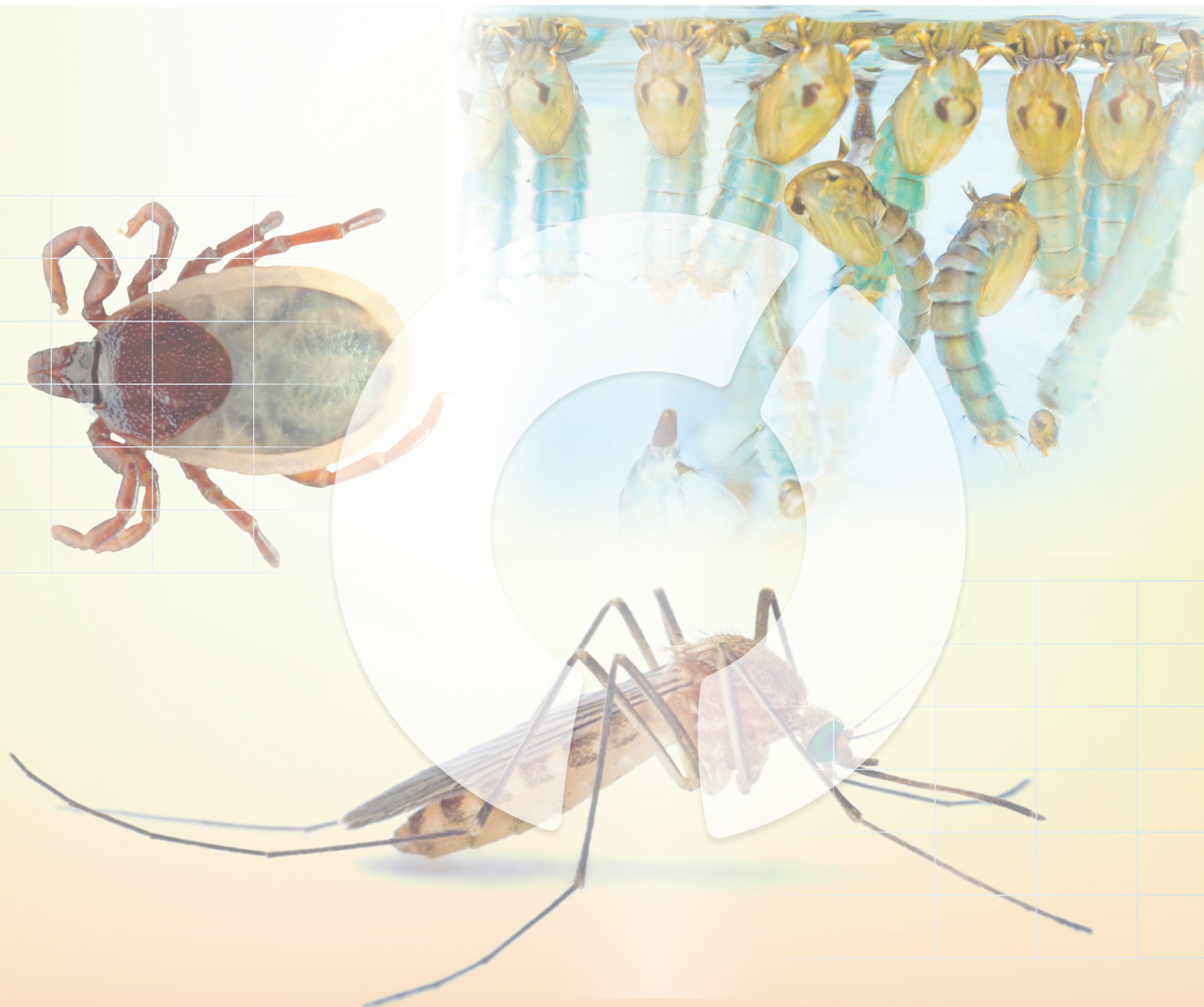
PORTUGAL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP
REVIVE 2016 - Culicídeos e Ixodídeos : Rede de Vigilância de Vetores / Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac. -Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, 2017. - 49 p. : il.

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2017

Título: REVIVE 2016 - Culicídeos e Ixodídeos : Rede de Vigilância de Vetores
Autor: Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac
Editor: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, IP)
Coordenação técnica editorial: Elvira Silvestre
Composição gráfica: Francisco Tellechea
ISBN (ebook): 978-989-8794-33-8

Lisboa, abril de 2017

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

_título:

REVIVE 2016

Culicídeos e Ixodídeos

_subtítulo:

Rede de Vigilância de Vetores

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Administrações Regionais de Saúde
Instituto da Administração da Saúde e Assuntos Sociais
Direção Regional da Saúde
Direção-Geral da Saúde

_edição:
INSA, IP

_autores: Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac
Departamento de Doenças Infeciosas

_local / data:
Lisboa
Abril 2017

Índice

Rede de Vigilância de Vetores – REVIVE	5
I. REVIVE 2016 – Culicídeos	7
1. Mosquitos e agentes transmitidos	9
2. Metodologias REVIVE	12
3. Resultados REVIVE 2016	14
3.1. Esforço de captura	14
3.1.1. Concelhos	14
3.1.2. Pontos de entrada	15
3.2. Espécies identificadas	12
3.3. Pesquisa de agentes patogénicos	22
4. Conclusões	23
II. REVIVE 2016 – Ixodídeos	25
1. Carraças e agentes transmitidos	27
2. Metodologias REVIVE	32
3. Resultados REVIVE 2016	34
3.1. Esforço de captura	34
3.1.1. Carraças em fase parasitária	36
3.1.1.1. Homem	36
3.1.1.2. Animais	36
3.1.2. Carraças em fase de vida livre	36
3.2. Espécies identificadas	37
3.3. Pesquisa de agentes patogénicos	41
4. Conclusões	42
III. Equipas REVIVE	45

Índice de figuras

Figura 1: Ciclo de vida dos culicídeos	9
Figura 2: Concelhos onde foram realizadas colheitas em 2016 e em 2011-2015	14
Figura 3: Distribuição geográfica de <i>Culex pipiens</i>	17
Figura 4: Distribuição geográfica de <i>Ochlerotatus caspius</i>	17
Figura 5: Distribuição geográfica de <i>Culex theileri</i>	18
Figura 6: Distribuição geográfica de <i>Culiseta longiareolata</i>	18
Figura 7: Distribuição geográfica de <i>Culex perexiguus</i>	19
Figura 8: Distribuição geográfica de <i>Culex modestus</i>	19
Figura 9: Distribuição geográfica de <i>Anopheles maculipennis</i> s.l.	20
Figura 10: Distribuição geográfica de <i>Aedes aegypti</i>	21
Figura 11: Ciclo de vida dos ixodídeos	27
Figura 12: Concelhos onde foram realizadas colheitas em 2016 e em 2011-2015	34
Figura 13: Colheitas de ixodídeos na fase de vida parasitária em hospedeiros humanos, cães, outros animais e na fase de vida livre	35
Figura 14: Distribuição geográfica de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	38
Figura 15: Distribuição geográfica de <i>Ixodes ricinus</i>	38
Figura 16: Distribuição geográfica de <i>Dermacentor marginatus</i>	39
Figura 17: Distribuição geográfica de <i>Dermacentor reticulatus</i>	39
Figura 18: Distribuição geográfica de <i>Hyalomma lusitanicum</i>	40
Figura 19: Distribuição geográfica de <i>Hyalomma marginatum</i>	40

Índice de quadros

Quadro 1: Espécies identificadas em Pontos de Entrada	16
Quadro 2: Agentes etiológicos transmitidos por ixodídeos presentes ou em risco de emergir em Portugal	30
Quadro 3: Espécies de <i>Rickettsia</i> e <i>Borrelia</i> detectadas em Ixodídeos colhidos em hospedeiros e na vegetação no âmbito do REVIVE 2016	41

Rede de Vigilância de Vetores

REVIVE

O programa REVIVE (Rede de Vigilância de Vetores) resulta de protocolo entre a Direção-Geral da Saúde, as Administrações Regionais de Saúde do Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e do Norte, o Instituto dos Assuntos Sociais e da Saúde da Madeira, a Direção Regional da Saúde dos Açores e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

O ano de 2016 representa o 9.º ano de existência do programa REVIVE (2008-2020).

No âmbito do REVIVE é realizada a vigilância entomológica em culicídeos (mosquitos), ixodídeos (carraças) e flebótomos.

O projeto REVIVE resulta da cooperação interinstitucional e tem contribuído para um conhecimento sistemático da fauna de culicídeos e de ixodídeos de Portugal e do seu potencial papel de vetor, constituindo uma componente dos programas de vigilância epidemiológica indispensável à avaliação do risco de transmissão de doenças potencialmente graves.

Nesta publicação apresentam-se, de uma forma resumida, os resultados da vigilância de mosquitos e carraças realizada em 2016 em todas as regiões do país, dando ênfase aos mapas de presença e ausência das espécies de mosquitos e carraças que têm, ou podem vir a ter, importância em saúde pública em Portugal.



REVIVE 2016 – Culicídeos

DGS – Divisão de Saúde Ambiental

ARS – Administrações Regionais de Saúde do Alentejo, Algarve, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte

IASAÚDE – Instituto da Administração da Saúde e Assuntos Sociais. IP-RAM

DRS – Direção Regional da Saúde dos Açores

INSA/DDI – Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac

Autores: Maria João Alves

Líbia Zé-Zé

Fátima Amaro

Hugo Osório

1. Mosquitos e agentes transmitidos

Os mosquitos são insetos que pertencem à família Culicidae, uma das mais primitivas famílias da ordem Diptera, na qual se reconhecem mais de 3500 espécies e subespécies distribuídas por todo o mundo¹.

Os mosquitos, ou culicídeos, pertencem ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae. A família Culicidae divide-se em três subfamílias, Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae.

A sistemática dos mosquitos é complexa e tem sido continuamente sujeita a revisões que incluem a adição de novas *taxa* e a modificação e/ou remoção de outros desde o início das primeiras revisões taxonómicas². O catálogo mundial da família Culicidae é atualmente mantido pela Walter Reed Biosystematics Unit em Washington DC (<http://wrbu.si.edu>) e conta com 3528 espécies distribuídas por 43 géneros³.

As espécies com importância em saúde pública, com capacidade vetorial, pertencem à subfamília Anophelinae e Culicinae.

Tal como outros dípteros, os mosquitos são insetos holometabólicos, exibem metamorfoses completas passando pelos estádios de ovo, larva e pupa que são anatomicamente diferentes do inseto adulto, têm outro tipo de alimentação e ocupam habitats diferentes.

Os mosquitos adultos têm a probóscide (aparelho bucal) longa e flexível, sendo, nas fêmeas, adaptada à perfuração de tegumentos para obtenção da refeição sanguínea.

O ciclo de vida dos mosquitos compreende necessariamente uma fase aquática, relativa às formas imaturas, ovo, quatro estádios larvares e pupa e uma fase terrestre/aérea correspondente ao mosquito adulto (Figura 1). As fêmeas de mosquitos colocam 50 a 300 ovos por postura, sendo o número e a forma da postura dependente

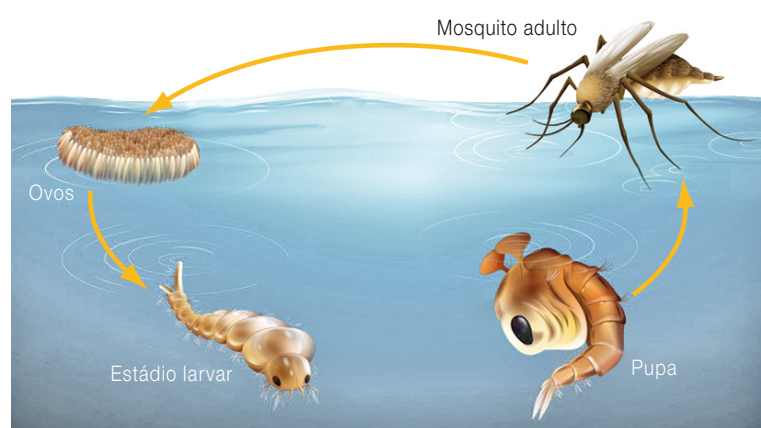


Figura 1: Ciclo de vida dos mosquitos

1. Edwards, FW. Diptera, Family Culicidae. [book auth.] P. Wytzman. Genera Insectorum. Brussels: Desmet Verteneuil, 1932, pp. 1-258.
2. A Synoptic Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera, Culicidae). Stone, Alan, Knight, Kenneth L. and Starcke, Helle. s.l.: The Thomas Say Foundation, Entomological Society of America, 1959, Entomological Society of America, p. 358.
3. Harbach, RE and Howard, TM. Mosquito Classification. The Walter Reed Biosystematics Unit. [Online] 2010. [Cited: Fevereiro 26, 2014.] <http://wrbu.si.edu/index.html>.

da espécie e do estado fisiológico da fêmea. A postura pode ser efetuada sobre a superfície da água ou em locais húmidos que posteriormente serão inundados. Os mosquitos exploram uma grande variedade de habitats aquáticos para o desenvolvimento das fases imaturas, estando a maioria das espécies de mosquitos apenas adaptada a criadouros de água doce.

Os mosquitos representam o grupo de artrópodes mais importante do ponto de vista médico e veterinário pelo facto de serem vetores de importantes doenças.

A malária, várias arboviroses e filarioses linfáticas causam anualmente elevada morbidade e mortalidade.

Em 2015, foi relatada a transmissão de malária em 96 países, estimando-se, globalmente, 214 milhões de novos casos de infecção e 438 000 mortes associadas⁴.

Mais de 120 milhões de pessoas são anualmente afectadas por filarioses linfáticas e cerca de 1,4 mil milhões de pessoas em 73 países estão em risco de serem infectados por este helminta transmitido por mosquitos⁵.

Nos arbovírus (*arthropod-borne virus*), o dengue é a mais importante infeção viral transmitida por mosquitos. Nas últimas décadas a incidência de dengue cresceu dramaticamente em todo o mundo, estimando-se que mais de 2,5 mil milhões de pessoas (40% da população mundial) se encontrem em risco de contrair dengue e que ocorram 50-100 milhões de infeções todos os anos⁶. A febre-amarela, apesar da vacina altamente eficaz, provoca 200 000 casos e 30 000 mortes por ano, número que tem vindo a aumentar nas últimas duas décadas devido ao declínio da imunidade da população vacinada e a fatores sociais e ecológicos, como migrações populacionais, deflorestação, urbanização e alterações climáticas⁷. A encefalite japonesa, a mais comum encefalite viral transmitida por mosquitos nos países asiáticos, tem uma casuística de 50 000 casos anuais⁸. A infecção por vírus *West Nile* tem um elevado impacto em países onde é ou se tornou endémico⁹. Nas últimas duas décadas os surtos epidémicos do vírus *West Nile* na Europa e bacia mediterrânica têm vindo a aumentar¹⁰. O vírus Chikungunya, arbovírus que causa febre e dores articulares intensas, atingiu proporções epidémicas entre 2005-2007 quando foram registados 1,25 milhões de casos em ilhas

4. World Health Organization (WHO). World malaria report 2015. Switzerland : WHO Library Cataloguing-Publication Data, 2015. ISBN 978-92-4-156515 8.
5. World Health Organization (WHO). Fact sheet. [Online] [Cited: Fevereiro 26, 2014.] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en>.
6. World Health Organization (WHO). Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. France : WHO Library Cataloguing-Publication Data, 2009. ISBN 978-92-4-154787-1.
7. World Health Organization (WHO). Fact sheet. [Online] [Cited: Fevereiro 26, 2014.] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en>.
8. Go, YY, Balasuriya, UB and Lee, CK. Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. *Clinical and experimental vaccine research*. 2014, Vols. 3 (1): 58-77.
9. Komar, N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. 2003, *Advances in Virus Research*, pp. 61: 185-234.
10. Danis, K et al. Ongoing outbreak of West Nile virus infection in humans, Greece, July to August 2011. 2011, *Eurosurveillance*, p. 16 (34) pii: 19951.

do Oceano Índico e na Índia assim como um surto em Itália com mais de duas centenas de casos em 2007. A propagação explosiva deste vírus tem-se vindo a observar, desde 2013, a partir da região das Caraíbas para toda a América Latina com dezenas de milhares de casos registados¹¹. O vírus Zika, depois de emergir a partir de 2007 na Micronésia, Polinésia e outras ilhas da Oceania, foi introduzido no Brasil, onde se estima que tenham ocorrido entre 0,5 e 1,5 milhões de casos em 2015, e está atualmente presente em 33 países da América Central e do Sul. A possibilidade de as infecções por vírus Zika estarem associadas a mal-formações congénitas, como a microcefalia, e a outras alterações neurológicas, levou a Organização Mundial de Saúde (OMS) a declarar emergência mundial de saúde pública¹².

As incidências determinadas e estimadas pela OMS demonstram o impacto dos mosquitos na saúde pública global e evidenciam a importância da entomologia médica aplicada ao estudo desta família de insetos.

11. Charrel R N, Leparc-Goffart I., Gallian P, Lamballerie X. Clinical Globalization of Chikungunya: 10 years to invade the world. *Microbiology and Infection*, July, 2014. 10.1111/1469-0691.12694

12. OMS, 2016. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204718/1/zikasitrep_31Mar2016_eng.pdf?ua=1

2. Metodologias REVIVE

Os programas que envolvem a investigação e vigilância de espécies de mosquitos estão, normalmente, focados no estudo das fases imaturas. Por outro lado, os programas que pretendem estudar a sua capacidade vetorial incidem, sobretudo, nos mosquitos adultos. No âmbito do REVIVE pretende-se, não só vigiar a presença/ausência de espécies vetoras, mas também avaliar a transmissão de flavivírus, sendo assim objeto de vigilância tanto mosquitos adultos (terrestres/voadores) como os estádios imaturos (aquáticos).

Os métodos usados no âmbito do REVIVE são anualmente revistos, mantidos ou melhorados, com a participação dos responsáveis e técnicos das regiões e do CEVDI/INSA.

Colheitas

Nas colheitas de mosquitos adultos são utilizadas armadilhas tipo CDC e BG, ou Mosquitaire e Vector Trap, iscadas ou não com CO₂ ou outro tipo de atrativo aconselhado pelos fornecedores, assim como aspiradores.

Na recolha de larvas e pupas em criadouros aquáticos são utilizados caços.

As regiões de saúde garantem os equipamentos para registo de temperaturas mínimas e máximas, humidade relativa e georeferência.

Os Boletins de Colheita de Adultos e Estádios Imaturos, para harmonizar o envio de dados ao laboratório, são preparados pelo CEVDI/INSA, revistos periodicamente, e enviados às regiões. A periodicidade da amostragem é variável de

acordo com os objetivos dos projetos. Em Portugal continental, o período mais significativo para a presença de mosquitos ocorre de maio a outubro, tendo sido este período seleccionado para as colheitas, não excluindo, no entanto, a probabilidade, cada vez maior, de ocorrência de mosquitos noutros períodos do ano devido às alterações climáticas. Nos portos e aeroportos a vigilância decorre de janeiro a dezembro. As seleções de locais e calendários de colheitas são feitas pelas respectivas regiões, que informam o CEVDI/INSA antes das saídas de campo, para programação da chegada de material.

Transporte

As amostras são enviadas ao CEVDI/INSA por correio, ou em mão, acondicionadas em malas refrigeradas e até três dias depois do início do trabalho de campo. O CEVDI informa que o acondicionamento dos artrópodes (adormecidos pelo frio) para envio ao laboratório deve ser de acordo com o *triple packaging*, recomendado pela OMS para o transporte de produtos biológicos.

As amostras são acompanhadas dos respectivos Boletins de Colheita de Mosquitos Adultos e Estádios Imaturos, nos quais foram reunidas informações sobre a ARS, coletor, local de colheita, descrição, coordenadas GPS, condições atmosféricas, horas, temperatura e humidade.

Identificação

Os mosquitos no estágio adulto recebidos no laboratório são identificados à espécie. São preparados *pools* até um máximo de 50 espécimes, de acordo com a espécie, género, data e local de colheita para pesquisa de agentes patogénicos.

Os mosquitos imaturos são identificados imediatamente e/ou deixados eclodir para o estágio adulto para confirmação da identificação.

O CEVDI regista, em base de dados própria, todos os dados que constam nos boletins de colheita que acompanham as amostras.

Pesquisa de agentes patogénicos (flavivírus e plasmódio)

Os procedimentos para pesquisa de flavivírus (*West Nile*, Dengue, Febre Amarela, Zika, Encefalite Japonesa e outros) iniciam-se com a extracção de RNA total dos *pools* de mosquitos e detecção de flavivírus por pesquisa direta da presença de RNA viral por RT-PCR.

Os mosquitos adultos identificados como do género *Anopheles*, colhidos em Pontos de Entrada como portos e aeroportos, são testados para a presença do parasita da malária.

Comunicação

Em caso de identificação de espécies de mosquitos exóticos e/ou invasores e de amostras positivas para agentes patogénicos o CEVDI informa imediatamente os responsáveis de cada região de saúde e a DGS.

Mensalmente, durante a época de colheitas que decorre de maio a outubro, são enviados, por correio electrónico, aos participantes REVIVE quadros/resumo dos resultados das colheitas, identificações e pesquisas de vírus. Fora da época de maio a outubro, em que decorre vigilância nos portos, aeroportos e zonas de fronteira, são enviados balanços bimestrais pelo mesmo meio.

No primeiro trimestre de cada ano o CEVDI/INSA prepara um Relatório Técnico, que é enviado a

cada uma das regiões, com resultados da época de colheitas e trabalho laboratorial de identificação de mosquitos e pesquisa de flavivírus do ano anterior.

Em abril de cada ano é organizado o Workshop REVIVE nas instalações do CEVDI/INSA em Águas de Moura, com a participação de técnicos e responsáveis das ARS's, IASAÚDE Madeira, INSA e DGS. No Workshop é apresentada uma publicação REVIVE nacional que fica disponível em www.insa.pt.

Periodicamente os resultados do REVIVE são apresentados em reuniões ou revistas científicas, com a co-autoria da Equipa REVIVE.

Formação

A formação é da responsabilidade dos investigadores do CEVDI/INSA que prepararam um “Manual REVIVE”, revisto periodicamente, para distribuição aos formandos. As ações de formação, com duração de um dia, são destinadas aos colaboradores REVIVE. Na formação pretende-se salientar a importância da vigilância de vetores e agentes transmitidos, demonstrar o funcionamento do projeto REVIVE, assim como treinar os formandos para as colheitas de mosquitos nas suas regiões.

As ações de formação REVIVE – Mosquitos ocorreram em 2008 (1.º protocolo), anualmente de 2011 a 2015 (2.º protocolo) e bianualmente desde 2016 (3.º protocolo) tendo contado com a participação de 178 formandos de todas as regiões do país.

As próximas ações de formação vão decorrer em maio de 2018 (informação disponível em www.insa.pt).

3. Resultados REVIVE 2016

3.1. Esforço de Captura

O trabalho de campo, realizado pelas regiões de saúde, para recolha de mosquitos adultos e imaturos, decorreu entre maio e Outubro de 2016, período de maior atividade de mosquitos, em diversos concelhos de Portugal, e de janeiro a dezembro em aeroportos, portos e algumas fronteiras (Pontos de Entrada).

Os locais, assim como a periodicidade da amostragem, foram selecionados pelas regiões, tendo como critério principal a proximidade à população humana, o historial da presença de mosquitos, o impacto nas atividades humanas, a presença de potenciais criadouros e pontos de entrada de espécies exóticas/invasoras assim como a experiência adquirida em anos anteriores no âmbito do REVIVE.

3.1.1. Concelhos

Em 2016 foi realizado esforço de captura de mosquitos adultos e/ou imaturos em 190 concelhos (Figura 2).

O esforço de captura por concelho (número de colheitas) de mosquitos adultos foi em média de 10,4 [1-69] e de mosquitos imaturos de 10,5 [1-162] colheitas/concelho.

Em 1272 colheitas de mosquitos adultos (armadilhas/noite) efetuadas em 2016 foram capturados 13216 mosquitos e em 2145 colheitas de imaturos (boletins) foram recolhidos 22692 larvas e pupas de mosquito.

No período de 2011-2015 foram feitas colheitas de mosquitos adultos e/ou imaturos num total de 177 concelhos de Portugal Continental e Madeira (Figura 2).

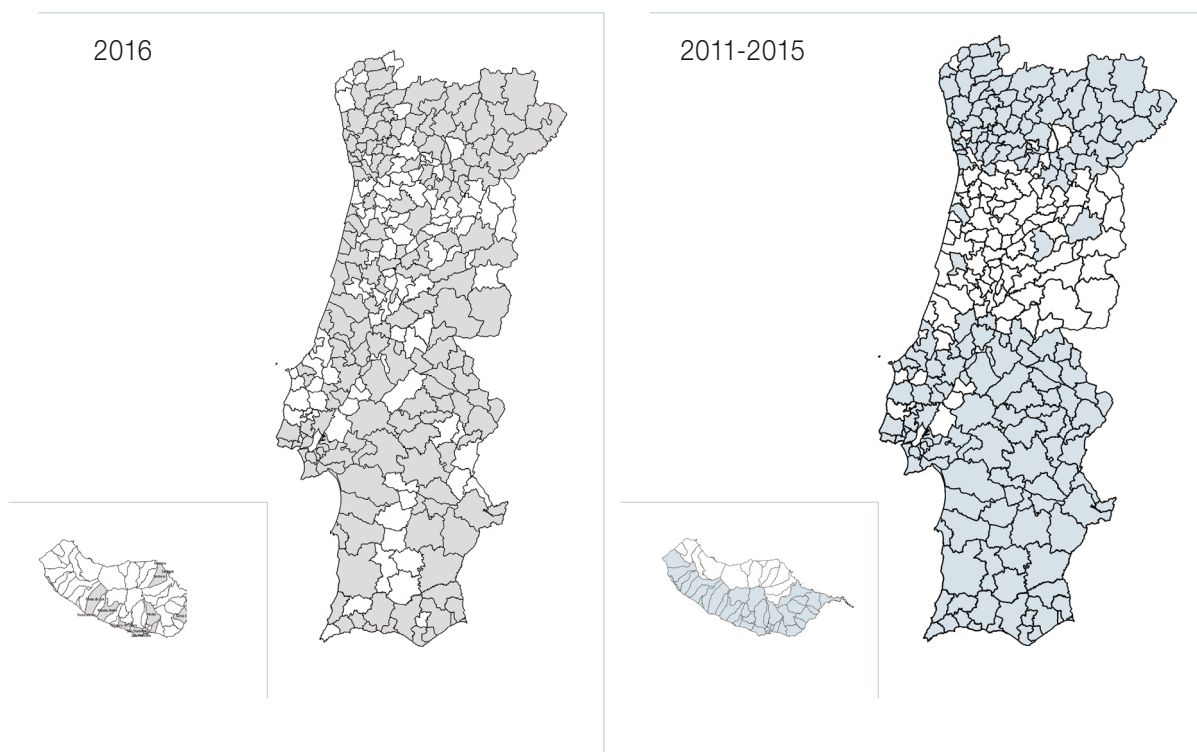


Figura 2: Concelhos onde foram realizadas colheitas em 2016 e em 2011-2015

No período 2011-2015 o esforço de captura de mosquitos adultos foi em média 15,4 [1-374] e de mosquitos imaturos de 19,3 [1-443] colheitas/concelho.

No período 2011-2015, em 3472 colheitas de mosquitos adultos foram capturados 53459 mosquitos e em 6043 colheitas de imaturos foram recolhidos 116580 larvas e pupas de mosquito.

3.1.2. Pontos de Entrada

O Regulamento Sanitário Internacional (D.R. 1.^a série, N.º 16, de 23 de janeiro de 2008) preconiza, nos Anexos 1 e 5, o estabelecimento de programas de vigilância e controlo de vetores no perímetro de portos e aeroportos, locais privilegiados para os processos de invasão e estabelecimento de espécies exóticas de importação. A vigilância entomológica de fronteiras é também particularmente importante quando já há dispersão de espécies invasoras em países vizinhos.

A metodologia mais adequada, sugerida pela OMS e ECDC, para vigilância dos Pontos de Entrada (POE – *point of entry*) é a utilização de *ovitraps* (criadouros artificiais para oviposição), para colheita de estádios imaturos de mosquitos. As *ovitraps* são particularmente úteis na deteção precoce de novas introduções/infestações de mosquitos com origem em actividades comerciais. A vigilância nestes locais deve ser realizada durante todo o ano.

No âmbito do REVIVE em 2016 a vigilância em POEs foi realizada em quatro aeroportos, um aeródromo, 11 portos e quatro regiões de fronteira.

A vigilância em aeroportos foi realizada nos três aeroportos internacionais, Faro, Lisboa e Porto, no aeroporto de Beja e no aeródromo de Tires.

A vigilância em portos foi realizada em 11 portos, nomeadamente Aveiro, Figueira da Foz, Faro, Leixões, Lisboa, Portimão, Póvoa de Varzim, Setúbal, Sines, Viana do Castelo e Vila Real de Santo António.

A vigilância em zonas de fronteira foi realizada em Alcoutim e Castro Marim (Algarve), e em Barrancos e Elvas (Alentejo).

Em 2016 a vigilância em POEs foi feita recorrendo, sobretudo, à colheita de estádios imaturos em *ovitraps* ou criadouros naturais (1598 colheitas com 3187 mosquitos) durante todo o ano e de mosquitos no estádio adultos (187 armadilhas/noite com 675 mosquitos) de maio a outubro.

Nos POEs, em 2016, foram identificadas 10 espécies de mosquitos ([Quadro 1](#)). Todas as espécies descritas nos POEs são espécies autóctones, não tendo sido identificadas novas introduções e/ou espécies exóticas/invasoras.

Quadro 1: Espécies identificadas em Pontos de Entrada

Espécies identificadas										
	An. <i>maculipennis</i>	Cs. <i>annulata</i>	Cs. <i>longiareolata</i>	Cx. <i>hortensis</i>	Cx. <i>laticinctus</i>	Cx. <i>perexiguus</i>	Cx. <i>pipiens</i>	Cx. <i>theileri</i>	Oc. <i>caspius</i>	Oc. <i>detritus</i>
Aeroportos										
Faro			X				X	X	X	
Lisboa			X				X	X	X	
Porto				X			X		X	
Beja							X			
Aeródromo										
Tires			X				X			
Portos										
Aveiro			X							
Faro										
Portimão			X			X	X	X	X	X
Figueira da Foz	X		X		X		X	X	X	
Leixões			X				X			
Lisboa (Almada)			X				X			
Póvoa de Varzim			X							
Setúbal			X				X			
Sines			X				X	X	X	
Viana do Castelo		X	X				X			
Vila Real Sto. António			X		X		X			
Fronteiras										
Alcoutim		X	X	X	X		X	X		
Castro Marim										
Barrancos			X		X	X	X	X		
Elvas										

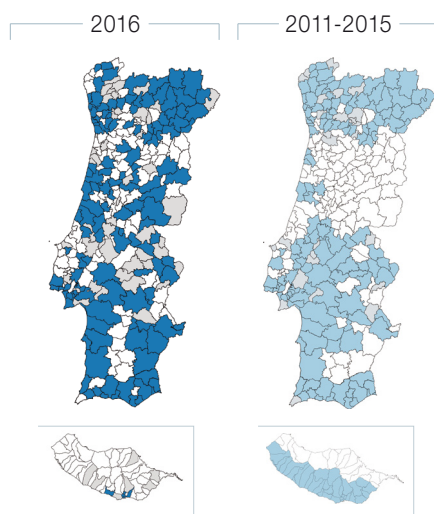


Figura 3: Distribuição geográfica de *Culex pipiens*

Culex (Culex) pipiens Linnaeus, 1758

Culex pipiens é a espécie nominal do complexo *pipiens*. É uma espécie paleártica, encontrando-se também nas sub-regiões este e sul-africana e na América do Norte e do Sul.

Culex pipiens é extremamente comum em Portugal, estando abundantemente distribuído em todas as regiões. Apresenta elevada capacidade de adaptação ecológica. Os criadouros são coleções de água temporárias ou permanentes, apresentando-se muito poluídas e ricas em matéria orgânica ou límpidas. É uma espécie abundante durante o verão e outono, iniciando-se a atividade dos adultos na primavera. As fêmeas invernam abrigadas em interiores de habitações nos lugares mais escuros e em caves naturais. É uma espécie considerada primariamente ornitófila, embora esteja demonstrado que se alimente de outros vertebrados de sangue quente, incluindo humanos.

Culex pipiens está envolvido na circulação de vários arbovírus na natureza, nomeadamente o vírus *West Nile*.

Esta espécie foi identificada todos os meses de colheita, de maio a outubro, com uma subida acentuada nas colheitas de adultos realizadas em julho.

A abundância relativa de *Cx. pipiens* determinada no REVIVE 2016 foi de 35% em mosquitos adultos e de 43% em imaturos.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 37% *Cx. pipiens* adultos e 43% imaturos.

A elevada abundância e pequena diferença na amostragem entre estádios corroboram as características doméstica e cosmopolita que são típicas desta espécie.

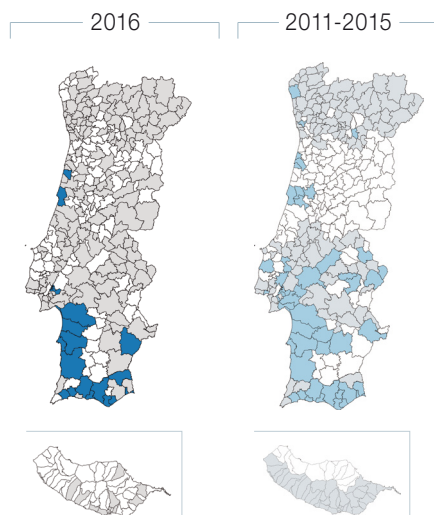


Figura 4: Distribuição geográfica de *Ochlerotatus caspius*

Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius Pallas, 1771

Ochlerotatus caspius é uma espécie amplamente distribuída na região Paleártica.

Ochlerotatus caspius é um mosquito halófilo abundante nas regiões húmidas do litoral, como em estuários, salinas e regiões pantanosas. As larvas estão presentes em criadouros de água salobra onde a presença de vegetação abundante é comum. Os adultos estão presentes o ano todo, mas são muito abundantes na Primavera e nos meses de Verão. Apresenta várias gerações por ano, invernando no estágio de ovo. As fêmeas são extremamente agressivas, picando todos os vertebrados de sangue quente, incluindo humanos, principalmente no exterior. Pode entrar nas habitações próximas dos locais dos criadouros.

Ochlerotatus caspius é considerado um mosquito praga muito antropofílico e vetor do vírus da mixomatose e do arbovírus Tahyna. Pode ser naturalmente infectado com o vírus *West Nile*.

Esta espécie foi identificada todos os meses de colheita, de Maio a Outubro, com uma subida acentuada nas colheitas de adultos realizadas em Julho e Agosto.

A abundância relativa de *Oc. caspius* determinada no REVIVE 2016 foi de 31% em mosquitos adultos e 0,08% em imaturos.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 29% mosquitos *Oc. caspius* adultos e 0,2% imaturos.

A diferença na amostragem dos estádios realça a dificuldade em aceder aos criadouros de imaturos, geralmente sistemas aquáticos de grande dimensões, como lagoas e regiões pantanosas de estuários.

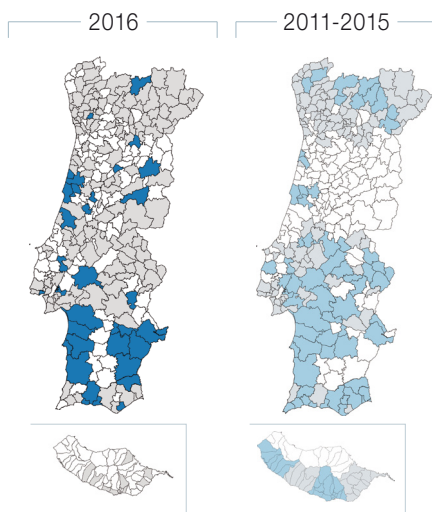


Figura 5: Distribuição geográfica de *Culex theileri*

Culex (Culex) theileri Theobald, 1903

Culex theileri é uma espécie amplamente distribuída na sub-região Mediterrânica da região Paleártica, sub-região sudeste africana da região Afro-tropical e norte da região Oriental.

Culex theileri é um mosquito comum em Portugal. As larvas podem ser encontradas numa grande variedade de criadouros, como arrozais, canais de irrigação e tanques de rega, onde a água é geralmente doce ou ligeiramente salobra.

Apresenta duas a três gerações por ano, sendo abundante nos meses de verão e outono e hibernando no estágio adulto. É um mosquito zoofílico, as fêmeas alimentam-se preferencialmente em vertebrados mamíferos e geralmente no exterior, podendo, no entanto, entrar em casas e estábulos e picar humanos.

Esta espécie é conhecida por estar envolvida na circulação de vários arbovírus na natureza, nomeadamente o vírus *West Nile*, embora não seja considerada como vetor primário. É uma espécie vetor da *Dirofilaria immitis* responsável pela dirofilariose canina.

Esta espécie foi identificada todos os meses de colheita, de maio a outubro, com uma subida acentuada nas colheitas de adultos realizadas em julho e agosto.

A abundância relativa de *Cx. theileri* determinada no REVIVE 2016 foi de 23% em mosquitos adultos e de 0,1% em imaturos.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 26% em mosquitos adultos e 0,9% imaturos.

A diferença na amostragem dos estágios realça a dificuldade em aceder aos criadouros de imaturos que, em Portugal continental, são geralmente sistemas aquáticos de maiores dimensões, como arrozais e lagoas.

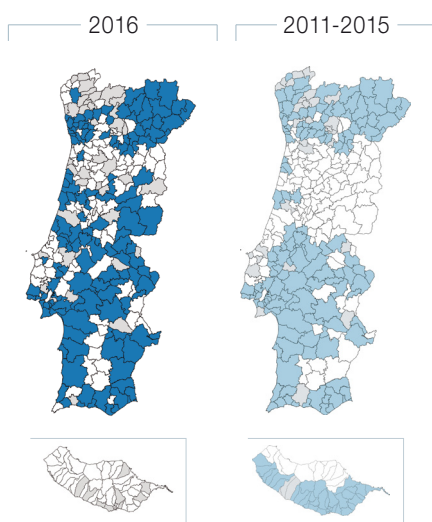


Figura 6: Distribuição geográfica de *Culiseta longiareolata*

Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata Macquart, 1838

Culiseta longiareolata apresenta uma distribuição ampla e descontínua que inclui a região Paleártica Central e Sul e a região Afro-tropical.

Culiseta longiareolata é um mosquito comum em Portugal. Os criadouros das larvas são muito variados - contentores abandonados, arrozais, canais de irrigação, tanques de rega - normalmente águas estagnadas e ricas em matéria orgânica. Os criadouros podem ser temporários ou permanentes, à sombra ou expostos à radiação solar, de água doce ou salobra e de água límpida ou poluída. Encontra-se muitas vezes associada à espécie *Culex pipiens*, sendo frequente encontrar criadouros com imaturos das duas espécies.

Os adultos, de maiores dimensões do que outras espécies comuns, estão presentes durante todo o ano, com máxima densidade na primavera e verão. Inverna na forma de larva nas regiões temperadas e de fêmea nas regiões frias. As fêmeas picam mais frequentemente aves, ocorrendo, raramente, refeições de sangue em humanos. Ocasionalmente podem entrar em casas e estábulos. É um mosquito zoofílico e não é conhecido por transmitir agentes patogénicos ao homem.

Esta espécie foi identificada todos os meses de colheita que decorreu de maio a outubro.

A abundância relativa de *Cs. longiareolata* determinada no REVIVE 2016 foi de 3% em mosquitos adultos e de 49% em imaturos.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 2% em mosquitos adultos e 45% em imaturos. A diferença na amostragem realça a facilidade em aceder aos criadouros de imaturos por esta ser uma espécie peri-doméstica, com criadouros artificiais e outras coleções de água na proximidade de habitações.

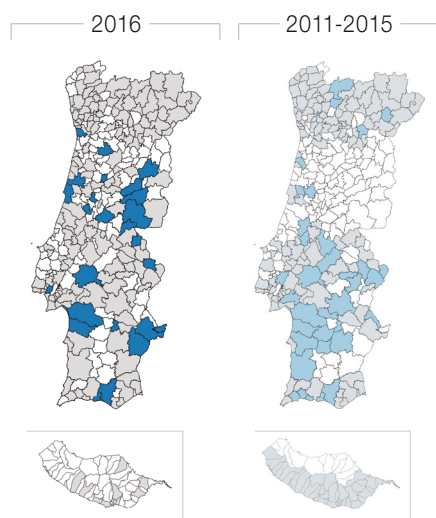


Figura 7: Distribuição geográfica de *Culex perexiguus*

A abundância relativa de *Cx. perexiguus* determinada nas colheitas REVIVE em 2016 em mosquitos adultos foi de 3% e, de 1% no período de 2011 a 2015.

Culex (Culex) perexiguus Theobald, 1903

Culex perexiguus é uma espécie amplamente distribuída na região Afro-tropical e presente na sub-região Mediterrânica.

Culex perexiguus é um mosquito frequentemente identificado na região centro e sul de Portugal. É mais abundante no fim do verão e outono. As larvas desenvolvem-se em criadouros domésticos (vasos de plantas) ou naturais (linhas de água) e a água é geralmente límpida.

A biologia dos mosquitos adultos é pouco conhecida. As fêmeas parecem preferir picar aves, no entanto podem picar humanos, principalmente no período nocturno.

Culex perexiguus é vetor de vários arbovírus, incluindo o vírus *West Nile*.

Esta espécie foi identificada todos os meses de colheita, de maio a outubro, com uma subida acentuada nas colheitas de adultos realizadas em setembro.

A abundância determinada para os mosquitos imaturos foi inferior a 0,1% em ambos os períodos.

Os estágios imaturos desta espécie já foram encontrados numa grande variedade de criadouros, incluindo contentores, mas geralmente longe de habitações e centros urbanos, o que pode justificar a abundância relativamente baixa de imaturos assinalada no REVIVE.

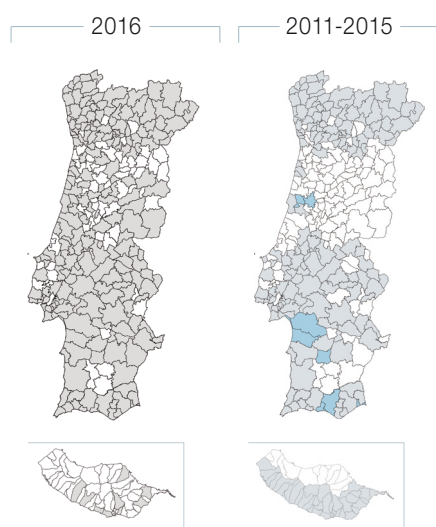


Figura 8: Distribuição geográfica de *Culex modestus*

Culex (Barraudius) modestus modestus Ficalbi, 1890

Culex modestus é uma espécie Paleártica distribuída por toda a Europa, excepto na Escandinávia e região Báltica. Em Portugal tem sido descrita no Algarve, mas encontra-se provavelmente distribuída noutras regiões.

É uma espécie autogénica com as larvas a aparecerem na primavera e a perdurarem até ao outono. Os criadouros mais comuns são semipermanentes, como campos de arroz e canais de irrigação e podem ser de água doce ou salina até 2g/L.

As fêmeas são agressivas para os humanos e podem picar a qualquer hora do dia, mas principalmente ao crepúsculo. Picam sempre no exterior e raramente se encontram em repouso no interior de habitações.

Culex modestus é uma espécie com importância médica, vetor de arbovírus como o vírus *West Nile* e o vírus *Tahyna*.

Em 2015 e 2016 esta espécie não foi identificada no âmbito do REVIVE.

Anteriormente tinha sido identificada em 2011 e 2012 no Alentejo e Centro e, em 2013 e 2014, no Algarve.

A abundância relativa de *Cx. modestus* determinada no âmbito do REVIVE de 2011 a 2015 foi de 0,3% em mosquitos adultos. Em imaturos foi apenas identificado um espécime.

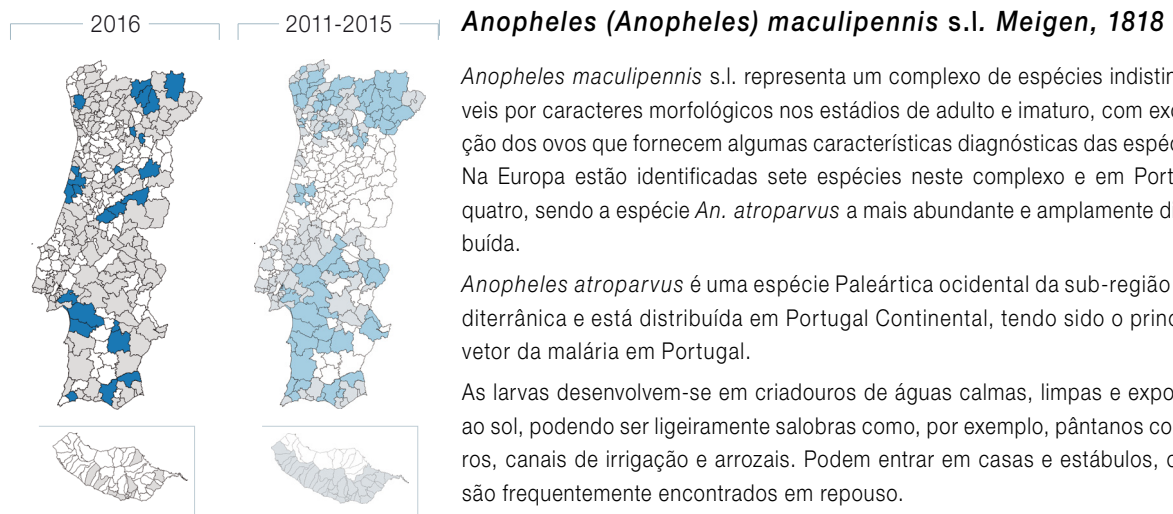


Figura 9: Distribuição geográfica de *Anopheles maculipennis s.l.*

Além de vetor da malária é também um importante vetor de arbovírus, como o vírus *West Nile*, já isolado em Portugal a partir desta espécie.

Apesar de *An. atroparvus* ser a espécie deste complexo mais abundante em Portugal, no REVIVE é adotado o nome do complexo de espécies, nomeadamente *An. maculipennis s.l.* uma vez que a identificação das espécies deste complexo é morfológica. A abundância relativa de *An. maculipennis s.l.* determinada no REVIVE 2016 e no total 2011-2015 foi de 1% em mosquitos adultos e de 0,4% em imaturos.

Os valores de abundância relativamente baixos no REVIVE podem dever-se, por um lado, à eficiência dos métodos de colheita de adultos e, por outro lado, à associação desta espécie a estábulos de animais/produção pecuária sendo relativamente baixo o número de colheitas REVIVE neste tipo de habitats.

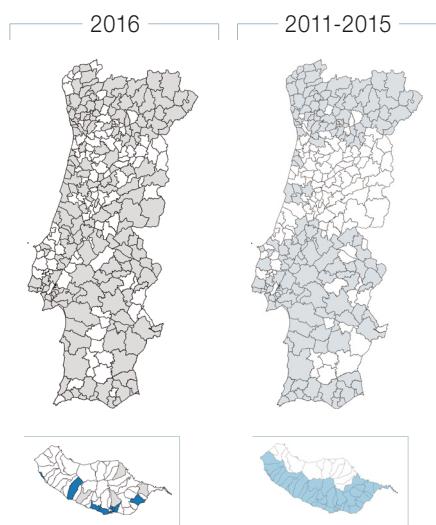


Figura 10: Distribuição geográfica de *Aedes aegypti*

Aedes (Stegomyia) aegypti Linnaeus, 1762

Aedes aegypti é uma espécie que se encontra amplamente distribuída pelo mundo, estando quase sempre presente nas regiões onde a temperatura média anual está acima dos 20°C.

Aedes aegypti é uma espécie exótica/invasora, multivoltina, ocorrendo as gerações uma após a outra sem intervalo, sendo constante a presença de mosquitos adultos. Não faz diapausa de inverno em nenhum estágio do ciclo de vida, não estando assim adaptada às regiões frias. O controlo sistemático de mosquitos na Europa, no século XX, levou à sua erradicação na maioria dos países. No entanto, é esporadicamente encontrada nos países do Mediterrâneo, principalmente em portos marítimos comerciais, onde é introduzida no transporte de mercadorias.

Os ovos de *Ae. aegypti* são colocados individualmente na superfície da água. A eclosão demora cinco dias, mas pode ser adiada por vários meses ou anos até as condições ideais à eclosão serem satisfeitas. O ovo é resistente à dessecação, ao calor (+46°C) e ao frio (-17°C).

O desenvolvimento das larvas demora cerca de dez dias. Os criadouros são geralmente pequenos reservatórios de água, limpos ou poluídos, encontrados nos aglomerados urbanos (vasos de flores, latas abandonadas, sarjetas, etc.).

O adulto é um mosquito pequeno e caracteristicamente listrado a branco e preto. Vive aproximadamente um mês e pode ser facilmente criado em laboratório (espécie estenogâmica). As fêmeas são extremamente agressivas e picam dentro e fora das habitações a qualquer hora do dia, mas são mais activas ao entardecer.

Em Portugal *Ae. aegypti* esteve presente até à década de 50, a partir da qual não foi mais detectada no continente. Pensa-se que tenha sido erradicada na campanha de luta contra a malária que decorreu na primeira metade do século XX, quando foi utilizado DDT no combate ao vetor da malária, *Anopheles atroparvus*.

Em 2005 *Ae. aegypti* foi detectado na freguesia de Santa Luzia, Funchal, Madeira. Apesar das medidas de combate, com recurso a desinsetações, adoptadas pelas autoridades regionais desde outubro de 2005, o mosquito estabeleceu-se na ilha e representa hoje um problema de saúde pública no concelho do Funchal e Câmara de Lobos.

Aedes aegypti é uma espécie de grande importância médica. É o principal vetor do vírus Dengue, febre-amarela, Zika e Chikungunya. Pode também transmitir o vírus *West Nile*, a mixomatose, o plasmódio aviário e a filaríase canina.

A abundância relativa de *Ae. aegypti* determinada no REVIVE 2016 nas colheitas recebidas da Madeira foi de 91% em mosquitos adultos e de 73% em imaturos.

A abundância relativa desta espécie nas amostragens recebidas no REVIVE 2011-2015 da Madeira foi de 67% de adultos e 51% de imaturos.

Esta espécie ainda não foi identificada noutras regiões do território português à exceção da Madeira.

3.3. Pesquisa de agentes patogénicos

No âmbito do REVIVE é efectuada a pesquisa de agentes patogénicos transmitidos por mosquitos com maior impacto em saúde pública, presentes ou em risco de serem introduzidos em Portugal. Neste sentido são seleccionadas por região e período de colheita as espécies de mosquitos com capacidade vetorial, e é pesquisada a presença de ácidos nucleicos de flavivírus (que incluem os vírus *West Nile*, Dengue, Febre Amarela, Zika, Encefalite Japonesa e outros) assim como do plasmódio da malária em mosquitos do complexo *Anopheles maculipennis* capturados no âmbito da vigilância em aeroportos.

O género *Flavivirus* inclui um grupo diverso de vírus que parecem ter evoluído de forma concertada com os seus vetores, podendo ser divididos em quatro grupos: I - transmitidos por carraças; II - transmitidos por mosquitos, III - sem vetor conhecido e IV - específicos de insectos.

A maioria dos espécimes de mosquitos adultos de *Aedes aegypti* provenientes da Madeira em 2016 foram testados para a presença de flavivírus (dengue e zika) e alfavírus (chikungunya) devido ao surto de dengue que ocorreu em 2012/2013 naquela ilha. Uma parte dos mosquitos recebidos no estádio de ovo da Madeira são colocados a eclodir e posteriormente analisados na forma de adulto.

Em 2016 no total foram pesquisados para a presença de flavivírus 3757 mosquitos em 236 *pools* de 10 espécies.

Em 2016 não foram identificados *An. maculipennis* nos aeroportos ou outros pontos de entrada.

Em amostras de *Ochlerotatus caspius* colhidas em Olhão, Algarve, e de *Aedes aegypti*, colhidos na forma de ovo no final de 2015 no Funchal, Madeira foram identificados flavivírus específicos de insecto (ISFs). Os ISFs representam um subgrupo de flavivírus com uma elevada diversidade genética. Até ao momento apenas foram isolados ou detectados em insectos, apresentando incapacidade ou dificuldade de se replicar em células de vertebrados. O primeiro ISF reconhecido foi o *Cell Fusing Agent Virus* (CFAV) que foi isolado em 1975 de uma linha celular de *Ae. aegypti*¹³. Com a percepção da importância dos arbovírus como zoonoses emergentes e o desenvolvimento de programas de vigilância entomológica, o isolamento e deteção de ISFs tem sido reportado em todos os continentes.

No âmbito do REVIVE já foram detetados três tipos diferentes de ISFs, associados a diferentes géneros de mosquitos *Aedes* (*Ae. aegypti* na Madeira, 2010, 2013, 2014 e 2016), *Culex* (*Cx. theileri* em Lisboa e Vale do Tejo, 2008, e no Alentejo em 2009 e 2010) e *Ochlerotatus* (*Ochlerotatus caspius* no Algarve, 2008 e 2016).

No âmbito do REVIVE em 2016, assim como no período 2011-2015, não foram identificados flavivírus patogénicos para o Homem.

13. Stollar V, Thomas VL. (1975). An agent in the *Aedes aegypti* cell line (Peleg) which causes fusion of *Aedes albopictus* cells. *Virology* 64(2), 367-377.

4. Conclusões

Em 2016 foram realizadas, entre maio e outubro, 1554 colheitas de culicídeos adultos e 3744 de imaturos em 190 concelhos de Portugal continental e Madeira.

A vigilância em Pontos de Entrada foi realizada de janeiro a dezembro nos três aeroportos internacionais, aeroporto de Beja, aeródromo de Tires, em onze portos e em quatro zonas de fronteira em 187 colheitas de culicídeos adultos e em *ovitraps* vigiadas 1598 vezes.

Em 39894 mosquitos coletados, 14015 adultos e 25879 imaturos, foram identificadas 20 espécies de mosquitos, todas reconhecidas na fauna de culicídeos de Portugal à exceção de *Aedes aegypti* na ilha da Madeira.

A composição de espécies de mosquitos, resultante da vigilância realizada em Portugal continental no âmbito do REVIVE, é característica da fauna natural de mosquitos de Portugal, não se verificando a presença de nenhuma espécie exótica ou com características invasoras que represente uma situação de risco acrescido para a saúde pública. A variação na abundância das espécies ao longo do ano está diretamente relacionada com a variação das condições climáticas e com as diferentes estratégias utilizadas pelo REVIVE na colheita de mosquitos.

Na vigilância realizada no âmbito do Regulamento Sanitário Internacional foram identificadas unicamente espécies de culicídeos autóctones.

Na pesquisa de flavivírus não foram identificados vírus patogénicos.

Desde o início do programa REVIVE foram colhidos e identificados 308930 espécimes de mosquitos em 190 concelhos de Portugal continental e Madeira.

A actividade viral detectada nestes anos tem-se limitado a flavivírus específicos de inseto não patogénicos para o Homem.

O REVIVE tem contribuído, desde 2008, para o conhecimento sobre as espécies de vetores presentes nas regiões, a sua distribuição e abundância, assim como para o esclarecimento do seu papel como vetor de agentes de doença e para vigiar potenciais introduções de espécies invasoras com importância em saúde pública.

A prioridade do REVIVE é a vigilância e a prevenção para conhecimento da realidade local. Com os resultados do projeto REVIVE pretende-se, informar e alertar as autoridades de saúde pública para contribuir com medidas para o controlo das populações de vetores culicídeos de forma a mitigar o seu impacto em saúde pública.



REVIVE 2016 – Ixodídeos

DGS – Divisão de Saúde Ambiental

ARS – Administrações Regional de Saúde do Alentejo, Algarve, Lisboa e Vale do Tejo e Norte

Instituto da Administração da Saúde e Assuntos Sociais

Direção Regional da Saúde dos Açores

INSA/DDI – Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac

Autores: Maria Margarida Santos-Silva

Isabel Lopes de Carvalho

Rita de Sousa

Ana Sofia Santos

Hugo Osório

Maria João Alves

Maria Sofia Núncio

1. Carraças e agentes transmitidos

Os ixodídeos, vulgarmente designados por carraças, são artrópodes vetores, que parasitam um vasto número de animais. A sua perpetuação na natureza depende da alimentação (refeições sanguíneas) que realizam para manter o seu ciclo de vida enquanto parasitas. As carraças podem parasitar o Homem acidentalmente e, se estiverem infectadas, transmitir os agentes infecciosos enquanto realizam a sua alimentação.

Actualmente conhecem-se 889 espécies de carraças que se subdividem em duas famílias principais: Ixodidae e Argasidae. A família mais importante, no que diz respeito à transmissão de agentes infecciosos, é a família Ixodidae. Em Portugal conhecem-se 22 espécies de carraças desta família e das doenças mais importantes

causadas por agentes transmitidos por estas salientam-se a febre escaro nodular e a borreliose de Lyme.

Ciclo de vida das carraças

Os ixodídeos são parasitas hematófagos estritos de um grande número de vertebrados, como mamíferos, aves, répteis e anfíbios. Todas as espécies de carraças necessitam de ingerir sempre uma quantidade mínima de sangue para poderem realizar uma muda e passar à fase evolutiva seguinte. O seu ciclo termina com o acasalamento e a postura dos ovos que vão garantir a geração seguinte. Os ixodídeos apresentam quatro fases ao longo do seu ciclo de vida: ovo, larva, ninfa e adulto (Figura 11).

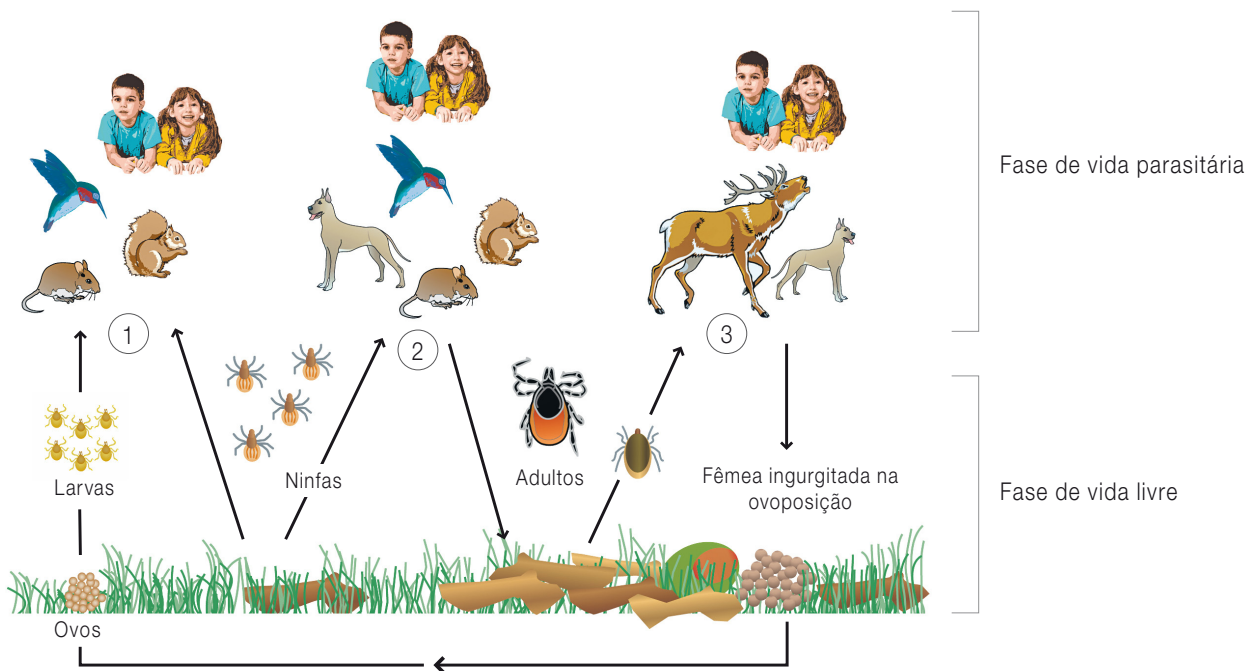


Figura 11: Ciclo de vida dos ixodídeos

Adaptado de: Housatonic Valley Council of Elected Officials (HVCEO)

A maior parte das espécies demora vários dias a completar a refeição sanguínea, em média 2-5 dias nas larvas, 3-5 dias nas ninfas e 7-14 dias no caso dos adultos. Os machos podem realizar uma pequena ingestão de sangue para terminar a espermatogénese, mas não necessitam de a efectuar, pois completam a espermatogénese com a refeição da fase ninfal. As fêmeas necessitam de ingerir grandes quantidades de sangue para garantir a postura, que pode oscilar entre algumas centenas a milhares de ovos, consoante a espécie. O número de ovos pode atingir os 20000 no caso do género *Amblyomma*, no entanto a maioria das espécies presentes em Portugal apresentam posturas na ordem dos 3000 - 5000 ovos como é o caso de *Ixodes ricinus* e *Rhipicephalus sanguineus*, respetivamente.

O ciclo de vida de todas as espécies de ixodídeos é muito semelhante. De cada ovo eclode uma larva hexápode que após efectuar uma refeição de sangue passará à fase evolutiva seguinte. Apresentam um único estágio ninfal em que os exemplares já têm quatro pares de patas, mas ainda não é visível a abertura genital. Segue-se a fase adulta em que já existe dimorfismo sexual. Após a cópula que, com exceção de quase todas as espécies do género *Ixodes* ocorre sobre o hospedeiro, as fêmeas alimentam-se até à total repleção (aumentando o seu volume até 100 vezes) soltam-se do hospedeiro e iniciam a postura que pode ser efectuada directamente no solo, em fendas e no interior das tocas ou dos ninhos dos animais que parasitam. Quando a postura termina a fêmea morre.

Como artrópodes hematófagos estritos, os ixodídeos são vetores de agentes, tais como vírus, bactérias e protozoários com implicação em saúde pública e sanidade animal.

Entre as características que tornam os ixodídeos bons vetores de agentes patogénicos destacam-se:

- Todos os estádios (larva, ninfa e adulto) necessitam de efectuar uma refeição de sangue, ingerindo sempre uma quantidade considerável (comparativamente com as suas dimensões) de cada hospedeiro;
- A ingurgitação demora vários dias a completar-se, permitindo um contacto prolongado com o hospedeiro;
- Em algumas associações ixodídeo/agente infeccioso é possível que ocorra a invasão do sistema reprodutor, permitindo assim a transmissão da infecção à progenitura (transmissão transovarial). A percentagem de fêmeas transmitindo um agente transovaricamente e a percentagem da geração seguinte que eclode já infectada depende do grau de infecção dos tecidos do ovário e das células germinativas e pode ser muito importante para a manutenção de microrganismos na natureza;
- A metamorfose não envolve a regeneração total de cada órgão, pelo que os microrganismos podem sobreviver em alguns órgãos após a muda (transmissão transestadial);
- Pelo menos um dos estádios dos ixodídeos possui um tempo de vida longo, pelo que os microrganismos podem sobreviver durante largos períodos, mesmo em condições climáticas adversas;
- O sistema sensorial é extremamente bem desenvolvido, o que permite aos ixodídeos detectar o gás carbónico no ambiente. Assim, eles concentram-se perto dos locais habituais de passagem dos animais aumentando as suas hipóteses de encontrar um hospedeiro adequado.

A maioria das espécies com interesse em medicina humana e animal pertence à família Ixodidae. As espécies pertencentes a este grupo apresentam um escudo quitinoso rígido, na parte anterior da superfície dorsal das larvas, ninfas e fêmeas. Nos machos este escudo ocupa toda a superfície dorsal.

Na Europa ocidental, os géneros mais importantes são *Dermacentor* (Koch, 1844), *Haemaphysalis* (Koch, 1844), *Hyalomma* (Koch, 1844), *Ixodes* (Latreille, 1795) e *Rhipicephalus* (Koch, 1844), tendo sido referenciados mais de 25 agentes etiológicos transmitidos por estes ixodídeos. A transmissão de numerosos agentes patogénicos por uns ixodídeos e não por outros, faz com que a sua determinação específica constitua uma condição indispensável para o conhecimento da etiologia de diversas doenças do Homem e dos animais, como base para a sua detecção e profilaxia.

A lista actualizada de espécies de carraças presentes em Portugal engloba 22 espécies: *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776), *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794), *Haemaphysalis hispanica* (Gil Collado, 1938), *Haemaphysalis inermis* (Birula, 1895), *Haemaphysalis punctata* (Canestrini & Fanzago, 1878), *Hyalomma lusitanicum* (Koch, 1844), *Hyalomma marginatum* (Koch, 1844), *Ixodes acuminatus* (Neumann, 1901), *Ixodes arboricola* (Schulze & Schlottke, 1930), *Ixodes bivari* (Dias, 1990), *Ixodes canisuga* (Johnston, 1849), *Ixodes frontalis* (Panzer, 1798), *Ixodes hexagonus* (Leach, 1815), *Ixodes inopinatus* (Estrada-Peña, Nava & Petney, 2014), *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758), *Ixodes simplex*

(Neumann, 1906), *Ixodes ventalloi* (Gil Collado, 1936), *Ixodes vespertilionis* (Koch, 1844), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (Say, 1821), *Rhipicephalus bursa* (Canestrini & Fanzago, 1878), *Rhipicephalus pusillus* (Gil Collado, 1938) e *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (Latreille, 1806).

As doenças associadas a carraças constituem um problema em saúde pública e para a sanidade animal, não só pela gravidade de algumas patologias, como pelo facto de muitas vezes surgirem com carácter epidémico, podendo ocasionar surtos de grandes proporções, caso não seja implementada uma intervenção rápida (Quadro 2).

O risco de contrair estas doenças tem vindo a aumentar, especialmente no Sul da Europa. Em Portugal, o número de doenças endémicas é considerado elevado, com cinco a oito doenças endémicas identificadas¹⁴, este mesmo nível é partilhado pela maioria dos países mediterrânicos, como Espanha, França, Itália, Grécia e Turquia, decrescendo para Norte.

Em Portugal, pela sua abundância e pelos agentes etiológicos que podem transmitir as duas espécies de carraças mais importantes em termos de saúde pública são *Rhipicephalus sanguineus*, vetor da febre escaro nodular, e *Ixodes ricinus*, vetor da borreliose de Lyme.

14. Santos-Silva MM, Santos AS, Formosinho P, Bacellar F. 2006. Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. Acta Méd Port, 19, 39-48.

Quadro 2 – Agentes etiológicos transmitidos por ixodídeos presentes ou em risco de emergir em Portugal

Agente patogénico	Doença	Espécie de ixodídeo
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Anaplasmose humana	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>I. ventalloi</i>
<i>Babesia divergens</i>	Babesiose	<i>Ixodes</i> spp.
<i>B. afzelii</i>	Borreliose de Lyme	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i> s.s		
<i>B. bissettii</i>		
<i>B. garinii</i>		
<i>B. lusitaniae</i>		
<i>B. spielmanii</i>		
<i>B. turdi</i>		
<i>B. valaisiana</i>	—	
<i>Coxiella burnetii</i>	Febre Q	Várias espécies
<i>Francisella tularensis</i>	Tularemia	Várias entre as quais <i>Ixodes ricinus</i> , <i>Dermacentor reticulatus</i>
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	Sem denominação	<i>Hyalomma marginatum</i>
<i>R. conorii</i>	Febre escaro nodular	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>R. helvetica</i>	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>R. massiliae</i>	Sem denominação	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>R. monacensis</i>	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>R. sibirica mongolitimonae</i>	LAR*	<i>Hyalomma</i> sp., <i>Rhipicephalus pusillus</i>
<i>R. slovacica</i>	TIBOLA [†]	<i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i>
Vírus da Febre Hemorrágica Crimeia-Congo	Febre hemorrágica	<i>Hyalomma marginatum</i> , <i>Haemaphysalis punctata</i> , <i>Ixodes ricinus</i> , <i>Dermacentor</i> spp., <i>Rhipicephalus</i> spp.
Vírus Eyach	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes ventalloi</i>
Vírus TBE	Encefalite	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Haemaphysalis punctata</i>

* LAR - *Lymphangitis-associated rickettsiosis*; [†]TIBOLA - *Tick-borne lymphadenopathy*

Febre escaro nodular e outras rickettsioses

Rickettsia conorii o agente etiológico da febre escaro nodular (FEN) é transmitida ao homem pelo *Rhipicephalus sanguineus*, vulgarmente designada por carraça do cão.

Qualquer fase evolutiva (larva, ninfa, adulto) de *R. sanguineus* pode parasitar o homem, no entanto o período de incubação da doença e o ciclo biológico do vetor, indicam que as ninfas são o está-

dio responsável pelo maior número de casos de FEN nos meses de agosto e setembro. Apesar de ser uma doença com características estacionais, as condições climáticas em algumas regiões do nosso país permitem que o vetor se mantenha activo todo o ano e possa transmitir o agente mesmo fora desta época.

A FEN é uma doença endémica em Portugal e caracteriza-se clinicamente como uma doença exantemática, com um processo de vasculite

generalizado. O diagnóstico da FEN é habitualmente clínico, contudo em alguns casos a confirmação laboratorial é essencial no diagnóstico diferencial de outras infeções. O diagnóstico clínico de FEN com base na definição de caso baseia-se na “observação de febre de início súbito, artralgias e mialgias, com aparecimento de uma erupção maculopapulosa não pruriginosa, afectando geralmente as regiões palmar e plantar dos membros entre o 3.º e 5.º dia e escara de inoculação acompanhada de linfadenopatia regional”.

A existência de um contexto epidemiológico compatível é importante, devendo ter-se em consideração a época do ano, o contacto com animais, as actividades ao ar livre, a actividade profissional e as viagens, entre outros.

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. O número de óbitos ocorridos por esta patologia é também elevado em Portugal comparativamente a outros países onde a doença é endémica. Bragança é o distrito com maior número de casos por habitante (62,5/10⁵ hab) seguido pelo distrito de Beja^{15,16}. A FEN é uma doença com uma distribuição homogénea relativamente ao género e o grupo etário mais afectado é o dos 1-4 anos de idade. Apesar de ser uma doença de declaração obrigatória, continua-se a

subestimar a sua verdadeira incidência devido à elevada subnotificação.

Paralelamente à febre escaro nodular de salientar ainda a existência de outras duas rickettsioses como a LAR causada por *R. sibirica mongolitimonae* e a TIBOLA causada *R. slovaca*, ambas com expressão em doentes portugueses. De salientar que as outras espécies de *Rickettsia* referidas no [quadro 2](#) foram detetadas apenas em ixodídeos no nosso País. A nível europeu existem poucos casos humanos descritos¹⁷.

Borreliose de Lyme

A borreliose de Lyme é uma doença multissistémica, que pode afectar vários tecidos ou órgãos. É uma doença evolutiva que na sua fase inicial se caracteriza pelo aparecimento de uma lesão na pele, designada como eritema migratório. Nas fases seguintes outros órgãos podem ser afectados e causar lesões ao nível articular (artrite de Lyme), neurológico (neuroborreliose) ou dermatológico (acrodermatite crónica atroficante).

Esta doença tem uma distribuição mundial e é causada por espiroquetas do complexo *B. burgdorferi* s.l. que são transmitidas por carraças antropofílicas do género *Ixodes*. Actualmente já se encontram descritas 20 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 no CEVDI

15 Sousa R, Nobrega SD, Bacellar F & Torgal J. Sobre a realidade epidemiológica da febre escaro nodular em Portugal. Acta Méd. Portuguesa, 2003. 16, 430-438.

16 de Sousa R, Nóbrega SD, Bacellar F, Torgal J. Mediterranean spotted fever in Portugal: risk factors for fatal outcome in 105 hospitalized patients. Ann N Y Acad Sci. 2003 Jun;990:285-94.

17 de Sousa R, Pereira BI, Nazareth C, Cabral S, Ventura C, Crespo P, Marques N, da Cunha S. Rickettsia slovaca infection in humans, Portugal. Emerg Infect Dis. 2013 Oct;19(10):1627-9

a partir de *I. ricinus* colhidos em Águas de Moura¹⁸. Estudos recentes demonstraram que esta espécie é patogénica para o Homem^{19,20}. No nosso País, apesar de já terem sido detectadas borrélias em outras espécies de ixodídeos, *I. ricinus* é a única espécie de carraça com competência vetorial comprovada para transmitir *B. burgdorferi* s.l.

Antes de o ixodídeo iniciar a refeição de sangue, as borrélias encontram-se restritas à área do intestino, nas microvilosidades e no epitélio. Durante a alimentação as espiroquetas passam para os outros tecidos e glândulas salivares, sendo a transmissão ao Homem efectuada pela inoculação das bactérias juntamente com a saliva, durante a refeição sanguínea. A transmissão pode ocorrer 24 h após o início da refeição, mas a maior parte das borrélias só passa para o sangue do hospedeiro ao fim de 48 h. Qualquer dos estádios (larva, ninfa e adulto) pode transmitir o agente etiológico ao homem. O estágio ninfal parece ser o mais perigoso uma vez que como possui menores dimensões torna-se mais difícil de ser detectado. Estas bactérias já foram isoladas a partir de várias espécies de mamíferos domésticos e silvestres, de espécies de aves e de reptéis^{21, 22, 23}. Todos eles demonstram ser reservatórios competentes, dependendo da genospecie de borrelia em questão.

2. Metodologias REVIVE

Num programa de vigilância de carraças é necessário assegurar a realização de colheitas ao longo do ano na fase de vida livre (sobre a vegetação) e na sua fase parasitária (sobre o hospedeiro).

A selecção de locais e calendário de colheitas são elaborados pelas ARSs, que informam o CEVDI/INSA antes das saídas de campo, para programação da chegada de material.

Colheita de carraças em fase de vida livre (vegetação)

Este processo abrange habitats onde há a possibilidade de encontrar carraças. A colheita das carraças na vegetação é realizada pelo método de arrastamento da bandeira que consiste na passagem de um pano turco, de cor branca sobre a vegetação a uma velocidade constante em linhas de aproximadamente 100 m. As carraças são recolhidas com o auxílio de pinças e colocadas em tubos plásticos com tampa de rosca, juntamente com algumas ervas, para garantir a sua sobrevivência até chegarem ao laboratório.

-
- 18 Nuncio MS; Péter O; Alves MJ, Bacellar F e Filipe AR. Isolamento e caracterização de borrélias de *Ixodes ricinus* L. em Portugal. Rev. Port. Doenç. Infec. 1992; 16(3): 175-179.
 - 19 Collares-Pereira M, Couceiro S, Franca I, Kurtenbach K, Schäfer SM, Vitorino L, Gonçalves L, Baptista S, Vieira ML, Cunha C. First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. J Clin Microbiol. 2004 Mar;42(3):1316-8.
 - 20 de Carvalho IL, Fonseca JE, Marques JG, Ullmann A, Hojgaard A, Zeidner N, Nuncio MS. Vasculitis-like syndrome associated with *Borrelia lusitaniae* infection. Clin Rheumatol. 2008 Dec;27(12):1587-91.
 - 21 De Carvalho IL, Zeidner N, Ullmann A, Hojgaard A, Amaro F, Zé-Zé L, Alves MJ, de Sousa R, Piesman J, Nuncio MS. Molecular characterization of a new isolate of *Borrelia lusitaniae* from *Apodemus sylvaticus* in Portugal. VBZD 2010; 10(05):531-534.
 - 22 Norte AC, Ramos JA, Gern L, Nuncio MS, Lopes de Carvalho I. Birds as reservoirs for *Borrelia burgdorferi* s.l. in Western Europe: circulation of *B. turdi* and other genospecies in bird-tick cycles in Portugal. Environ Microbiol 2013; 15(2): 386-387.
 - 23 Norte AC, Alves da Silva A, Alves J, da Silva LP, Nuncio MS, Escudero R, Anda P, Ramos JA, Lopes de Carvalho I. The importance of lizards and small mammals as reservoirs for *Borrelia lusitaniae* in Portugal. Environ Microbiol Rep. 2015 Apr; 7(2):188-93. doi: 10.1111/1758-2229.12218.

Colheita de carraças em fase de vida parasitária (sobre o hospedeiro)

A colheita e remoção de carraças é realizada em diferentes hospedeiros e com o auxílio de pinças ou manualmente. Para maximizar este tipo de colheita, foi sugerido às ARSs que contactassem os veterinários das respectivas zonas de forma a obterem a sua colaboração.

Transporte

As amostras chegam ao CEVDI/INSA por correio, ou em mão, acondicionadas em malas refrigeradas e até três dias após colheita. O CEVDI recomenda que o acondicionamento dos artrópodes para envio ao laboratório seja realizado em “embalagem tripla”, tal como é recomendado pela Organização Mundial de Saúde para o transporte de substâncias infecciosas.

Identificação dos espécimes colhidos

Os exemplares são identificados com base em chaves taxonómicas, separados de acordo com a espécie, género, data e local de colheita e guardados a -80°C para posterior utilização no estudo de agentes infecciosos.

Detecção dos agentes infecciosos

Cada carraça é individualmente lavada e extraído o DNA pelo método de hidrólise com solução de amónia. Posteriormente são feitos *pools* de DNA com uma a cinco carraças da mesma colheita, espécie e estado evolutivo. Este método é utilizado para as carraças colhidas da vegetação ou de hospedeiros-animais. As carraças removidas de humanos, pela sua importância, são estudadas individualmente recorrendo à extração de DNA com um kit comercial. A pesquisa de DNA

de *Rickettsia* e *Borrelia* é realizada pela técnica de PCR convencional e *nested* e as amostras positivas são posteriormente sequenciadas para a confirmação e identificação da espécie bacteriana. Os resultados da identificação e análise de carraças removidas de humanos são enviados para a autoridade local responsável pelo envio da amostra.

Comunicação

Em caso de identificação de espécies de ixodídeos exóticos e/ou invasores e de amostras positivas para agentes patogénicos o CEVDI informa imediatamente os responsáveis de cada região de saúde e a DGS.

Mensalmente ou bimestralmente (nos primeiros e nos últimos meses do ano), durante a época de colheitas que decorre de janeiro a dezembro, são enviados, por correio electrónico, aos participantes do REVIVE quadros/resumo dos resultados das colheitas, identificações e pesquisa de borrelias e rickettias.

No primeiro trimestre de cada ano o CEVDI/INSA prepara um Relatório Técnico, que é enviado a cada uma das regiões, com resultados das colheitas e trabalho laboratorial de identificação de ixodídeos e pesquisa de agentes infecciosos do ano anterior.

Em abril de cada ano é organizado o Workshop REVIVE, com a participação de técnicos e responsáveis das ARSs, INSA e DGS. No Workshop é apresentada uma publicação REVIVE nacional que fica disponível em www.insa.pt.

Periodicamente os resultados do REVIVE têm sido apresentados em reuniões ou revistas científicas, com a co-autoria da Equipa REVIVE.

Formação

A formação é da responsabilidade dos investigadores do CEVDI/INSA que preparam um “Manual REVIVE”, revisto periodicamente, para distribuição aos formandos. As ações de formação, com duração de um dia, são destinadas aos colaboradores REVIVE. Na formação pretende-se salientar a importância da vigilância de vetores e agentes transmitidos, demonstrar o funcionamento do projeto REVIVE, assim como treinar os formandos para a remoção e colheita de ixodídeos nas suas regiões.

As ações de formação REVIVE – Carraças ocorreram anualmente de 2011 a 2015 (1.º protocolo) e bienalmente desde 2016 (2.º protocolo) tendo contado no total com a participação de 156 formandos.

As próximas ações de formação vão decorrer em maio de 2018 (informação disponível em www.insa.pt).

3. Resultados REVIVE 2016

3.1. Esforço de Captura

As colheitas de carraças realizadas em 161 concelhos de cinco Administrações Regionais de Saúde, nomeadamente Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte, decorreram entre janeiro e dezembro de 2016 ([Figura 12](#)).

Os locais, assim como a periodicidade da amostragem, foram seleccionados pelas ARSs, tendo como critério principal a proximidade à população humana, o historial da presença de carraças, a ocorrência de doenças associadas, o impacto nas actividades humanas e a acessibilidade do local, assim como a experiência adquirida em anos anteriores no âmbito do REVIVE.

O esforço de captura (número de colheitas) de carraças por concelho variou entre uma e 89 colheitas ([Figura 12](#)).

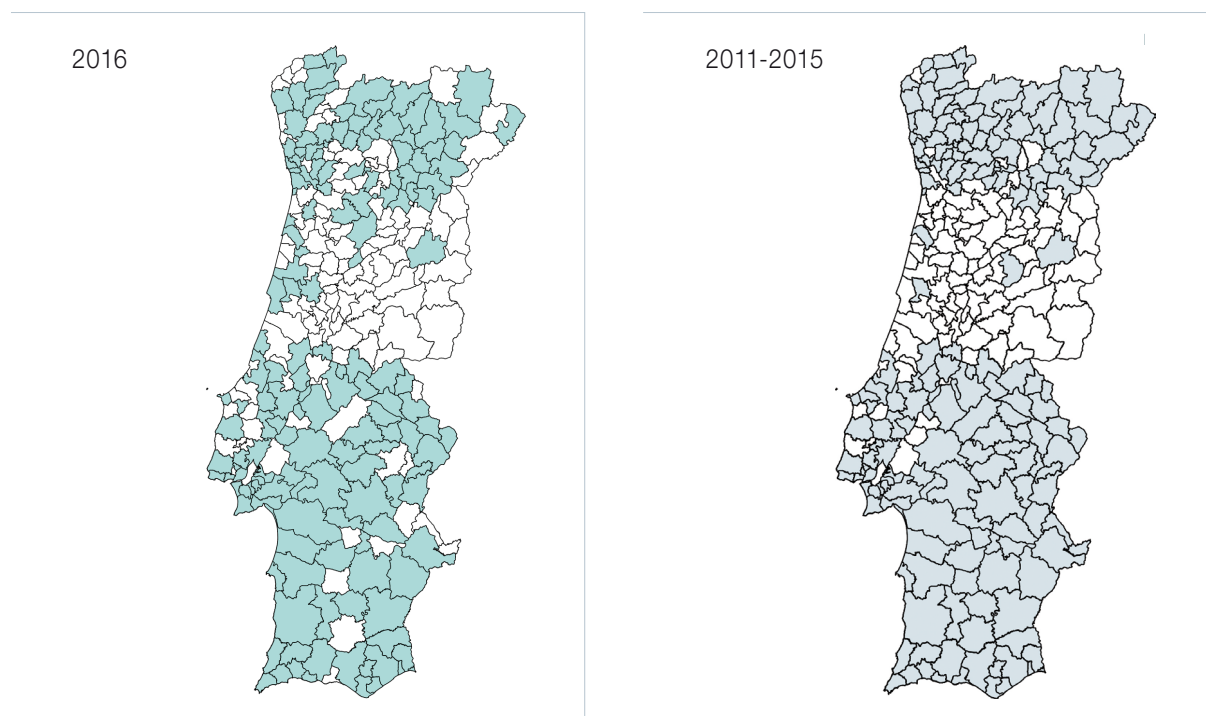


Figura 12: Concelhos onde foram realizadas colheitas em 2016 e em 2011-2015

No REVIVE 2016 o número total de colheitas (n= 1438) aumentou 5% comparativamente com o ano anterior (n= 1373).

Das 1438 colheitas realizadas, 479 foram feitas no Homem, 522 no cão, 92 em outros animais e 345 na fase de vida livre (Figura 13).

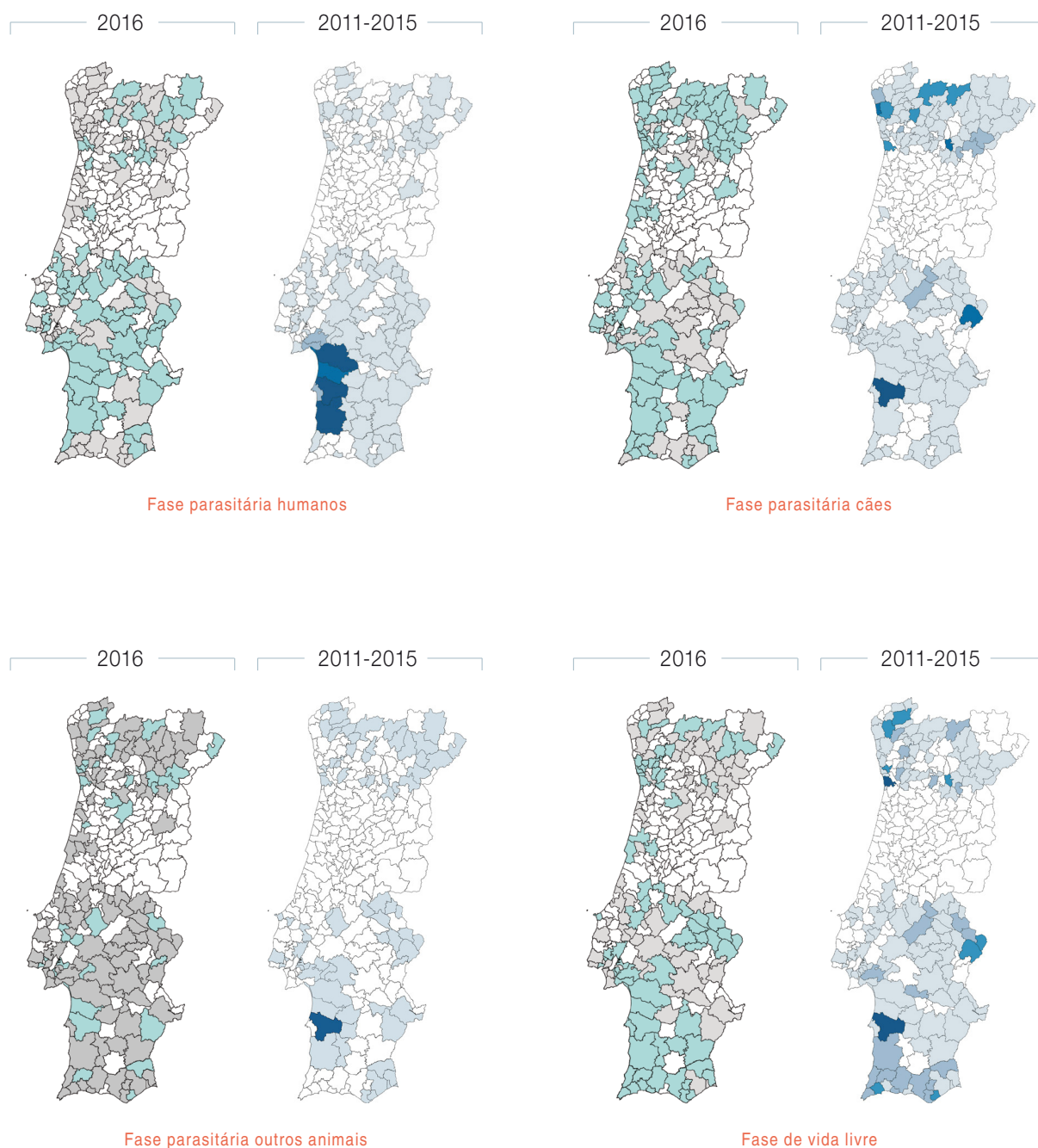


Figura 13: Colheitas de ixodídeos na fase de vida parasitária em hospedeiros humanos, cães, outros animais e na fase de vida livre

Como colheita efectuada na vegetação consideraram-se todas as efectuadas em fase de vida livre da carraça incluindo, para além da vegetação, vestuário, residências, paredes, habitações, solo, etc.

As colheitas realizadas no Homem e no cão aumentaram 38% e 4%, respectivamente. Em outros animais mantiveram-se constantes e na fase de vida livre diminuíram 20%. Por área rastreada, houve também um aumento no número de conchelhos envolvidos nas colheitas (n= 154 em 2015 para n= 161 em 2016).

3.1.1. Carraças em fase parasitária

3.1.1.1. Homem

No REVIVE 2016 foram identificadas a parasitar o Homem 10 espécies ixodológicas, nomeadamente *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes ricinus*, *I. ventalloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*, contrastando com as oito identificadas no REVIVE 2015.

No total foram removidos 471 ixodídeos de humanos em 2016, mais 20% que em 2015.

Todas as espécies já tinham sido identificadas a parasitar o Homem em Portugal continental. Apesar de não terem sido identificadas espécies exóticas em Homem, destaca-se a detecção de dois ixodídeos importados de países da Europa Central, pertencentes à espécie *I. ricinus* e detectados a parasitar indivíduos recém-chegados a Portugal. Fica uma vez mais demonstrada a importância desta rede de vigilância epidemiológica na deteção da introdução de vetores e agentes infecciosos importados ou exóticos.

Os mapas de distribuição geográfica (presença/ausência) de algumas espécies de ixodídeos identificados e com importância em saúde pública são apresentados no capítulo “Espécies identificadas”.

3.1.1.2. Animais

Em 2016 foram identificadas a parasitar animais domésticos ou silváticos 10 espécies ixodológicas, nomeadamente *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventalloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*.

Em 2016 foram removidos menos ixodídeos de animais em 2016, representando uma diminuição de 21% face a 2015. Todas as espécies já tinham sido anteriormente identificadas a parasitar animais em Portugal continental.

No capítulo 7 apresentam-se os mapas de distribuição geográfica (presença/ausência) em 2016 e o total referente aos anos 2011-2015, com descrições sumárias e respectiva abundância relativa de seis espécies de ixodídeos com maior importância para a saúde pública no nosso País.

3.1.2. Carraças em fase de vida livre

No ano de 2016 foram identificadas na fase de vida livre oito espécies ixodológicas, nomeadamente, *Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventalloi* e *R. sanguineus*, contrastando com as nove identificadas em 2015.

Do total de espécies capturadas na fase de vida livre verificou-se uma diminuição de 2% relati-

vamente a 2015. Todas as espécies com a excepção de *I. hexagonus* já tinham sido anteriormente identificadas na vegetação em Portugal Continental¹¹.

Os mapas de distribuição geográfica (presença/ausência) de algumas espécies são apresentados no capítulo “Espécies identificadas”.

3.2. Espécies identificadas

No total, os ixodídeos identificados durante o ano de 2016 pertencem a cinco géneros e estão distribuídos por 11 espécies, nomeadamente, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventalloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*.

No ano de 2016 não foram detectadas espécies exóticas em Portugal continental. No entanto, foram detetados dois ixodídeos importados, da espécie *I. ricinus*, provenientes de outros países Europeus, a parasitar indivíduos recém-chegados a Portugal.

De acordo com a sua abundância relativa e importância em saúde humana apresentam-se os mapas de presença/ausência com descrições sumárias das seis espécies com maior potencial enquanto vetores de agentes patogénicos para o Homem (*H. lusitanicum*, *H. marginatum*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *I. ricinus* e *R. sanguineus*). Os mapas representam a cinzento os concelhos onde foram realizadas colheitas, a azul os concelhos onde foram identificadas as espécies e a branco as áreas onde não foram realizadas colheitas. Para cada espécie foram elaborados dois mapas, o primeiro diz respeito às colheitas realizadas no ano 2016 e o segundo

representando os dados acumulados no âmbito do REVIVE – Carraças entre 2011 e 2015, com o objetivo de permitir identificar mais facilmente as tendências detetadas em termos de distribuição geográfica.

A distribuição em termos de altitude é também apresentada para as espécies anteriormente seleccionadas e referentes a colheitas efectuadas na fase de vida livre.

Apesar da espécie *R. bursa* ter apresentado uma abundância relativa considerável, o seu papel como vetor de agentes patogénicos para o Homem não é muito relevante.

Para além das espécies ixodológicas detectadas com abundâncias relativas inferiores a 1% em 2016 (*Haemaphysalis punctata*, *Ixodes hexagonus*, *I. ventalloi* e *R. pusillus*), nos anos anteriores foram ainda identificadas outras espécies também com abundâncias relativas inferiores a 1%, nomeadamente *Amblyomma americanum*, *Ixodes canisuga* e *Rhipicephalus annulatus*. As abundâncias inferiores a 1% determinadas no âmbito do REVIVE para estas espécies podem refletir a verdadeira abundância de algumas espécies e/ou resultar do enviesamento das capturas, uma vez que algumas destas espécies apresentam especificidade parasitária para alguns animais silváticos e períodos de actividade em épocas em que as colheitas na vegetação foram reduzidas ou mesmo inexistentes. Apesar de apresentarem abundância relativa reduzida, são espécies que podem também desempenhar um papel importante em saúde pública, como por exemplo, *R. pusillus* que já foi identificado como vetor de *Rickettsia sibirica mongolitimonae*, o agente etiológico de LAR.

2016 2011-2015 ***Rhipicephalus sanguineus***

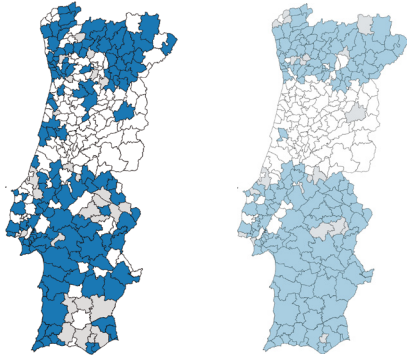


Figura 14: Distribuição geográfica de *Rhipicephalus sanguineus*

Rhipicephalus sanguineus apresenta uma distribuição mundial. Em termos nacionais é a espécie mais abundante.

Em Portugal esta espécie está adaptada do ponto de vista ecológico a todos os ambientes, a grandes variações de temperatura e humidade relativa, assim como a variados hospedeiros vertebrados, parasitando numerosas espécies de animais silváticos e todas as espécies de animais domésticos, estando particularmente associada ao cão e ocasionalmente ao Homem.

As maiores densidades populacionais foram encontradas nos meses mais quentes, pelo que esta espécie aparenta estar adaptada a temperaturas altas, não sendo exigente quanto à humidade relativa, sobrevivendo com facilidade em climas secos. Os adultos estão activos todo o ano, com um aumento no período da primavera/verão. As formas imaturas de larvas e ninfas são identificadas, sobretudo, nos meses de verão.

Em 2016, das colheitas realizadas no âmbito do REVIVE, *R. sanguineus* foi a espécie que apresentou maior abundância relativa (81,4%). No âmbito do REVIVE 2011-2015, a abundância relativa foi semelhante (77,7%). Os exemplares desta espécie, na fase de vida livre, foram capturados até uma altitude máxima de 999 m, sendo que a maioria (99%) foi capturada a altitudes inferiores a 699 m.

R. sanguineus é o vetor de *Rickettsia conorii*, o agente etiológico da febre escaro nodular bem como de outras bactérias, protozoários e vírus.

2016 2011-2015 ***Ixodes ricinus***

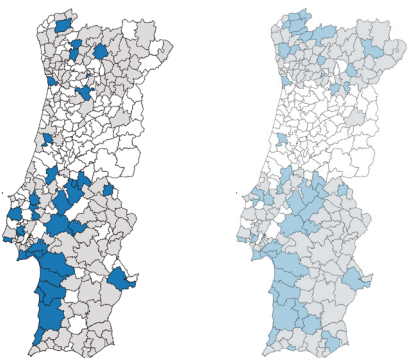


Figura 15: Distribuição geográfica de *Ixodes ricinus*

Ixodes ricinus apresenta uma distribuição geográfica que inclui a Europa, o Norte de África e a Ásia.

Esta espécie está adaptada a ambientes que apresentam uma cobertura vegetal considerável e onde se verificam elevados níveis de humidade relativa. É uma espécie muito dependente do estado higrométrico do ar e da temperatura cujo equilíbrio lhe é essencial.

Apresenta uma excepcional capacidade de adaptação a diversos hospedeiros parasitando tanto mamíferos domésticos e silváticos, como aves e lacertídeos, sendo de todas as espécies nacionais a que exhibe uma antropofagia mais marcada, aparecendo com muita frequência a parasitar o Homem durante os meses mais frios.

Os adultos podem estar activos todo o ano, mas em especial durante o outono/inverno. O período de actividade das formas imaturas (larvas e ninfas), ocorre sobretudo nos meses de primavera/verão.

Em termos nacionais já foi assinalada em todo o território.

Em 2016, no âmbito das colheitas realizadas no projeto REVIVE, *I. ricinus* apresentou uma abundância relativa de 5,0%, muito superior ao valor da abundância relativa desta espécie no âmbito do REVIVE 2011-2015 (1,6%). Dadas as características antropofílicas desta espécie, este aumento está relacionado com o aumento da colheita de ixodídeos no Homem.

Na fase de vida livre, 1099 m foi a altitude máxima a que se detectaram *I. ricinus*, sendo que a maioria (56%) foi capturada a altitudes entre 1000-1099 m.

Em termos de saúde pública, *I. ricinus* é a segunda espécie mais importante em Portugal continental. Esta espécie é vetor de *Borrelia burgdorferi* s.l., agente etiológico da borreliose de Lyme, a segunda doença associada à picada de carraça com maior prevalência em Portugal.

I. ricinus está ainda associado à transmissão de outros agentes etiológicos, como rickettsias e outras bactérias, protozoários e vírus.

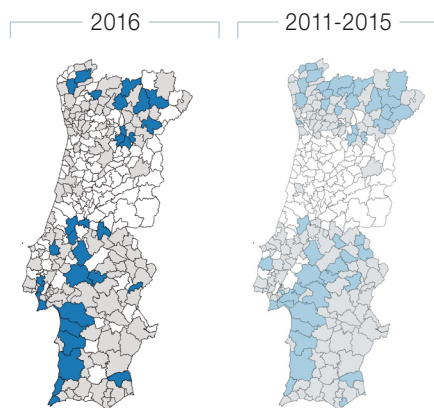


Figura 16: Distribuição geográfica de *Dermacentor marginatus*

Dermacentor marginatus

Dermacentor marginatus apresenta uma distribuição geográfica ampla, que inclui a Europa, o Norte de África e a Ásia.

Do ponto de vista ecológico, ocorre, sobretudo, em regiões de clima temperado e seco, no entanto suporta com facilidade variações consideráveis de temperatura não sendo muito exigente em termos de humidade relativa. Parasita uma variada gama de hospedeiros, abrangendo praticamente todos os mamíferos domésticos e silváticos assim como o Homem.

As densidades populacionais mais elevadas são encontradas em outubro e novembro. Os adultos apresentam maior actividade no período de outono/inverno enquanto os imaturos estão mais activos no período primavera-verão.

Dermacentor marginatus apresenta-se distribuído de norte a sul do País. De acordo com as colheitas realizadas no REVIVE, em 2016 apresentou uma abundância relativa de 4,7%. No âmbito do REVIVE 2011-2015, a abundância relativa foi de 2,1%.

Na fase de vida livre, a altitude máxima a que se detetaram *D. marginatus* foi 899 m, sendo que a maioria (81%) foi capturada a altitudes inferiores a 499 m.

D. marginatus é uma espécie importante em termos de saúde pública. Para além de vetor de *Rickettsia slovaca*, agente etiológico de TIBOLA, foram encontrados exemplares infectados com *Borrelia lusitaniae*, não sendo contudo claro o seu papel como vetor deste agente.

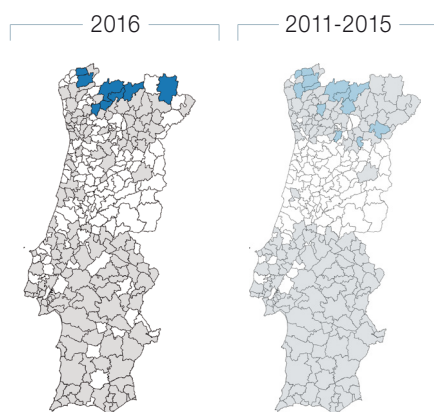


Figura 17: Distribuição geográfica de *Dermacentor reticulatus*

Dermacentor reticulatus

Dermacentor reticulatus apresenta uma distribuição geográfica que inclui a Europa e a Ásia. Na Europa é considerada uma espécie em expansão devido aos efeitos provocados pelas alterações climáticas ou por modificações na utilização de terrenos agrícolas e florestais.

Do ponto de vista ecológico, está bem adaptada, suporta temperaturas baixas ou mesmo negativas, e necessita de alguma humidade relativa para a sua sobrevivência.

Parasita essencialmente ungulados selvagens, como por exemplo, o corço, assim como o cão e, ocasionalmente, o Homem.

Os adultos estão activos durante todo o ano e em particular no período do outono/inverno. O período de actividade das formas imaturas (larvas e ninfas) ocorre sobretudo durante os meses de verão.

Em termos de distribuição geográfica nacional apresenta-se apenas na região norte do País.

Em 2016, no âmbito do REVIVE foi identificada uma abundância relativa, inferior a 1%. No âmbito do REVIVE 2011-2015 apresentou uma abundância relativa de 1,7%.

Na fase de vida livre, a altitude máxima a que se detectaram *D. reticulatus* foi 899 m, sendo que a maioria (81%) foi capturada a altitudes inferiores a 499 m.

D. reticulatus é uma espécie importante em termos de saúde pública pois já foi associada à transmissão de *Rickettsia slovaca* e *Francisella tularensis* ao Homem.

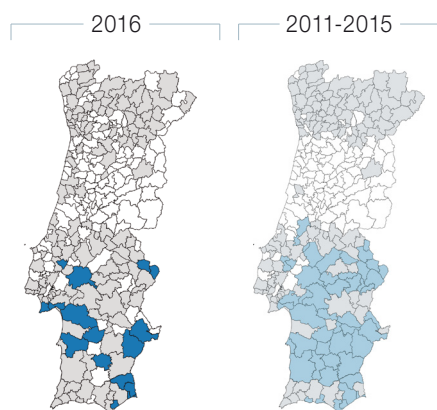


Figura 18: Distribuição geográfica de *Hyalomma lusitanicum*

Hyalomma lusitanicum

Hyalomma lusitanicum é uma espécie cuja distribuição geográfica está restrita ao sul da Europa e norte de África.

Do ponto de vista ecológico está bem adaptada, suportando temperaturas altas e humidade relativa reduzida.

H. lusitanicum parasita essencialmente animais domésticos de produção, vários animais silváticos como leporídeos, insectívoros e carnívoros selvagens. Ocasionalmente parasita o Homem.

Os adultos assim como os imaturos estão activos no período do primavera/verão, podendo manter-se activos até ao outono.

No âmbito do REVIVE 2016 foi assinalado na região sul do País com uma abundância relativa inferior a 1%. No âmbito do REVIVE 2011-2015, apresentou uma abundância relativa de 1,5%.

Na fase de vida livre, a altitude máxima a que se detectaram *H. lusitanicum* foi 499 m, sendo que a maioria (81%) foi capturada a altitudes inferiores a 199 m.

H. lusitanicum é uma espécie que apresenta antropofagia ao contrário do que é muitas vezes referido na bibliografia.

O papel que desempenha em termos de saúde pública está relacionado com a sua capacidade de transmitir o vírus da febre hemorrágica de Crimeia-Congo.

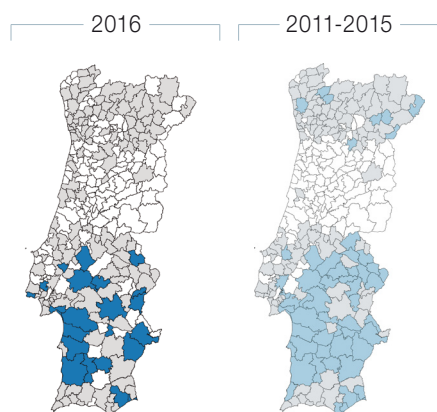


Figura 19: Distribuição geográfica de *Hyalomma marginatum*

Hyalomma marginatum

Hyalomma marginatum tem uma distribuição geográfica que inclui a Europa, África e Ásia.

Do ponto de vista ecológico está bem adaptada, suportando temperaturas e humidade relativa variadas. *H. marginatum* parasita essencialmente animais domésticos de produção, aves e, acidentalmente, o Homem.

Os adultos estão activos no período do primavera/verão. O período de actividade das formas imaturas (larvas e ninfas), ocorre sobretudo nos meses de outono.

Em Portugal a sua distribuição é mais homogénea na região sul, embora já tenha sido assinalada em todo o território. Em 2016 a abundância relativa assinalada no âmbito do REVIVE foi de 2,4%. No âmbito do REVIVE 2011-2015 apresentou uma abundância relativa de 1,5%.

Na fase de vida livre, a altitude máxima a que se detectaram *H. marginatum* foi 299 m, sendo que a maioria (81%) foi capturada a altitudes inferiores a 199 m.

H. marginatum é uma espécie importante em termos de saúde pública. Para além de vetor de bactérias do género *Rickettsia* também é vetor do vírus da febre hemorrágica de Crimeia-Congo.

3.3. Pesquisa de agentes patogénicos

Para a pesquisa de borrélias e rickettsias foram analisados 1057 (18,4%) ixodídeos do total de exemplares capturados, distribuídos por 10 espécies e provenientes de 142 concelhos de norte a sul do País.

A selecção dos exemplares a testar foi efectuada com base na capacidade vetorial que determinadas espécies têm para transmitir borrélias e rickettsias. A sazonalidade, a distribuição geográfica, a abundância e origem foram também

factores ponderados de forma a assegurar a representatividade da amostra. Os ixodídeos foram analisados por biologia molecular, testados pela técnica de PCR seguido de sequenciação. Todos os exemplares removidos de humanos foram incluídos na amostra em estudo e testados individualmente.

Do total de ixodídeos em estudo, 203 (19,4%) foram positivos na detecção de DNA de *Rickettsia* e 23 (2,2%) positivos para DNA de *Borrelia* (Quadro 3).

Quadro 3 – Espécies de *Rickettsia* e *Borrelia* detectadas em Ixodídeos colhidos em hospedeiros e na vegetação no âmbito do REVIVE 2016

Espécies de <i>Rickettsia</i> e <i>Borrelia</i>	Patologia	Espécies de ixodídeos	Fase parasitária			Fase vida livre	Total
			Homem	Cão	Outros animais	Vegetação e outros	
<i>B. afzelii</i>	Borreliose de Lyme	<i>R. sanguineus</i>	1				1
<i>B. burgdorferi</i> s.s.		<i>Ixodes</i> spp.	1				1
<i>B. bissettii</i>		<i>Ixodes</i> spp.	1				1
<i>B. lusitaniae</i>		<i>I. ricinus</i> , <i>Ixodes</i> spp., <i>H. marginatum</i> , <i>R. sanguineus</i>	17			1	18
<i>B. spielmanii</i>		<i>Ixodes</i> spp.	1				1
<i>B. valaisiana</i>		<i>Ixodes</i> spp.	1				1
Total <i>Borrelia</i>			22			1	23
<i>R. aeschlimannii</i>	s/ denominação	<i>H. marginatum</i>	17				17
<i>R. conorii</i>	Febre escaro nodular	<i>R. sanguineus</i>		1			1
<i>R. slovacica</i>		<i>D. marginatus</i>	5			2	7
<i>R. helvetica</i>	s/ denominação	<i>H. marginatum</i> , <i>I. ricinus</i> , <i>Ixodes</i> spp.	22			2	24
<i>R. monacensis</i>	s/ denominação	<i>I. hexagonus</i> , <i>I. ricinus</i> , <i>Ixodes</i> spp.	67			7	74
<i>R. raoulti</i>	s/ denominação	<i>D. marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> , <i>H. marginatum</i> , <i>R. sanguineus</i>	17	1			18
<i>R. massiliae</i>	s/ denominação	<i>R. sanguineus</i>	26	15	1	15	57
<i>Rickettsia</i> spp.		<i>D. marginatus</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	1		2	2	5
Total <i>Rickettsia</i>							203

4. Conclusões

O ano de 2016 foi o 6.º ano do programa REVIVE -Ixodídeos. Nestes seis anos o número de concelhos onde têm sido realizadas colheitas, aumentou de 55 para 205, o que demonstra o empenho colocado neste programa.

Em 2016, entre janeiro e dezembro, realizaram-se 1438 colheitas de ixodídeos em 161 concelhos de Portugal continental. No laboratório foram identificados 5717 ixodídeos pertencentes a 11 espécies, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventalloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*.

A pesquisa de borrélias e rickettsias permitiu a identificação de agentes patogénicos para o Homem como *R. conorii*, *R. slovaca*, *B. afzelii*, *B. bissettii*, *B. burgdorferi s.s.*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii* e *B. valaisiana*. Foram ainda detetadas co-infecções entre *B. lusitaniae*-*R. helvetica* e *B. lusitaniae*-*R. monacensis*.

No âmbito dos seis anos do REVIVE - Carraças, realizaram-se 6645 colheitas de ixodídeos em 205 concelhos de Portugal continental, tendo sido identificados 41711 ixodídeos de 13 espécies autóctones e uma exótica -*Amblyomma americanum*, assim como a importação da Europa Central de dois ixodídeos da espécie *I. ricinus* a parasitar indivíduos que se deslocaram a Portugal.

Desde o início que o programa REVIVE-Ixodídeos tem contribuído para o conhecimento eco-epidemiológico de espécies de vetores, a sua distribuição geográfica, período de actividade e abundância, assim como para o esclarecimento

do seu papel como vetor de agentes de doença para o Homem.

A identificação dos principais factores ecológicos que condicionam a presença/ausência de determinada espécie num dado local ou época do ano também têm sido analisados e agora, passados seis anos, começam a ser suficientemente robustos para permitirem a sua análise estatística e o desenvolvimento de modelos de predição em termos de presença/ausência.

O reforço das capturas realizadas em humanos, que se deve à colaboração dos profissionais de saúde dos centros de saúde e hospitais, foi relevante para a constatação que o contacto do Homem com os ixodídeos é mais frequente do que habitualmente referido em estudos realizados em Portugal. Este facto também está de acordo com as referências bibliográficas que mencionam o aumento da incidência das doenças transmitidas por carraças, não só em Portugal, como em toda a Europa.

Paralelamente, tem sido fundamental na identificação dos agentes patogénicos em circulação nas carraças em fase de vida livre ou a parasitar outros animais, sinalizando precocemente a existência de possíveis focos de infecção. A implementação atempada de medidas de prevenção e controlo é um dos principais factores que pode impedir a ocorrência de casos de doença. Para além dos agentes infecciosos já associados a casos humanos em Portugal, sublinha-se ainda a detecção de outros agentes que, até ao momento, não estão identificados como patogénicos para o homem no nosso País, mas que já foram associados a doença, em casos pontuais, noutros países europeus. Este resultado deve alertar os clínicos para o facto de

existirem várias doenças associadas a agentes transmitidos por carraça, com sintomatologia muito diferente da associada à FEN e à borreliose de Lyme, pelo que em caso de suspeita devem solicitar o diagnóstico laboratorial.

Nas amostras em que foi pesquisada a presença de *Rickettsia* e *Borrelia* foi observada uma prevalência de 19,4% e 2,2%, respetivamente.

O projeto REVIVE tem contribuído para um conhecimento sistemático da fauna de culicídeos e de ixodídeos de Portugal, e do seu potencial papel de vetor, constituindo uma componente dos programas de vigilância epidemiológica indispensável à avaliação do risco de transmissão de doenças potencialmente graves.



Equipas REVIVE

Equipas REVIVE

ARS Alentejo

Ana Madeira
 Ana Mafalda Franco
 Ana Maria Paulino
 Anabela Barradas
 Andreia Simões
 António Rodrigues
 Carlos Estevinha
 Catarina Lopes
 Cláudia Oliveira
 Cristina Marques
 Cristina Soares
 Daniela Duarte
 Diogo Sousa Gomes
 Elsa Cabeça
 Fernando Velhinho
 Helder Victória
 Helena B
 Hugo Nereu
 Hugo Soudo
 Humberto Ramos
 Iliete Ramos
 Isabel Cansado
 João Carrasquinha
 Liliana Marques
 Luís Ribeiro
 Maria João Santos
 Maria Miguel Valente
 Maria Natalina Nunes
 Mónica Bettencourt
 Natália Nunes
 Paula Abreu
 Pedro Bento
 Raposo
 Rosa Calado
 Rute Silva
 Vera Baptista
 Vera Ferreira

 Sónia Caeiro
 Filomena Araújo

ARS Algarve

Alexandra Monteiro
 Carlos Lopes
 Carmelo Colmenarez
 Carmen Vieira
 Hélia Monteiro
 Luísa Reis
 Maria da Graça Fernandes
 Maria Eduarda Gonçalves
 Maria João Falcão
 Maria José Fontes
 Rosário Jorge
 Sandra Faísca
 Sara Campos
 Sofia Duarte
 Vítor Vaz

 Nélia Guerreiro
 Ana Cristina Guerreiro

Celestina Ramos
 Célia Morais
 Cláudia Serrano
 Conceição Madeira
 Cristina Veloso
 Eduardo Almeida
 Elsa Pereira
 Fátima Alho
 Fátima Cunha
 Fernando Afonso
 Fernando Santos Barreto
 Francisco
 Helena Costa
 Herminia Almeida
 José Carlos F.
 José Cerdeira
 Laura
 Laurinda Lopes
 Lúcia Bispo
 Lúcia Mira
 Luís
 M. Janeiro
 Manuel Cardoso
 Manuel Carmona
 Maria do Carmo
 Maria Fernandes
 Paula Pereira
 Olinda Sá Marques
 Regina Costa
 Rosa Almeida
 Sandra oliveira
 Sónia Veloso
 Susana Conde
 Teresa Gameiro
 Vanda Saraiva
 Vítor Carmona

 Judite Maia

ARS Centro

Alberto Tavares
 Alexandra Vieira
 Américo Simões
 Ana Fonte
 Ana Marques
 Anabela Almeida
 Anabela Cruz
 Anabela Sá Moura
 António Lucas
 Avelino Antunes
 Cândida Ramos
 Carla Besteiro
 Carla Mariano
 Carlos Sousa Louro
 Carlos Valente
 Cátia Santos
 Cecília Ribeiro

ARS Lisboa e Vale do Tejo

Adriana Geraldês
Álvaro Antas
Ana Almeida
Ana Dias
Ana Micaela
Anabela Conceição
Anabela Santos
Arlindo Pardal
Carla Gonçalves
Carla Nobre
Carla Simões
Carlos Lourenço
Carlos Pinto
Carmo Pereira
Cátia Lopes Gabriel
Cátia Rodrigues
Célia Maia
Cláudia Purificação
Cláudia Raminhos
Conceição Geraldês
Cristina Nunes
Daia Monteiro
Daniel Carvalheiro
Élia Viegas
Filomena Sampaio
Helena Correia
Helena Patrício
Henrique Coelho
Hermes Santos
Inês Lopes
José Manuel Fonseca Peixoto
José Pedro Teixeira
Lígia Alves
Liliana Cristóvão
Lúcia Lacerda
Lúcia Pereira
Manuela Gastão
Márcia Monteiro
Margarida Narciso

Margarida Seabra
Maria José Vicente
Maria Neves
Marília Marques
Marina Antunes
Marta Franco
Nélia Rosa
Paulina Oliveira
Paulo Bastos
Pedro Patrício
Regina Dias
Rogério Nunes
Rosete Lourenço
Sandra Jorge
Sandra Pinheiro
Sandrina Pereira
Sérgio Lourenço
Sérgio Santos
Sílvia Duarte
Sofia Barata
Sofia Guerra
Sónia Caeiro Reis
Sónia Guerreiro
Susana Alves
Susana Coito
Susana Santos
Susana Silva
Teresa Patrício
Teresa Pereira
Teresa Rica
Vanda Pinto
Vanessa Freitas

Lígia Ribeiro
Elsa Soares

ARS Norte

Adriana Cunha
Altina Pinto
Amâncio Ferreira
Ana Mendes
Ana Padilha
Ana Portas
Ana Rita Cruz
Ana Sofia Ribeiro
Ana Vieira
Anabela Fernandes
Anabela Pedro
Andreia Pêgo
António Afonseca
António Borges
António Marinho
António Pereira
Ariana Cunha
Arlete Cardoso
Avelino
Brígida Silva
Bruna Reigada
Carina Andrade
Carla Castro
Carla Oliveira
Carla Quintas
Carlos Gomes
Carlos Gonçalves
Catarina Fernandes
Catarina Gomes
Cátia Oliveira
Cédric Samorinha
Célia Moreira
Cidália Sousa
Cláudia Fernandes
Conceição Almeida
Constância Vieira
Cristina Acabado
Cristina Campeão
Cristina Veiga

Dina Cláudia
 Elisabete Dionísio
 Elsa Lima
 Ermelinda Pinheiro
 Fátima Pinho
 Fátima Sousa
 Fernando Santos
 Francisco Araújo
 Frederico Freitas
 Glória Afonso
 Graciete Lourenço
 Helena Garcia
 Henrique Sebastião
 Isabel Miranda
 Ivone Cunha
 Jesus Fernandes
 João Paulo Monteiro
 José Alves
 José Carlos Reis
 Laurentino Pires
 Leonel Fernandes
 Lígia Monteiro
 Lígia Rocha
 Lucília Reis
 Luís Aleixo
 Manuel António
 Manuel Oliveira
 Manuela Pinto
 Mara Verne
 Maria Cândida Pinto
 Maria Fátima Sousa
 Maria João Pires
 Maria Salomé Gonçalves
 Marinela Cristo
 Marisa Rodrigues
 Marta Guerreiro
 Michelle Cintra
 Miguel Cerqueira
 Miguel Maia

Mónica Mata
 Nuno Diz
 Olga Monteiro
 Olinda Novais
 Paula Araújo
 Paula Gonçalves
 Paula Rodrigues
 Paulina Rebelo
 Paulo Martins
 Rui Clemêncio
 Rui Figueiredo
 Sandra Almeida
 Sandra Oliveira
 Sandra Pintor
 Sandra Santos
 Sérgio Cardoso
 Sílvia Miranda
 Sílvia Silva
 Solange Azevedo
 Susana Torres
 Tânia Fernandes
 Viriato Lemos

 Sílvia Silva
 Maria Neto

IASAÚDE Madeira

Adélia
 Bela Conceição
 Bela Viveiros
 Cláudia Sá
 Conceição Reis
 Daniel Sousa
 Fátima
 Filipe
 Graça Sousa

Irene
 Joel
 Lúcia
 Magda
 Maria
 Paula Abreu
 Rita
 Rute Soares
 Sandrinha
 São Lúcia
 Sónia

 Maria Dores Vacas
 Ana Clara Silva

CEVDI/INSA

Ana Marques
 Ana Sofia Santos
 Conceição Palotes
 Fátima Amaro
 Hugo Osório
 Isabel Lopes de Carvalho
 Líbia Zé-Zé
 Lígia Chaínho
 Maria Margarida Santos-Silva
 Maria Salomé Gomes
 Maria Sofia Núncio
 Olga Costa
 Paulo Parreira
 Rita de Sousa
 Teresa Luz
 Maria João Alves (coordenação)

_Departamento de **Doenças Infeciosas**

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 Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas

Doutor Francisco Cambournac

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

Tel.: (+351) 265 938 290

Fax: (+351) 265 912 155

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