_título:

Doença invasiva meningocócica em Portugal

Vigilância epidemiológica integrada, 2003-2014

_subtítulo:

Rede de Laboratórios *VigLab*–Doença Meningocócica

_edição:
INSA, IP

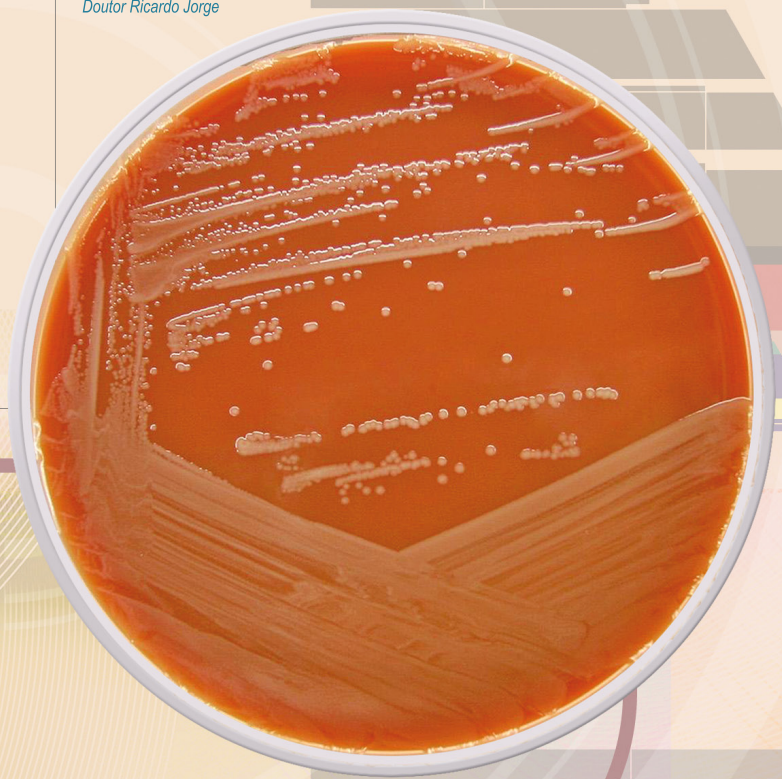
_autores:

Maria João Simões, Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis*, INSA

Teresa Fernandes, Direção de Serviços de Prevenção da Doença e Promoção da Saúde, DGS

_local / data:
Lisboa
Dezembro **2016**

Instituto_Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge



Catalogação na publicação:

PORTUGAL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, e outro
Doença meningocócica invasiva em Portugal: vigilância epidemiológica integrada, 2003-2014 - Relatório da Rede de Laboratórios *VigLab*-Doença Meningocócica / Departamento de Doenças Infeciosas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Direção de Serviços de Prevenção da Doença e Promoção da Saúde da Direção-Geral da Saúde. - Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, 2016. - 46 p. : il.

e-ISBN: 978-989-8794-30-7

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2015.

Título: Doença meningocócica invasiva em Portugal: vigilância epidemiológica integrada, 2003-2014
Relatório da Rede de Laboratórios *VigLab*-Doença Meningocócica

Autores: Maria João Simões, Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis*, Departamento de Doenças Infeciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Teresa Fernandes, Direção de Serviços de Prevenção da Doença e Promoção da Saúde, Direção-Geral da Saúde

Acompanhamento: Maria da Graça Freitas, Direção-Geral da Saúde
Jorge Machado, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Colaboradores: Paulo Gonçalves, Célia Betencourt, Ana Leça, Andreia Silva da Costa

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

Coleção: Relatórios científicos e técnicos

Coordenação técnica editorial: Elvira Silvestre

Composição gráfica: Francisco Tellechea

Lisboa, dezembro de 2016

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

Instituto_Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

_Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge, IP

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

_título:

Doença invasiva meningocócica em Portugal
Vigilância epidemiológica integrada, 2003-2014

_subtítulo:
Rede de Laboratórios *VigLab*–Doença Meningocócica

_edição:
INSA, IP

_autores:

Maria João Simões, Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis*, INSA

Teresa Fernandes, Direção de Serviços de Prevenção da Doença e Promoção da Saúde, DGS

_local / data:
Lisboa
Dezembro 2016

Índice

Agradecimentos 5

Índice de figuras 6

Índice de tabelas 7

Siglas e abreviaturas 8

1. Introdução 9

2. Metodologia 13

2.1 Definição de caso para efeitos de vigilância 15

2.2 Vigilância Epidemiológica integrada 15

2.3 Métodos laboratoriais 16

2.4 Análise de dados 17

3. Resultados 19

3.1 Taxa de incidência global e por grupo etário 22

3.2 Caraterização genotípica de estirpes 24

3.2.1 Distribuição de casos por grupos de *Neisseria meningitidis* 24

3.2.2 Caraterização do subtipo (proteína PorA) 29

3.2.3 Caraterização da proteína FetA 30

3.2.4 Identificação dos tipos de sequência (ST) e de complexos clonais 30

3.3 Estudo de suscetibilidade aos antibióticos 31

3.4 Óbitos 34

4. Discussão 35

4.1 Taxa de incidência global e por grupo etário 37

4.2 Distribuição de casos por grupos de *Neisseria meningitidis* 38

4.3 Caraterização de genótipos 40

4.4. Óbitos 40

5. Conclusões 41

Referências bibliográficas 45

Anexo - Definições de casos para a notificação de doenças transmissíveis à rede comunitária 46

Agradecimentos

Os autores agradecem os dados disponibilizados no âmbito da Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Meningocócica a:

- Direção de Serviços de Informação e Análise e Divisão de Epidemiologia e Vigilância da Direção-Geral da Saúde;
- Dr. Carlos Orta Gomes, da Direção-Geral da Saúde;
- Dr.ª Laurinda Queiroz, da ARS Norte.

Agradecem também a todos os microbiologistas dos Serviços de Patologia Clínica dos hospitais da rede hospitalar pública e privada, pelo seu envolvimento na componente laboratorial da vigilância integrada da DIM.

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

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

Índice de figuras

Figura 1 – Proporção de casos confirmados e prováveis ou possíveis de doença invasiva meningocócica registada em Portugal entre 2003 e 2014 21

Figura 2 – Proporção de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por método de confirmação laboratorial, 2010-2014 22

Figura 3 – Taxa de incidência global e de casos confirmados (por 100 000 habitantes) da doença invasiva meningocócica, 2003 - 2014, em Portugal 22

Figura 4 – Incidência da doença invasiva meningocócica por grupo etário em Portugal, 2013- 2014 23

Figura 5 – Incidência média da doença invasiva meningocócica por grupo etário em Portugal nos anos de 2003-2007, 2008-2013 e 2014 23

Figura 6 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por grupo e por ano em Portugal e (2003-2014) 25

Figura 7 – Evolução da incidência da doença invasiva meningocócica por estirpes dos grupos B e C, ocorrida em Portugal entre 2003 e 2014 26

Figura 8 – Número de casos acumulados de doença invasiva meningocócica do grupo B no primeiro ano de vida, em Portugal, por mês de idade, no período de 2003 a 2013 e número de casos registados em 2014, por mês de idade 28

Figura 9 – Evolução anual do número de casos de doença invasiva meningocócica por estirpes dos grupos Y, W135 e não grupáveis, ocorrida em Portugal entre 2003 e 2014 28

Figura 10 – Proporção de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo B, por subtipo (proteína PorA), em Portugal, em 2013 e 2014 29

Figura 11 – Proporção de estirpes com PorA 1.4 relativamente ao total de estirpes invasivas de *Nesseria meningitidis* do grupo B em Portugal, 2006-2014 29

Figura 12 – Subtipos (proteína PorA) de *Neisseria meningitidis* do grupo Y responsáveis por doença invasiva meningocócica em Portugal, 2013-2014 30

Figura 13 – Proporção de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* por variante da proteína FetA em Portugal, 2013-2014. 30

Figura 14 – Proporção de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* por complexo clonal, em Portugal, 2013-2014. Estão assinalados a vermelho os cc hipervirulentos. 31

Figura 15 – Evolução da proporção de estirpes de *Neisseria meningitidis* suscetíveis (CIM ≤0,064 mg/L), com suscetibilidade intermédia (CIM >0,064 e <0,25 mg/L) e resistentes (≥0,25 mg/L) à Penicilina, Portugal, 2009-2014. 31

Figura 16 – Número de óbitos em casos confirmados por doença invasiva meningocócica por ano e por grupo, em Portugal, 2003-2014 33

Figura 17 – Incidência e taxa de letalidade da DIM por grupo etário em Portugal entre 2003 e 2014. 34

Figura 18 – Taxa de letalidade da DIM em adultos com idade superior ou igual a 45 anos em Portugal entre 2003 e 2014. 34

Figura 19 – Evolução da incidência de DIM observada em Portugal no período entre 2003 e 2014 e no total de 29 países europeus notificadores ao TESSy, ECDC, no período de 2003 a 2012, (a partir de 2010 os dados europeus referem-se apenas a casos confirmados). 37

Figura 20 – Distribuição do número de casos de doença invasiva meningocócica por grupo B, ACWY e outros, por mês de idade em crianças menores de dois anos no Reino Unido, 2012. (Fonte: referência 11). 39

Índice de tabelas

Tabela 1 – Número total de casos de doença invasiva meningocócica, número e proporção de casos confirmados, possíveis e prováveis registados em Portugal em 2013 e 2014 21

Tabela 2 – Número de estirpes de *Neisseria meningitidis* por alvo de caraterização e sua proporção relativamente ao total de estirpes identificadas (por cultura ou PCR) 24

Tabela 3 – Número e proporção de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por grupo de *Neisseria meningitidis*, ocorridos em Portugal, 2013-2014 24

Tabela 4 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por grupo, ocorridos em Portugal, 2003-2014 25

Tabela 5 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica do grupo C por grupo etário, ocorridos em Portugal, 2003-2014 26

Tabela 6 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica do grupo B por grupo etário, ocorridos em Portugal, 2003-2014 26

Tabela 7 – Número de casos acumulados de doença invasiva meningocócica do grupo B por mês de idade, no grupo etário <12 meses entre 2003 e 2013 e número de casos por grupo B no mesmo grupo etário em 2014, em Portugal 27

Tabela 8 – Famílias e variantes das regiões variáveis 1 e 2 da proteína PorA de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo B isoladas em Portugal em 2013 e 2014 29

Tabela 9 – Genótipo das quatro estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo C isoladas em Portugal, 2013-2014 31

Tabela 10 – Caraterização dos casos de DIM com óbito, registados entre 2013 e 2014 32

Tabela 11 – Número de óbitos em casos confirmados, em casos possíveis/prováveis e total de óbitos por doença invasiva meningocócica, por ano, em Portugal, entre 2003 e 2012 32

Tabela 12 – Número de casos, óbitos e taxa de letalidade, em casos confirmados, em casos possíveis/prováveis e no total de casos notificados de doença invasiva meningocócica, por ano, em Portugal, 2003-2014 33

Tabela 13 – Incidência e letalidade da DIM por grupo etário em Portugal, 2003-2014 34

Lista de siglas e abreviaturas

CE	Comissão Europeia
cc	complexo clonal
CIM	Concentração inibitória mínima
DGS	Direção-Geral da Saúde
DIM	Doença invasiva meningocócica
ECDC	*European Centre for Disease Prevention and Control*
EMERT	*European Meningococcal Epidemiology in Real Time*
EUCAST	*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*
Eu-IBD	*European Invasive Bacterial Diseases Surveillance Network*
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
MLST	*multilocus sequence typing*
ST	*Sequence type*
TESSy, ECDC	*European Surveillance System*
VR1	Região variável 1
VR2	Região variável 2

1

Introdução

A Doença Invasiva Meningocócica (DIM) é endémica em muitos países industrializados, com uma taxa de incidência global considerada baixa (1-2 casos por 100 000 habitantes). Contudo, e apesar dos avanços conseguidos no seu controlo, a DIM continua a constituir um problema de saúde pública, não só porque é uma doença potencialmente epidémica, como também por apresentar uma taxa de incidência elevada nas crianças com idade inferior a cinco anos (20-50 por 100 000), uma elevada letalidade (8 a 10%) e uma frequência elevada de sequelas graves (cerca de 20%) [1]. A epidemiologia da DIM é influenciada quer por fatores de virulência bacterianos quer pela suscetibilidade do hospedeiro.

A vigilância desta doença é fundamental para conhecer o seu padrão epidemiológico e monitorizar eventuais alterações desse padrão no tempo e no espaço. Os dados da vigilância epidemiológica deverão pois constituir a base da fundamentação de políticas de controlo e da monitorização do seu impacte.

Em Portugal, a partir de Setembro de 2002, a notificação da DIM passou a incluir, para além da notificação clínica, já obrigatória desde 1927, a notificação laboratorial, por implementação do Sistema de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Meningocócica, estabelecida pela Circular Normativa nº 13/DEP da Direção-Geral da Saúde (DGS), de 5 de setembro de 2002 [2]. A partir de então, a DGS e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) estabeleceram uma colaboração no sentido de operacionalizar esta vigilância a qual obriga à notificação clínica de todos casos suspeitos e à sua confirmação laboratorial, de modo a conhecer-se a incidência da doença, mas também à caraterização dos grupos de estirpes de *Neisseria meningitidis* circulantes em Portugal.

Portugal, através do INSA, integra, conjuntamente com outros 29 países europeus, a rede europeia "*European Invasive Bacterial Diseases Surveillance Network*" (EU-IBD), coordenada pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC). Esta rede tem como principais objetivos:

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

O compromisso dos países participantes na rede EU-IBD para com o ECDC compreende a pesquisa e identificação de *Neisseria meningitidis* a partir de amostras clínicas de locais habitualmente estéreis, a caraterização molecular de estirpes e a determinação da suscetibilidade aos antibióticos usados no tratamento e profilaxia da DIM. O estudo do genoma e a diversidade encontrada permite a diferenciação de genótipos e a monitorização da sua dispersão geográfica. Alguns dos alelos caraterizados codificam para componentes da membrana externa bacteriana que induzem a produção de anticorpos bactericidas, pelo que são possíveis alvos para a produção de vacinas.

No âmbito da regulamentação Europeia, cada país notifica anualmente os seus dados de vigilância da doença invasiva meningocócica ao ECDC, através do sistema *The European Surveillance System* (TESSy, ECDC).

Os relatórios anuais referentes à vigilância epidemiológica das doenças bacterianas invasivas na Europa podem ser consultados no *website* do ECDC.

É objetivo deste relatório dar a conhecer os resultados da Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Invasiva Meningocócica relativos aos anos de 2013 e 2014 e a sua evolução nos últimos 12 anos (2003-2014)

2

Metodologia

2.1 Definição de caso para efeitos de vigilância

Relativamente aos casos de doença invasiva meningocócica (DIM) registados após 2012, as definições de caso adotadas no presente relatório são conformes com a Decisão 2119/98/CE da Comissão Europeia, de 8 de agosto de 2012 e publicada pelo *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* em 27 de setembro de 2012 (Anexo). Os casos anteriores a 2012 são definidos de acordo com a Decisão 2002/253/CE da Comissão Europeia, de 19 de março de 2002 e da sua alteração em 28 de abril de 2008.

2.2 Vigilância Epidemiológica integrada

A meningite meningocócica é monitorizada em Portugal desde 1927 pelo Sistema de Doenças Transmissíveis de Declaração Obrigatória (DDO) que se mantém até hoje. As outras formas de doença invasiva meningocócica (DIM), como a septicemia, foram incluídas no sistema DDO em 1987 (Portaria n.º 766/86 de 26 de dezembro).

No âmbito do sistema DDO, todos os médicos têm a obrigação de notificar todos os casos de meningite meningocócica e de infeção meningocócica de que tiverem conhecimento, desde o momento em que a doença é apenas suspeita. Esta notificação deve seguir imediatamente para a unidade de saúde pública local da área de residência do doente para que possam ser tomadas medidas de controlo imediatas. A notificação DDO pode ser feita com base exclusivamente clínica. A unidade de saúde pública local realiza o inquérito epidemiológico e envia cópia da notificação que recebe para o Departamento de Saúde Pública da Administração Regional de Saúde (ARS) respetiva e para a Direção-Geral da Saúde (DGS).

De acordo com a Circular Normativa da DGS nº 13/DEP de 5 de setembro de 2002[2], os patologistas dos laboratórios dos hospitais devem fazer as notificações laboratoriais dos casos de DIM aí internados, no impresso do anexo III da referida Circular Normativa, ou *online* na plataforma "Rios" (Rede de Informação e Observação em Saúde, gerida pelo INSA, disponível em: http://www.insa-rios.net/). De acordo com a referida circular, as notificações em papel são enviadas ao Laboratório Nacional de Referência de *Neisseria meningitidis* do INSA, em Lisboa, acompanhadas das estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* isoladas nos laboratórios hospitalares ou, nos casos clinicamente suspeitos de DIM com cultura negativa, devem ser enviadas ao INSA amostras clínicas para pesquisa e caraterização de *Neisseria meningitidis* por métodos moleculares.

Na DGS é criada e gerida a base de dados nacional, que integra as notificações clínicas e laboratoriais.

Quaisquer discrepâncias observadas entre os dados deste relatório e dados apresentados nos relatórios gerais da vigilância de doenças transmissíveis de declaração obrigatória resultam da revisão exaustiva feita na base de dados integrada.

2.3 Métodos laboratoriais

No laboratório de referência a pesquisa de DNA de *Neisseria meningitidis*, é realizada por uma técnica de PCR em tempo real com sondas FRET (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) dirigidas ao gene *ctrA* (codifica para uma proteína de membrana externa envolvida no sistema de transporte capsular).

Os constituintes antigénicos úteis para a caraterização de *Neisseria meningitidis*, localizam-se na parede celular, nomeadamente na cápsula polissacarídica e na membrana externa. A caraterização de estirpes de *Neisseria meningitidis* no INSA é, presentemente, inteiramente realizada por métodos moleculares, o que é suficiente para fins de monitorização de dispersão geográfica de estirpes associadas a doença invasiva e identificação de complexos clonais particularmente associados a estirpes virulentas.

A caraterização do grupo realiza-se por uma técnica de PCR com *primers* dirigidos ao gene *siaD* (que codifica para polisialiltransferases) dos grupos B, C, W135 e Y de *Neisseria meningitidis*, e dirigidos ao gene *sacC* do grupo A [3].

A caraterização do subtipo é realizada por amplificação e sequenciação das duas regiões variáveis do gene *porA*, designadas VR1 e VR2 que, pelo seu grau de polimorfismo, são a base da subtipagem de *Neisseria meningitidis* 3,4. A identificação de VR1 e VR2 efetua-se por comparação com as sequências alélicas contidas na base de dados Neisseria MLST em www.pubmlst.org/neisseria.

A caraterização da proteína FetA (*Ferric enterobactin transport protein A*, proteína de membrana externa que funciona como um recetor do sideróforo com a mais alta afinidade para o ferro) realiza-se por amplificação e sequenciação de uma zona variável do gene *fetA* [5]. A identificação do alelo é efetuada por comparação com as sequências alélicas contidas na referida base de dados *Neisseria* MLST.

A técnica de *multilocus sequence typing* (MLST) para caraterização de *Neisseria meningitidis* inclui a amplificação e sequenciação de sete alelos de sete genes *housekeeping* (*abcZ, adk, aroE, fumC, ghd, pdhC e pgm*) [6]. O perfil alélico, que resulta da identificação dos sete alelos na ordem alfabética porque foram enumerados, é submetido à mesma base de MLST para identificação do tipo de sequência (ST) e do complexo clonal, sendo que estirpes que partilham pelo menos quatro alelos iguais pertencem ao mesmo complexo clonal.

De acordo com as recomendações do *European Meningococcal Disease Society* (EMGM) publicadas em 2007 [7], a designação do genótipo deve respeitar a seguinte nomenclatura: grupo: as duas regiões variáveis (VR) de PorA: o tipo de FetA: o tipo de sequência (ST) (o complexo clonal). A notificação Δ representa a ausência de gene e o hifem (-) significa um ST não incluído em nenhum complexo clonal. Exemplo – B:P1.5-2, Δ:F1-8:ST-16(-). Esta nomenclatura é a adotada para designar as estirpes de *Neisseria meningitidis* caraterizadas no âmbito da vigilância epidemiológica e nos boletins de resultados emitidos pelo laboratório de referência de *Neisseria meningitidis* do INSA.

O estudo de suscetibilidade aos antibióticos é realizado pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método Etest. Os critérios de interpretação qualitativa usados são os do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

2.4 Análise de dados

Neste relatório, na análise temporal de casos, considera-se a data de início de sintomas.

Para o cálculo da incidência global e por grupo etário utilizou-se como numerador o total de casos possíveis/prováveis e confirmados e como denominador a população média anual disponibilizada pelo Instituto Nacional de Estatística. Para a análise descritiva recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativas.

A análise comparativa de dados de epidemiologia molecular registados em Portugal e nos restantes países europeus notificadores para o ECDC baseia-se na informação contida na base de dados *Neisseria* MLST e no relatório do ECDC publicado em 2015 [8].

3

Resultados

No ano de 2013 registaram-se em Portugal 73 casos de doença invasiva meningocócica (DIM) e no ano de 2014 registaram-se 55 casos.

De acordo com a classificação de caso para efeitos de vigilância, dos 73 casos de DIM notificados em 2013, 61 (83,6%) tiveram confirmação laboratorial, 11 tiveram apenas notificação clínica (casos possíveis) e um caso teve notificação clínica e *link* epidemiológico (caso provável).

Em 2014, 54 casos de DIM tiveram confirmação laboratorial (98,1%) e um caso foi classificado como possível (tabela 1).

A monitorização do número de casos clínicos de DIM sem confirmação laboratorial é feita anualmente e constitui um dos parâmetros de avaliação do sistema de vigilância (figura 1).

A proporção de casos confirmados com isolamento da estirpe de *Neisseria meningitidis* em cultura variou, no período de 2011 a 2014, entre 58,1% e 73,1%. A proporção de casos confirmados por PCR variou, no mesmo período, entre 15,4% e 21,0%, observando-se uma tendência crescente na utilização deste método de confirmação. A proporção de casos com método de confirmação desconhecido variou entre 9,0% e 23,5% (figura 2).

Tabela 1 – Número total de casos de doença invasiva meningocócica, número e proporção de casos confirmados, possíveis e prováveis registados em Portugal em 2013 e 2014.

Ano de início de sintomas	Número total de casos	Número e proporção de casos confirmados	Número e proporção de casos possíveis e prováveis
2013	73	61 (83,6%)	12 (16,4%)
2014	55	54 (98,1%)	1 (1,9%)

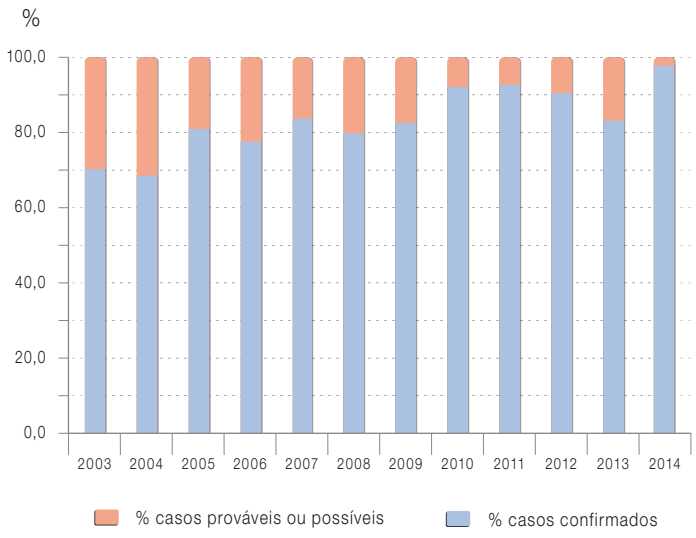


Figura 1 – Proporção de casos confirmados e prováveis ou possíveis de doença invasiva meningocócica registada em Portugal entre 2003 e 2014.

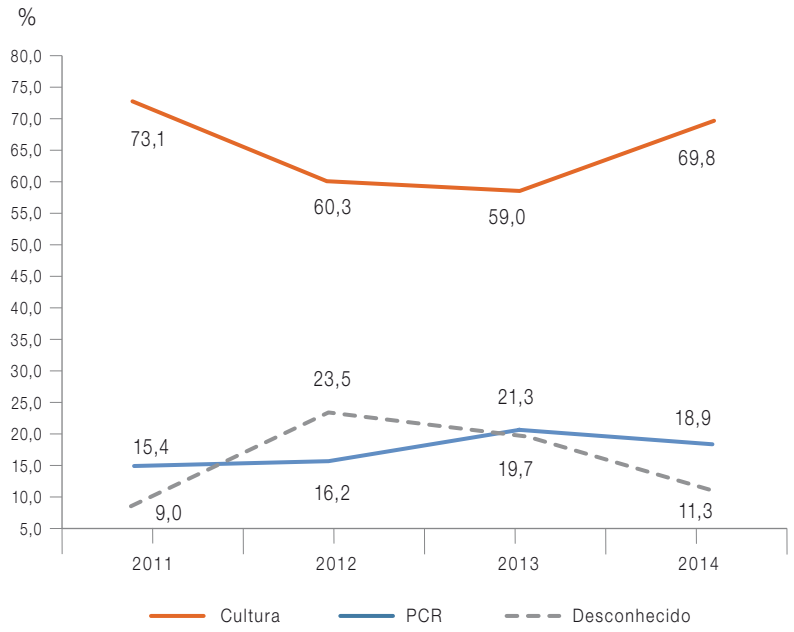


Figura 2 – Proporção de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por método de confirmação laboratorial, 2010-2014

3.1 Taxa de incidência global e por grupo etário

Considerando o total de casos notificados (confirmados e possíveis/prováveis), a incidência global de DIM por 100 mil habitantes em 2013 foi de 0,70 casos e em 2014 foi de 0,53 casos, a taxa mais baixa observada no período entre 2003 e 2014 (figura 3).

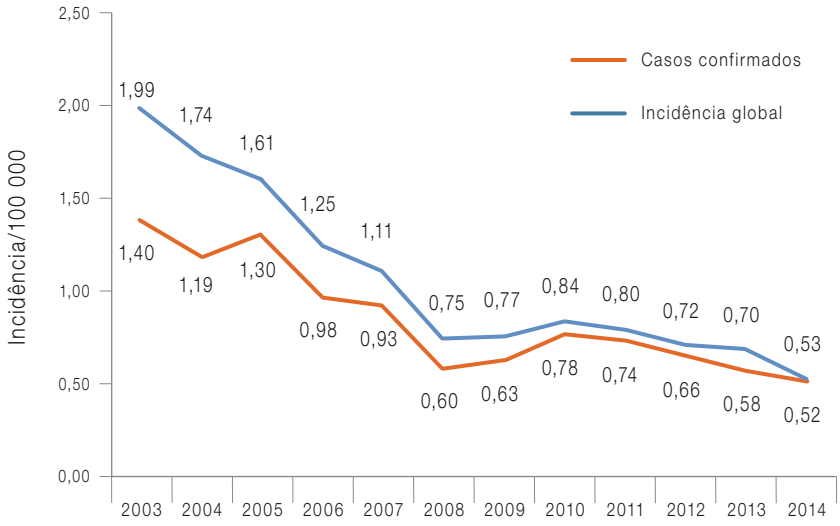
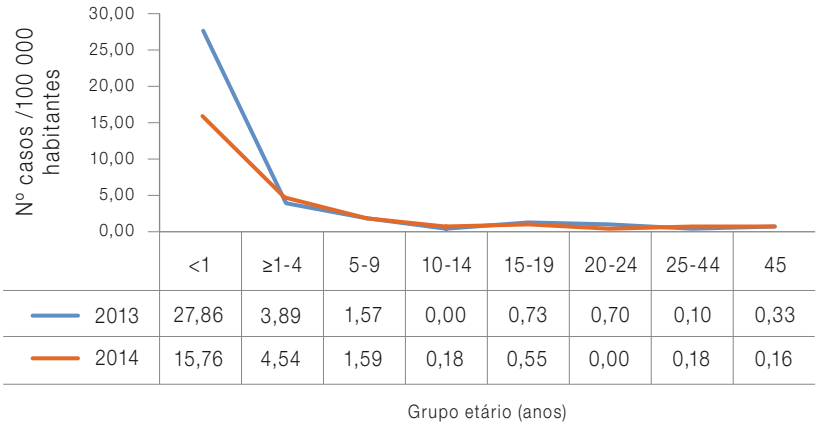


Figura 3 – Taxa de incidência global e de casos confirmados (por 100 000 habitantes) da doença invasiva meningocócica, 2003 - 2014, em Portugal

A incidência global de DIM decresceu mais acentuadamente entre 2005 e 2006 (22,4%), entre 2007 e 2008 (32,4%) e entre 2013 e 2014 (25,4%).

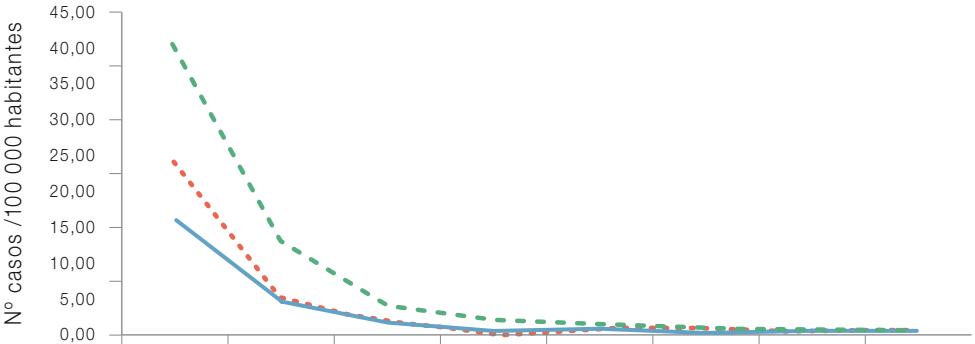
A análise da taxa de incidência por grupo etário indicou a distribuição esperada, sendo mais elevada nas crianças com menos de um ano de idade, decrescendo acentuadamente no grupo de 1 a 4 anos de idade e mantendo-se com valores muito baixos a partir dos 10-14 anos de idade. Em 2014 registou-se um decréscimo de 43,4% relativamente a 2013 na incidência da DIM no grupo etário <1 ano (figura 4).

Embora este padrão de incidência por grupo etário seja o observado desde 2003, verificou-se uma diminuição acentuada nas idades até aos 10-14 anos, quando se compara o período de 2003-2007 com os restantes (figura 5). O ano de 2014 foi considerado separadamente uma vez que foi introduzida uma nova variável, a vacina para o grupo B, utilizada a partir de abril.



	<1	≥1-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-44	45
2013	27,86	3,89	1,57	0,00	0,73	0,70	0,10	0,33
2014	15,76	4,54	1,59	0,18	0,55	0,00	0,18	0,16

Figura 4 – Incidência da doença invasiva meningocócica por grupo etário em Portugal, 2013- 2014.



	<1	1-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-44	>=45
Média 2003 - 2007	40,16	12,96	3,80	1,70	1,11	0,49	0,22	0,25
Média 2008 - 2013	24,04	5,11	1,735	0,15	0,82	0,55	0,15	0,27
2014	15,76	4,54	1,59	0,18	0,55	0,00	0,18	0,16

Figura 5 – Incidência média da doença invasiva meningocócica por grupo etário em Portugal nos anos de 2003-2007, 2008-2013 e 2014.

3.2 Caraterização genotípica de estirpes

A caraterização do grupo e do subtipo (PorA) de *Neisseria meningitidis* foi realizada em estirpes isoladas em cultura ou diretamente identificadas por PCR em amostras clínicas, nos laboratórios hospitalares ou no laboratório de referência. A caraterização do FetA e do tipo de sequência foi feita apenas em estirpes isoladas em cultura, enviadas pelos laboratórios hospitalares ao laboratório de referência. O número de estirpes caraterizadas em 2013-2014 e os alvos de caraterização estão referidos na tabela 2.

3.2.1 Distribuição de casos por grupos de *Neisseria meningitidis*

Dos 61 casos confirmados de DIM ocorridos em Portugal em 2013, em 7 (11,5%) não foi conhecido o grupo. Em 2014, dos 54 casos confirmados de DIM, em 11 (20,4%) não foi conhecido o grupo. O grupo B manteve-se predominante (tabelas 3 e 4; figura 6): 78,6% e 61,1% do total dos casos confirmados, respetivamente, em 2013 e 2014. O grupo Y é, desde 2011 o segundo mais frequente, embora numa proporção baixa (tabela 4). Em 2013 registou-se um caso por grupo W. Em 2014, quatro casos (7,4%) foram causados por estirpes não grupáveis (tabela 3 e 4). Registaram-se dois casos do grupo C em 2013 e dois casos em 2014. Destes quatro casos, três registaram-se em adultos com idades compreendidas entre 23 e 65 anos e um caso, em 2014, numa criança de 5 meses. Nenhum destes doentes estava vacinado.

A análise comparativa do número de casos ocorridos em Portugal no período de 12 anos, entre 2003 e 2014, por grupo (tabela 4) e por grupo etário (tabela 5), indicou um decréscimo de casos por *Neisseria meningitidis* do grupo C a partir de 2004, particularmente acentuado a partir de 2007, nos grupos etários até aos 10-14 anos (figura 7). Verificou-se também um decréscimo dos casos por *Neisseria meningitidis* do grupo B a partir de 2008, particularmente entre os 0 e os 4 anos de idade (tabelas 4 e 6, figuras 6 e 7).

Tabela 2 – Número de estirpes de *Neisseria meningitidis* por alvo de caraterização e sua proporção relativamente ao total de estirpes identificadas (por cultura ou PCR).

Ano de isolamento	Nº total de estirpes identificadas (casos confirmados)	Grupo		Subtipo		FetA		MLST (cc)	
		nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
2013	61	54	88,5	46	75,4	37	60,7	35	57,4
2014	54	43	79,6	43	79,6	36	66,7	33	61,1

Tabela 3 – Número e proporção de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por grupo de *Neisseria meningitidis*, ocorridos em Portugal, 2013-2014.

Ano de isolamento	Grupo B	Grupo C	Grupo Y	Grupo W	NG	Desconhecido	Total casos confirmados
2013	48 (78,6%)	2 (3,3%)	3 (4,9%)	1 (1,6%)	0	7 (11,5%)	61
2014	33 (61,1%)	2 (3,7%)	4 (7,4%)	0	4 (7,4%)	11 (20,4%)	54

Tabela 4 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por grupo, ocorridos em Portugal, 2003-2014.

Ano de isolamento	A	B	C	W135	Y	NGA	Desconhecido	Total geral
2003	2	70	51	6	0	2	15	146
2004	2	93	15	4	4	–	7	125
2005	0	98	16	2	2	2	17	137
2006	0	77	15	1	5	1	4	103
2007	0	82	4	1	3	1	7	98
2008	1	57	0	0	3	1	1	63
2009	1	58	1	0	2	0	5	67
2010	2	49	6	0	0	3	22	82
2011	0	55	2	0	10	1	10	78
2012	0	45	3	1	4	2	14	69
2013	0	48	2	1	3	0	7	61
2014	0	33	2	0	4	4	11	54
Total geral	8	765	117	16	40	17	120	1083

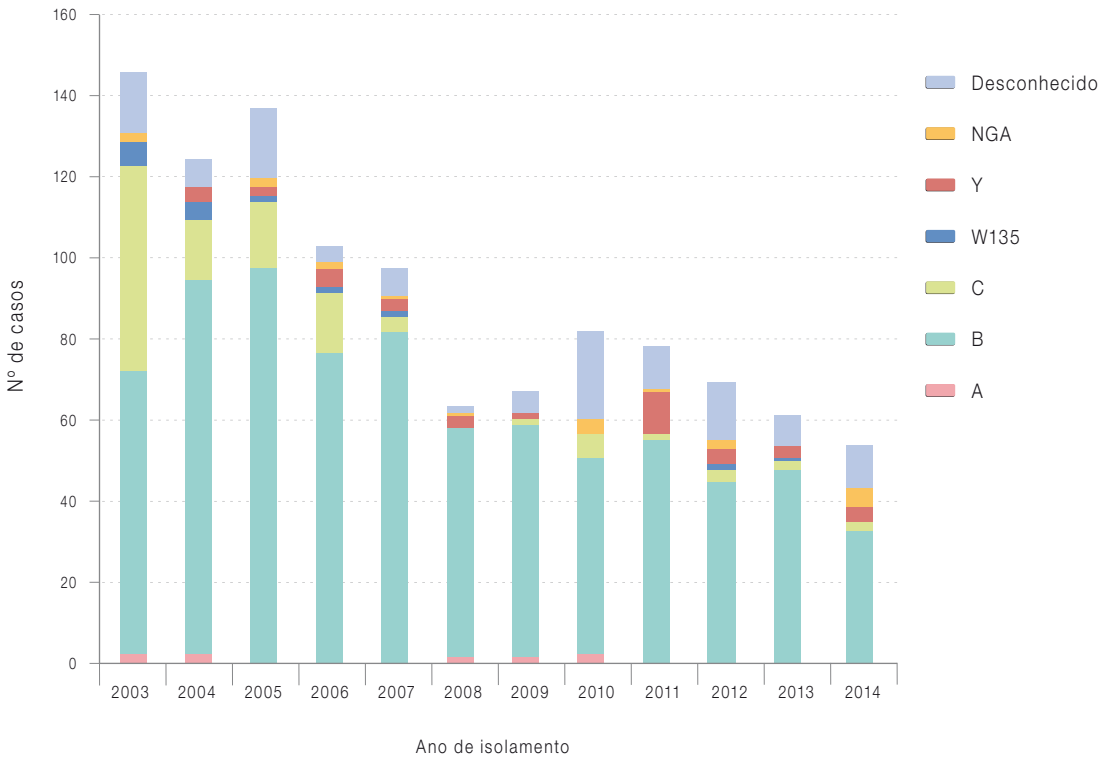


Figura 6 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica por grupo e por ano em Portugal e (2003-2014).

Tabela 5 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica do grupo C por grupo etário, ocorridos em Portugal, 2003-2014.

Classes etárias (anos)	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
0	9	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	19
1-4	17	5	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	28
5-9	9	1	5	2	1	0	0	2	0	0	0	0	20
10-14	4	2	2	2	0	0	0	0	1	0	0	0	11
15-19	5	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	9
20-24	0	0	1	3	1	0	0	0	0	1	1	0	7
25-44	5	1	1	2	0	0	1	1	0	2	0	0	13
≥45	2	0	0	1	1	0	0	3	1	0	1	1	10
Total	51	15	16	15	4	0	1	6	2	3	2	2	117

Tabela 6 – Número de casos confirmados de doença invasiva meningocócica do grupo B por grupo etário, ocorridos em Portugal, 2003-2014.

Classes etárias (anos)	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
0 anos	25	34	33	26	21	18	17	13	19	12	21	10	249
1-4 anos	29	37	24	35	37	23	21	13	12	21	10	9	271
5-9 anos	9	9	13	6	9	9	6	9	5	4	5	5	89
10-14	1	3	9	0	4	1	1	0	3	0	0	1	23
15-19	0	2	7	2	1	2	4	4	2	3	3	2	32
20-24	1	1	1	1	2	0	1	1	4	0	2	0	14
25-44	1	3	5	3	2	1	3	2	2	3	1	4	30
≥45	3	4	6	4	6	3	4	7	8	2	6	2	55
Desconhecida	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
Total	70	93	98	77	82	57	58	49	55	45	48	33	765

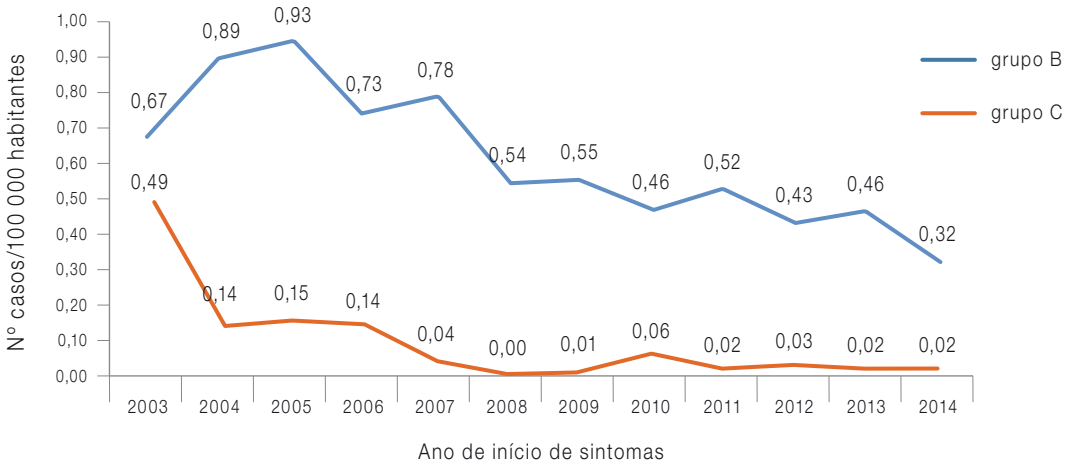


Figura 7 – Evolução da incidência da doença invasiva meningocócica por estirpes dos grupos B e C, ocorrida em Portugal entre 2003 e 2014

A partir de janeiro de 2006, data a partir da qual a vacina contra a DIM do grupo C (MenC) foi introduzida no PNV, ocorreram 35 casos de DIM do grupo C, 15 dos quais em 2006 (tabela 4 e 5). A situação vacinal destes 35 doentes era a seguinte:

- 27 não vacinados (77,1%);
- 2 com esquema de vacinação completo (5,7%) (um em 2007, com 23 meses de idade e um em 2010, com 8 anos de idade);
- 6 com estado vacinal desconhecido (17,1%) (4 destes não tinham idade para estarem vacinados segundo o PNV ou a campanha).

No período entre 2006 (ano de introdução da vacina MenC no PNV e início da campanha de vacinação dos menores de 19 anos de idade) e 2013 não ocorreram casos de DIM por estirpes do grupo C em crianças menores de 1 ano de idade. Em 2014 ocorreu um caso numa criança de 5 meses de idade.

No período entre 2003 e 2014, de 1083 casos confirmados de DIM, 299 (27,6%) ocorreram em menores de 12 meses de idade, dos quais 277 (92,6%; 277/299) com grupo identificado. *Neisseria meningitidis* do grupo B foi responsável por 249 destes casos (90,0%) (tabelas 6 e 7) e *N. meningitidis* do grupo C foi responsável por 19 casos (6,4%; 19/299) (tabela 5).

Verificou-se que entre 2003 e 2013 a DIM por grupo B tem um perfil caraterístico, com um pico de incidência aos seis meses de idade.

Em crianças menores de um ano de idade, entre 2003 e 2013, 67,1% (159/237) dos casos de DIM por grupo B ocorreram até aos seis meses de idade.

Dado que em 2014 foi iniciada a comercialização da vacina contra a doença invasiva meningocócica do grupo B (MenB), uma nova variável na epidemiologia da doença, considerou-se isoladamente a distribuição de casos por mês de idade no primeiro ano de vida em 2014, verificando-se um pico no número de casos aos quatro meses seguido de um decréscimo até aos 9 meses de idade (figura 8).

Tabela 7 – Número de casos acumulados de doença invasiva meningocócica do grupo B por mês de idade, no grupo etário <12 meses entre 2003 e 2013 e número de casos por grupo B no mesmo grupo etário em 2014, em Portugal.

Idade (meses)	Nº casos B acumulados 2003-2013	Nº casos B 2014
0	10	0
1	19	0
2	10	0
3	22	1
4	25	3
5	34	1
6	39	1
7	22	0
8	21	0
9	10	0
10	13	1
11	12	3

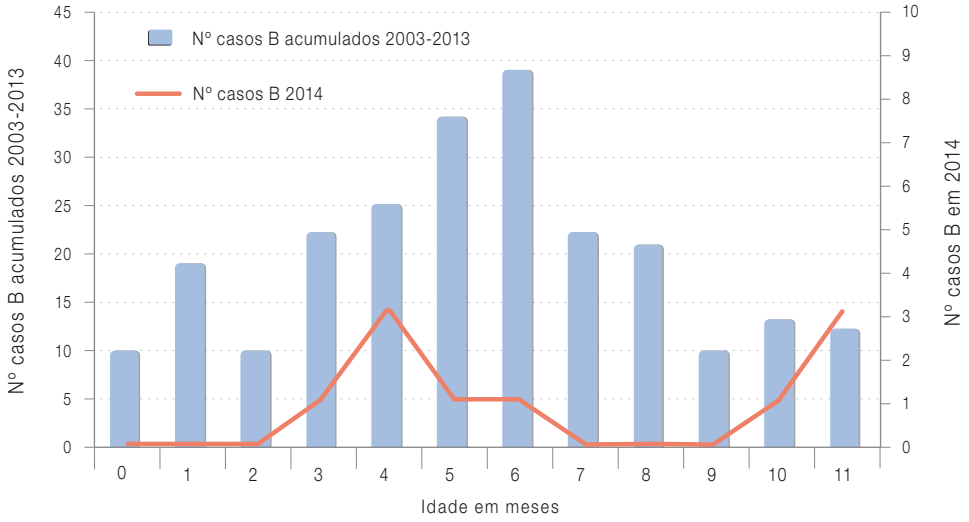


Figura 8 – Número de casos acumulados de doença invasiva meningocócica do grupo B no primeiro ano de vida, em Portugal, por mês de idade, no período de 2003 a 2013 e número de casos registados em 2014, por mês de idade.

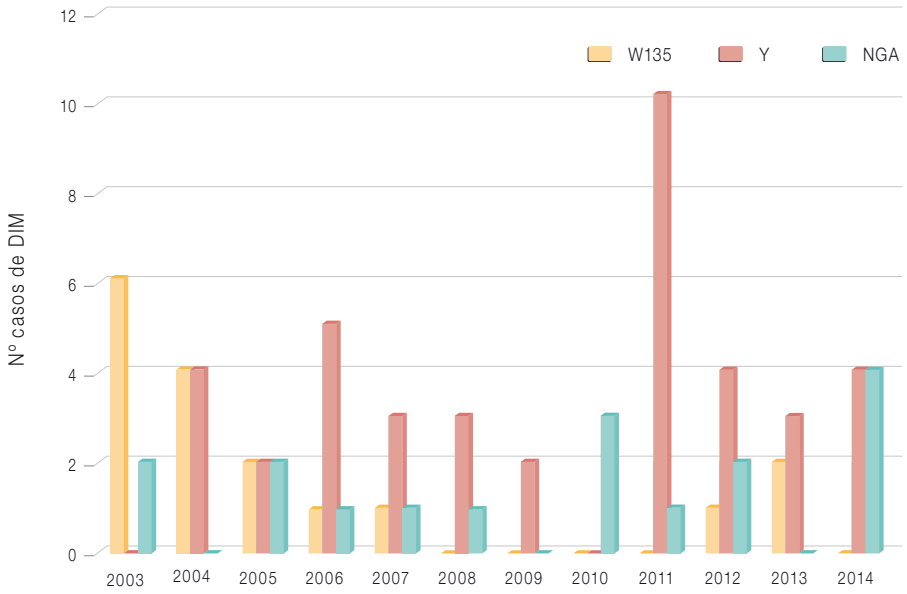


Figura 9 – Evolução anual do número de casos de doença invasiva meningocócica por estirpes dos grupos Y, W135 e não grupáveis, ocorrida em Portugal entre 2003 e 2014.

O número de casos de DIM por *Neisseria meningitidis* dos grupos A e W135 tem sido sempre baixo ou nulo. O número de casos de DIM por *Neisseria meningitidis* do grupo Y subiu acentuadamente em 2011, descendo em 2012 e mantendo-se em valores próximos dos observados no início do período em análise. O número de casos de DIM por *Neisseria meningitidis* não grupáveis (NGA) não tem sofrido alterações relevantes (figura 9).

3.2.2 Caraterização do subtipo (proteína PorA)

De entre a diversidade de subtipos das estirpes do grupo B isoladas em 2013 e 2014, os dois mais frequentes foram P1.7-2,4 (25,4%) e P1.22,14 (18,3%) (tabela 8, figura 10).

A proteína PorA da família 4 (PorA 1.4), um dos constituintes da vacina tetravalente 4CMenB, tem sido identificada apenas em estirpes de *Neisseria meningitidis* do grupo B. No período entre 2006 (ano de início da caraterização do subtipo por sequenciação do gene *porA*) e 2014 observa-se uma tendência crescente na sua proporção relativamente ao total de estirpes invasivas do grupo B (figura 11).

Tabela 8 – Famílias e variantes das regiões variáveis 1 e 2 da proteína PorA de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo B isoladas em Portugal em 2013 e 2014.

VR1		
Família/variante	Nº estirpes	%
7-2	23	32,4
22	19	26,8
19-2	4	5,6
18-1	4	5,6
22-1	4	5,6
19-1	3	4,2
7-1	3	4,2
5-1	2	2,8
Outros	9	12,7

VR2		
Família/variante	Nº estirpes	%
4	19	26,8
14	16	22,5
14-6	3	4,2
13-1	8	11,3
9	4	5,6
1	3	4,2
15-11	2	2,8
16	2	2,8
3	2	2,8
Outros	12	16,9

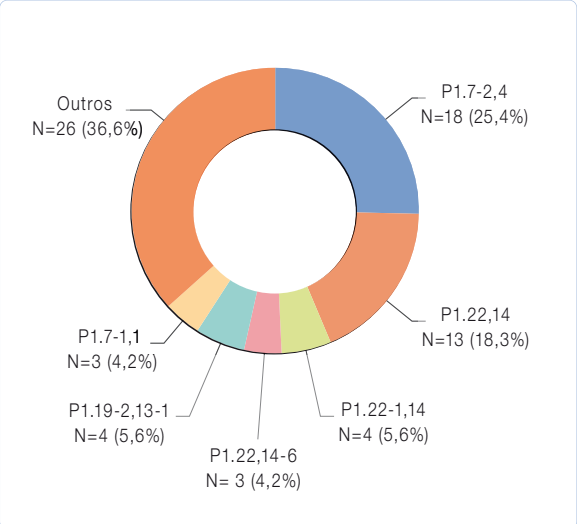


Figura 10 – Proporção de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo B, por subtipo (proteína PorA), em Portugal, em 2013 e 2014.

Figura 11 – Proporção de estirpes com PorA 1.4 relativamente ao total de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo B em Portugal, 2006-2014.

Três das 4 estirpes de *Neisseria meningitidis* do grupo C isoladas em Portugal em 2013 e 2014 tinham o subtipo P1.5,2. A estirpe não caraterizada não foi enviada ao laboratório de referência (tabela 9).

Seis das sete estirpes de *Neisseria meningitidis* do grupo Y isoladas em 2013 e 2014 apresentaram um carater clonal: possuíam proteínas da família 5 (variantes 1 e 2) na zona variável 1 e proteínas da família 10 (variantes 1, 2, 4 e 12) na zona variável 2 (figura 12).

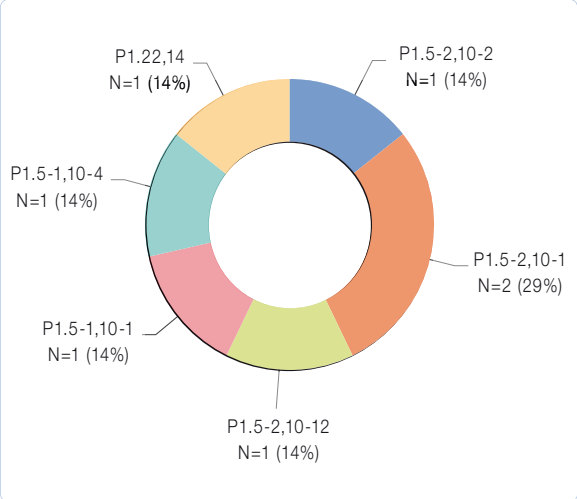


Figura 12 – Subtipos (proteína PorA) de *Neisseria meningitidis* do grupo Y responsáveis por doença invasiva meningocócica em Portugal, 2013-2014.

3.2.3 Caraterização da proteína FetA

Nas estirpes isoladas em 2013 e 2014, a caraterização da zona variável da proteína FetA apresentou uma grande diversidade genética, com predomínio de F1-5 (20,5%) (figura 13), identificado apenas em estirpes do grupo B. Todas as estirpes F3-3 (3 estirpes) eram do grupo C (tabela 9). Das 11 estirpes com a proteína F4-1, 6 eram do grupo Y e 5 do grupo B.

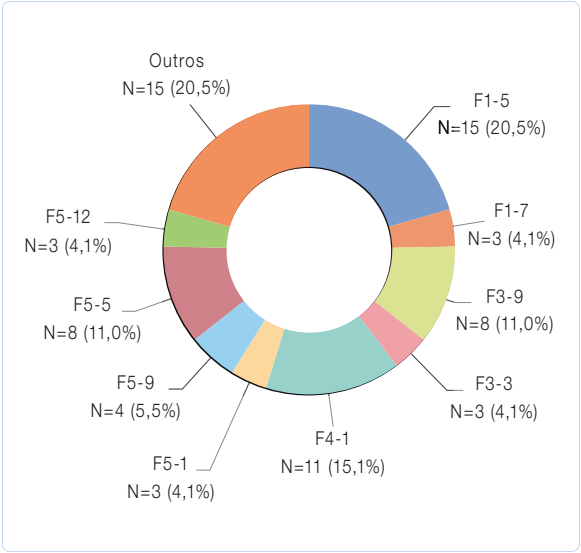


Figura 13 – Proporção de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* por variante da proteína FetA em Portugal, 2013-2014.

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

As estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* isoladas em Portugal entre 2013 e 2014 apresentaram uma grande diversidade de tipos de sequência. No seu conjunto, 48,5% foram caraterizadas como hipervirulentas (estirpes associadas a doença particularmente grave). O complexo clonal mais frequente foi o cc ST-41/44, sempre associado ao grupo B e representou cerca de um quarto das estirpes caraterizadas. Uma das seis estirpes não associadas a nenhum cc (-) era do grupo Y e as restantes eram do grupo B (figura 14).

Todas as estirpes do cc ST-23 eram do grupo Y e representaram 7,4% do total de estirpes caraterizadas. Das estirpes do cc ST-11 (4,4%), duas eram do grupo C, cujo genótipo completo se apresenta na tabela 9, e uma estirpe era do grupo W135.

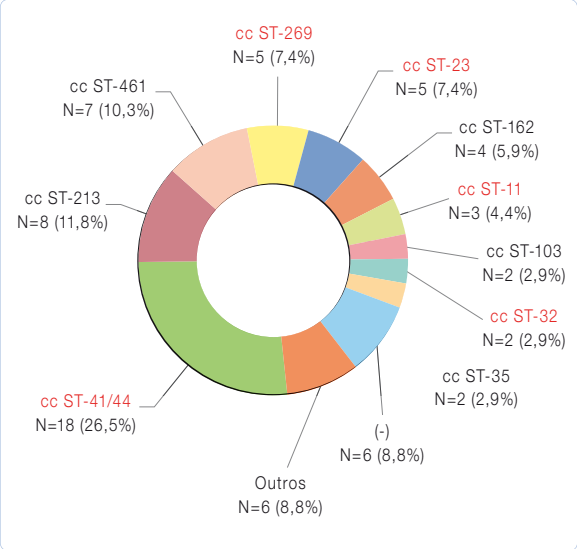


Figura 14 – Proporção de estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* por complexo clonal (cc), em Portugal, 2013-2014. Estão assinalados a vermelho os cc hipervirulentos.

Tabela 9 – Genótipo das quatro estirpes invasivas de *Neisseria meningitidis* do grupo C isoladas em Portugal, 2013-2014

Ano de início de sintomas	Idade	Genótipo
2013	23 anos	Desconhecido
	57 anos	C:P1.5,2:F3-3:ST-11(cc11)
2014	5 meses	C:P1.5,2:F3-3:ST-11(cc11)
	65 anos	C:P1.5,2:F3-3:ST-60(cc60)

3.3 Estudo de suscetibilidade aos antibióticos

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

Desde 2009 que o laboratório nacional de referência para *Neisseria meningitidis*, no INSA, procede ao estudo sistemático da suscetibilidade de *Neisseria meningitidis* aos antibióticos. Todas as estirpes estudadas foram sensíveis ao Ceftriaxone, à Rifampicina e à Ciprofloxacina. Contudo, relativamente à Penicilina, tem-se observado o aumento da proporção de estirpes com CIM >0,064 e <0,25 mg/L, valor interpretável como suscetibilidade intermédia (figura 15). O valor mais alto de CIM foi de 0,94 mg/L, observado em 2009 (uma estirpe) e em 2014 (uma estirpe).

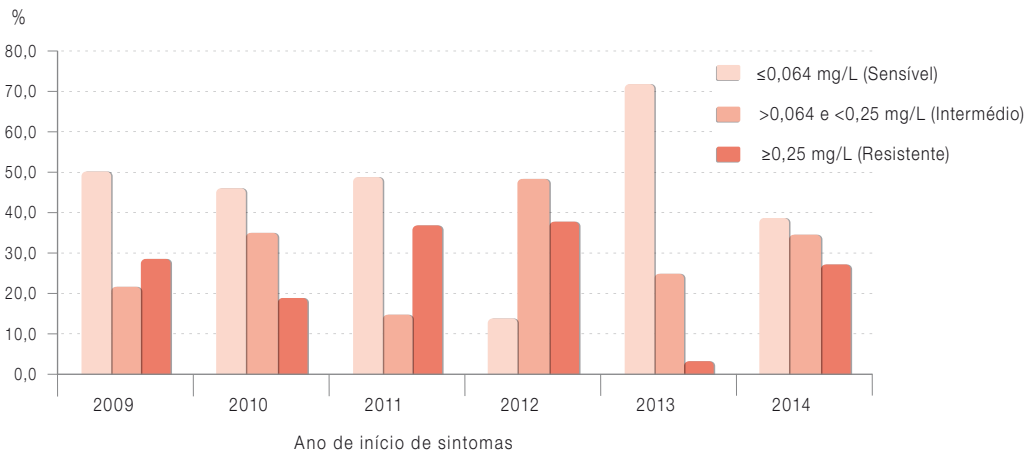


Figura 15 – Evolução da proporção de estirpes de *Neisseria meningitidis* suscetíveis (CIM ≤0,064 mg/L), com suscetibilidade intermédia (CIM >0,064 e <0,25 mg/L) e resistentes (≥0,25 mg/L) à Penicilina, Portugal, 2009-2014.

3.4 Óbitos

Em 2013 e 2014 registaram-se 9 óbitos por DIM, 4 em 2013 e 5 em 2014. Dos 9 óbitos, em apenas 1 (em 2013) não foi possível confirmar DIM laboratorialmente (caso possível). A caraterização das estirpes respetivas encontra-se na tabela 10.

Durante os 12 anos de existência do Programa de Vigilância, registaram-se 94 óbitos, 62 (66,0%) em casos confirmados e 32 (34,0%) em casos possíveis/prováveis (tabela 11).

Tabela 10 – Caraterização dos casos de DIM com óbito, registados entre 2013 e 2014.

Ano de início de sintomas	Idade	Sexo	Quadro clínico	Grupo	Complexo Clonal (MLST)
2013	4 meses	F	Sépsis	B	ST-41/44
	6 meses	F	Sépsis	B	Desc.
	57 anos	F	Meningite	C	ST-11
	78 anos	F	Meningite	Desc.	Desc.
2014	1 anos	M	Sépsis	B	NR
	5 anos	F	Meningite	Y	ST-23
	12 anos	M	Sépsis	B	ST-41/44
	65 anos	F	Sépsis	C	ST-60
	72 anos	F	Meningite	Y	ST-103

Tabela 11 – Número de óbitos em casos confirmados, em casos possíveis/prováveis e total de óbitos por doença invasiva meningocócica, por ano, em Portugal, entre 2003 e 2012.

Ano	Total óbitos	Óbitos em casos confirmados	Óbitos em casos possíveis/prováveis	% Óbitos em casos não confirmados
2003	22	11	11	50,0
2004	8	5	3	37,5
2005	11	8	3	27,3
2006	11	7	4	36,4
2007	11	7	4	36,4
2008	5	2	3	60,0
2009	5	3	2	40,0
2010	2	2	0	0,0
2011	8	7	1	12,5
2012	2	2	0	0,0
2013	4	3	1	25,0
2014	5	5	0	0,0
Total	94	62	32	34,0

Em 2013-2014, dos 4 casos ocorridos por DIM do grupo C, 2 faleceram. Do total de 62 óbitos por DIM confirmada ocorridos nos anos 2003 a 2014, a maior parte ocorreu na sequência de DIM por *N. meningitidis* do grupo B, o grupo mais incidente. Em 8 casos com óbito (12,9%) não foi possível determinar o grupo por falta de envio da estirpe ao INSA (figura 16). Em 2014, o número de óbitos por DIM do grupo B (2 óbitos) igualou o número de óbitos por estirpes do grupo Y.

Entre 2003 e 2014 a taxa de letalidade da doença invasiva meningocócica variou entre 2,2% e 10,6% (média de 7,0%). A taxa de letalidade foi mais elevada entre os casos possíveis/prováveis (12,2%) do que entre os casos confirmados (5,7%) (tabela 12).

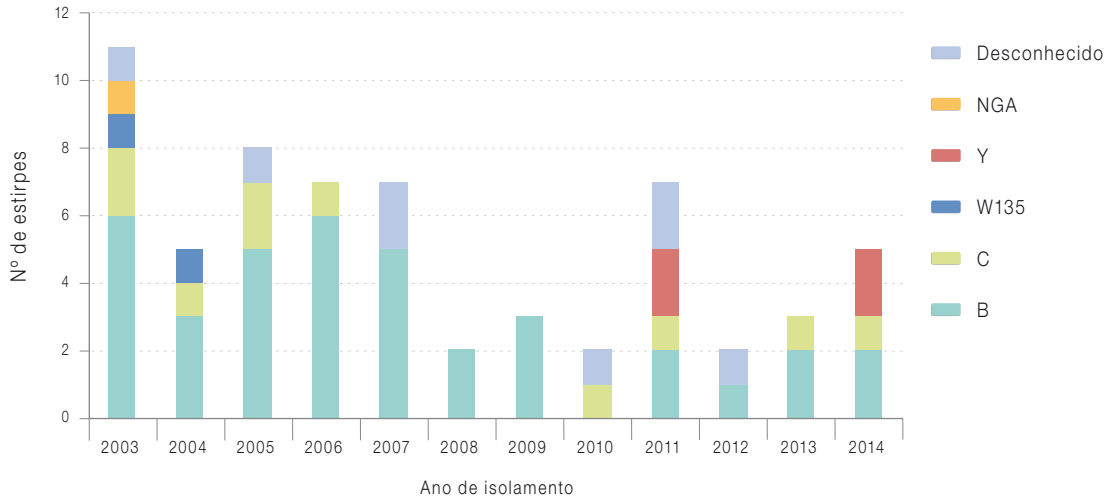


Figura 16 – Número de óbitos em casos confirmados por doença invasiva meningocócica por ano e por grupo, em Portugal, 2003-2014

Tabela 12 – Número de casos, óbitos e taxa de letalidade, em casos confirmados, em casos possíveis/prováveis e no total de casos notificados de doença invasiva meningocócica, por ano, em Portugal, 2003-2014.

Ano	Casos confirmados			Casos possíveis/prováveis			Total de casos		
	Óbitos	Casos	Letalidade %	Óbitos	Casos	Letalidade %	Óbitos	Casos	Letalidade global %
2003	11	146	7,5	11	62	17,7	22	208	10,6
2004	5	125	4,0	3	57	5,3	8	182	4,4
2005	8	137	5,8	3	32	9,4	11	169	6,5
2006	7	103	6,8	4	29	13,8	11	132	8,3
2007	7	98	7,1	4	19	21,1	11	117	9,4
2008	2	63	3,2	3	16	18,8	5	79	6,3
2009	3	67	4,5	2	14	14,3	5	81	6,2
2010	2	82	2,4	0	7	0,0	2	89	2,2
2011	7	78	9,0	1	6	16,7	8	84	9,5
2012	2	69	2,9	0	7	0,0	2	76	2,6
2013	3	61	4,8	1	12	8,3	4	73	5,5
2014	5	54	9,3	0	1	0,0	5	55	9,1
Total	62	1083	5,7	32	262	12,2	94	1345	7,0

Quando analisada por grupo etário, entre 2003 e 2014 observa-se um valor mínimo de letalidade no grupo dos 15 aos 19 anos (3%). A partir dos 45 anos a taxa de letalidade é crescente, atingindo valores superiores a 30% (tabela 13, figuras 17-18).

Tabela 13 – Incidência e letalidade da DIM por grupo etário em Portugal, 2003-2014.

Grupo etário	Incidência por 100 000	Letalidade %
<1 ano	28,7	7,3
1-4	9,3	4,9
5-9	2,4	4,6
10-14	0,8	7,0
15-19	0,9	3,0
20-24	0,4	9,1
25-44	0,2	11,1
>=45	0,2	16,4

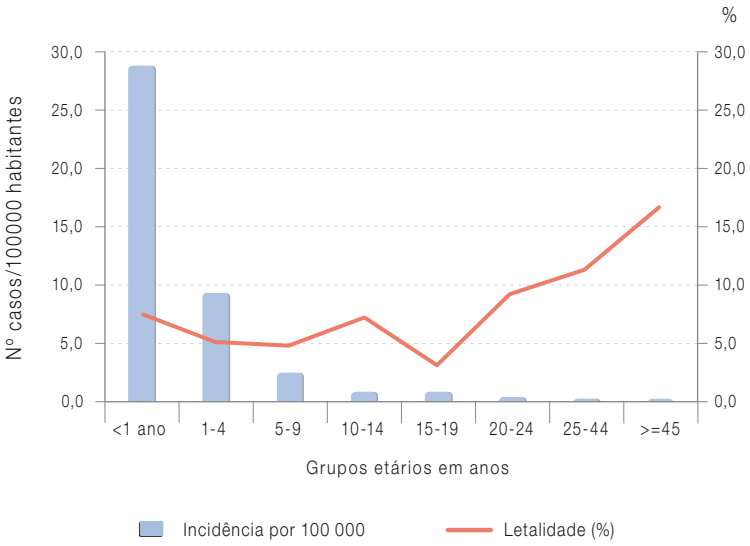


Figura 17 – Incidência e taxa de letalidade da DIM por grupo etário em Portugal entre 2003 e 2014.

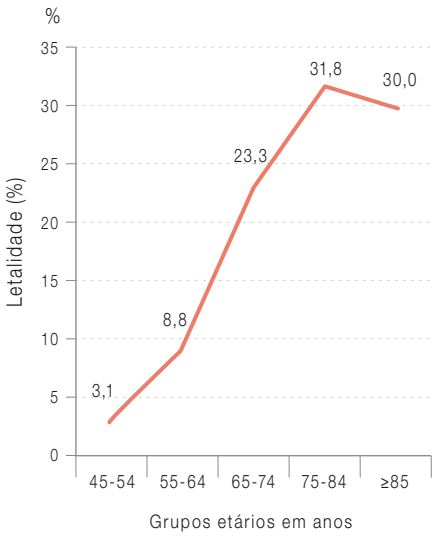


Figura 18 – Taxa de letalidade da DIM em adultos com idade superior ou igual a 45 anos em Portugal entre 2003 e 2014.

4

Discussão

4.1 Taxa de incidência global e por grupo etário

A confirmação de casos e a consequente caraterização de estirpes é essencial para a qualidade dos dados do Programa de vigilância epidemiológica da DIM, os quais constituem a base da fundamentação de políticas de prevenção e controlo e da monitorização do seu impacte. No período de 12 anos, entre 2003 e 2014, observou-se uma tendência crescente na proporção de casos de DIM com confirmação laboratorial (figura 1). Esta mesma tendência verificou-se nos restantes países europeus até 2009, data a partir da qual a notificação da DIM ao TESSy passou a considerar apenas casos confirmados [8].

As taxas de incidência global da DIM registadas em Portugal em 2013 e 2014, 0,70 e 0,53 casos por 100 mil habitantes, respetivamente (incidência de casos confirmados por 100 mil habitantes de 0,59 e 0,51, respetivamente), são valores semelhantes ao valor da última estimativa para a Europa (0,68/100 000), em 2012 [8] e confirma a tendência decrescente que tem vindo a ser observada (figura 19);

Esta tendência decrescente deveu-se principalmente à diminuição da incidência da DIM causada por estirpes do grupo C, observada desde 2004, devida, inicialmente, à vacinação por iniciativa dos pais e pediatras desde o inverno de 2002-2003. O decréscimo foi particularmente acentuado a partir de 2007 nos grupos etários até aos 10-14 anos, após a introdução da vacina MenC no Programa Nacional de Vacinação (PNV) em 2006, acompanhada por uma campanha de vacinação até aos 18 anos de idade, inclusive (coortes de nascidos a partir de 1989, inclusive), decorrida nos anos 2006-2007 (estendida até 2008). De facto, em janeiro de 2007 a cobertura vacinal nas coortes abrangidas até aí pelo PNV e campanha (nascidos entre 1997 e 2004) variava entre 80% e 95,2% [9]. Em consequência, em Portugal, a partir de 2007 e até 2014 registaram-se apenas casos esporádicos por estirpes do grupo C, principal-

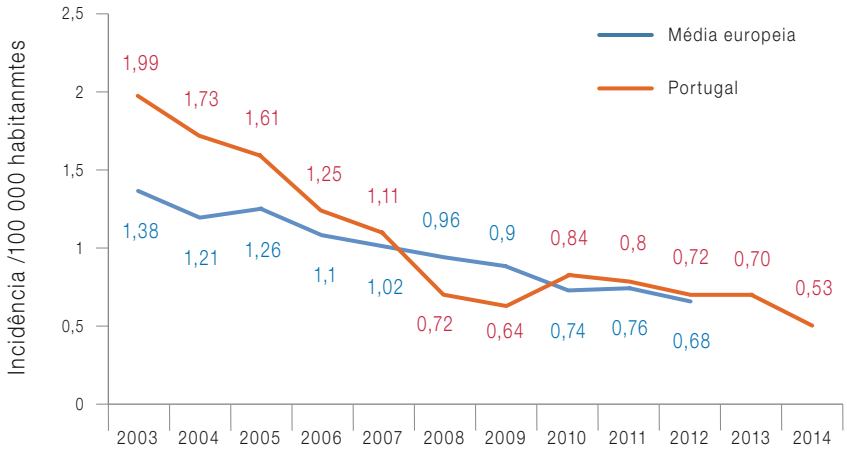


Figura 19 – Evolução da incidência de DIM observada em Portugal no período entre 2003 e 2014 e no total de 29 países europeus notificadores ao TESSy, ECDC, no período de 2003 a 2012, (a partir de 2010 os dados europeus referem-se apenas a casos confirmados).

mente em adultos com 20 ou mais anos de idade (não vacinados), uma vez que a maioria dos nascidos a partir de 1989 está protegida pela vacinação (coberturas vacinais variam entre cerca de 80% e 99%, dependendo da coorte), conferindo imunidade de grupo. Semelhante fenómeno foi observado nos outros países europeus que introduziram a vacina MenC no seu calendário de vacinação [10].

Em termos de distribuição etária, a taxa de incidência mais elevada de DIM observa-se em crianças menores de um ano, decresce até ao grupo etário 10-14 anos e regista um ligeiro pico secundário em adolescentes entre 15 e 19 anos.

4.2 Distribuição de casos por grupos de *Neisseria meningitidis*

Embora a proporção de casos de DIM com confirmação laboratorial tenha vindo a aumentar desde 2003, observa-se, desde 2010, uma tendência crescente na proporção de casos confirmados sem identificação do grupo (figura 6). Este facto resulta do não envio ao INSA de estirpes ou de amostras clínicas pelos laboratórios hospitalares, conforme está estabelecido no Programa Nacional de Vigilância Epidemiológica Integrada da DIM (Circular Normativa da DGS nº 13/DEP, de 5 de setembro de 2002 [2]). Consequentemente, também não é realizada a caraterização de outros marcadores moleculares com importância na monitorização da circulação de estirpes invasivas de *N. meningitidis*. Este é um dado desfavorável na avaliação do sistema de vigilância, e com impacte negativo no acompanhamento da epidemiologia da DIM, dificultando decisões em termos de estratégias vacinais. Poderão colocar-se como hipóteses de não envio de material biológico ao INSA a reorganização dos laboratórios hospitalares, a contenção de custos de envio e o aumento do número de laboratórios hospitalares capacitados para realizar a pesquisa de *N. meningitidis* por PCR, contudo sem a caraterização necessária.

Em Portugal, desde 2003 as estirpes de *N. meningitidis* do grupo B têm sido as mais frequentemente responsáveis por doença invasiva, apesar da sua incidência apresentar também uma tendência decrescente. Embora menos acentuada, esta tendência é também observada no conjunto dos 29 países europeus notificadores ao TESSy [8].

O grupo etário mais afetado por DIM do grupo B é o das crianças menores de um ano. É, por conseguinte, especialmente importante identificar a distribuição de grupos de *N. meningitidis* responsáveis por DIM neste grupo etário, uma vez que já existe a vacina contra a DIM do grupo B. Sem medidas de controlo, em Portugal, a DIM por grupo B nas crianças menores de um ano tinha um perfil de distribuição etária característico, com um pico máximo aos seis meses de idade (2003-2013). Este perfil é semelhante ao de outros países europeus, aqui exemplificado com a distribuição dos casos de DIM por mês de idade no Reino Unido em 2012 (figura 20) [11] e deve ser tido em consideração sempre que se equacionarem os esquemas de vacinação a adotar para proteção individual e eventual controlo da DIM por grupo B.

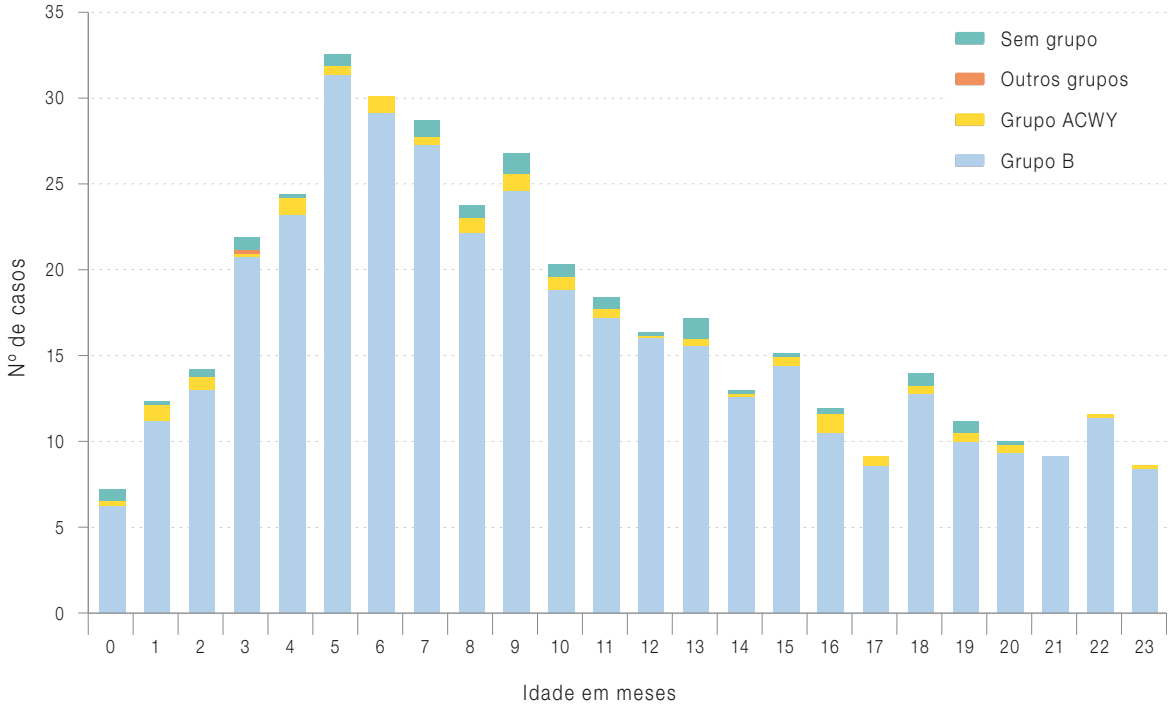


Figura 20 – Distribuição do número de casos de doença invasiva meningocócica por grupo B, ACWY e outros, por mês de idade em crianças menores de dois anos no Reino Unido, 2012. (Fonte: Ladhani SN *et al.* [11]).

O perfil da DIM por estirpes do grupo B observado em Portugal em 2014 em crianças menores de 12 meses parece indicar um pico mais precoce, no entanto, com o reduzido número de casos notificados não é possível estabelecer qualquer relação entre estes resultados e a introdução da vacina MenB no mercado livre nacional em abril de 2014.

Desde 2011 que a DIM causada por estirpes do grupo Y é a segunda mais frequente no país. Estas estirpes são emergentes na Europa desde o início dos anos 2000 e têm um carater clonal, hipervirulento (cc ST-23) e endémico [12].

Em 2014 registou-se um caso de DIM por estirpe do grupo C numa criança com menos de 12 meses de idade, o primeiro desde 2005. A alteração do esquema vacinal da vacina MenC no PNV, em 2012, passando de 3 doses (aos 3, 5 e 15 meses de idade) para uma única, aos 12 meses de idade baseou-se na existência de imunidade de grupo na população. A par desta alteração, é recomendada a monitorização do risco de transmissão de *N. meningitidis* na comunidade, por exemplo através da taxa de portadores na população de adolescentes e adultos [13]. Os resultados destes estudos permitirão informar sobre a eventual necessidade de reajustar o esquema vacinal da MenC no PNV.

4.3 Caraterização de genótipos

A população de *Neisseria meningitidis* é caracteristicamente diversa e dinâmica. Estirpes emergem esporadicamente da população bacteriana e lentamente diversificam-se à medida que vão acumulando alterações dispersas no genoma (resultantes de recombinação genética ou de mutações). A técnica de *multilocus sequence typing* (MLST) permite avaliar o peso relativo dos fenómenos de recombinação e de mutação ocorridos ao longo do processo de diversificação clonal, identificar clones hipervirulentos (HV) existentes ou emergentes e a sua dispersão geográfica. As linhagens hipervirulentas definidas como as que estão associadas a doença particularmente grave [6], agrupam-se, maioritariamente, num número limitado de complexos clonais: ST-8, ST-11, ST-32, ST-41/44 e ST-269 [6]. A letalidade por DIM pode estar associada à presença de genótipos particularmente virulentos mas também é afetada por fatores relacionados com o hospedeiro, como a idade e a existência de co-morbilidades.

As estirpes de *N. meningitidis* do grupo B têm apresentado, desde 2003, uma grande diversidade de subtipos. Observa-se uma tendência crescente no número de estirpes contendo a família 4 da zona variável 2 da proteína de membrana externa PorA, um dos alvos da vacina tetravalente MenB. No biénio 2013-2014, esta proteína foi a mais frequente (26,8%) nas estirpes do grupo B.

À semelhança do que se passa nos restantes países europeus, as estirpes de *N. meningitidis* do grupo Y identificados em Portugal são maioritariamente do complexo clonal hipervirulento ST-23 (75% das estirpes do grupo Y) o que sugere a emergência de um novo clone bem adaptado e endémico.

4.4 Óbitos

A taxa de letalidade por DIM registada anualmente em Portugal (casos possíveis, prováveis e confirmados) foi muito variável por se registar um reduzido número de óbitos. No período de 2003 a 2014 regista-se a taxa de letalidade de 7,0%, valor mais consistente e comprável com os 7,9% registados, no total de 20 países europeus, em 2012 [8].

No período de 2003-2014, a letalidade foi mais elevada em casos possíveis/prováveis (12,2%) do que em casos confirmados (5,7%), (32 óbitos não chegaram a ter confirmação laboratorial) e em 8 óbitos por DIM confirmada laboratorialmente não foi identificado o grupo. Este fenómeno pode estar associado a doença mais grave, com uma evolução mais rápida, em que não foi possível a recolha atempada de amostra para confirmação do caso ou caraterização da estirpe.

De acordo com o esperado, as mais elevadas taxas de letalidade observadas entre 2003 e 2014 registaram-se em indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos. Contudo, uma vez que os óbitos considerados neste relatório são os que foram comunicados à DGS através das notificações clínicas e inquéritos epidemiológicos, não corrigido com os óbitos que ocorreram após esses registos, o seu número está seguramente subavaliado.

5

Conclusões

A incidência da doença invasiva meningocócica (DIM) tem decrescido desde 2003, especialmente nos anos 2005-2006 (22,4%), 2007-2008 (32,4%) e 2013-2014 (25,4%).

A incidência da DIM por grupo C em Portugal decresceu consistentemente entre 2003 e 2007 devido à utilização da vacina MenC no mercado livre (desde 2002), no PNV (desde 2006) e na Campanha de Vacinação (2006-2007), o que tornou esporádica a DIM por este grupo. Em 2014 registou-se o primeiro caso de DIM por *N. meningitidis* do grupo C numa criança com <12 meses de idade, depois da inclusão da vacina no PNV em 2006.

Embora residuais, as estirpes do grupo C requerem vigilância apertada. São necessários estudos de portadores para avaliar a manutenção da imunidade de grupo na população e a eventual necessidade de alterar o esquema vacinal da MenC, Com este fim, considera-se necessário avaliar o grau de proteção da população portuguesa, particularmente de adolescentes e adultos jovens, o grupo etário onde se observam as mais elevadas taxas de portadores assintomáticos.

A DIM do grupo B tem sido a mais frequente desde 2003. Não é ainda conhecida a razão do decréscimo da incidência da DIM do grupo B que se tem verificado desde 2006. Dado que a vacina MenB foi comercializada em Portugal em abril 2014 e sendo reduzido o número de casos de DIM por grupo B registados neste ano (principalmente nos menores de 12 meses de idade), não é possível tirar conclusões sobre a eventual influência da utilização desta vacina sobre os resultados obtidos em 2014. O verdadeiro efeito da utilização da vacina MenB no mercado livre será avaliado ao longo dos próximos anos.

A proporção de casos confirmados de DIM tem vindo a aumentar desde 2010, mas a proporção de casos confirmados sem caraterização do grupo ou de outros marcadores moleculares da estirpe invasiva mantem-se elevada, embora com uma tendência decrescente. Este facto pode resultar da implementação de laboratórios de Biologia Molecular nos hospitais, dotados agora da competência para o diagnóstico da DIM por PCR, sem tomar em consideração a necessidade de caraterizar o DNA de *N. meningitidis* presente na amostra clínica, competência essa que é do laboratório de referência (INSA).

A caraterização do subtipo e do tipo de sequência (caraterização por MLST) de *N. meningitidis* evidencia uma associação entre genótipo e grupo. Em Portugal, desde 2003 que ao grupo B está associada uma grande diversidade de subtipos e de tipos de sequência sendo, contudo, o cc ST-41/44 o mais frequente.

Em 2013 e 2014, cerca de metade das estirpes invasivas (53%) não estavam associadas a complexos clonais hipervirulentos. Neste período, as estirpes que na literatura estão associadas a letalidade mais elevada (ccST-32 e ccST-11) [14, 15] representaram 7,3% do total de estirpes caraterizadas.

A taxa de letalidade por DIM verificada entre 2003 e 2014 (7,0%) está dentro dos valores esperados. Desconhece-se a taxa e o tipo de sequelas associados à doença. De entre os 9 óbitos

por DIM ocorridos em 2013 e 2014, quatro das seis estirpes caraterizadas eram híper-virulentas.

No período de 2003-2014, cerca de um terço dos óbitos foi registado em casos possíveis/prováveis de doença, consequentemente, sem isolamento nem caraterização da estirpe invasiva. Sendo o estudo dos óbitos importante para compreender eventuais relações entre caraterísticas bacterianas e evolução clínica, estes dados evidenciam a pertinência de fazer o diagnóstico *post mortem* de DIM e a caraterização genotípica da estirpe, nomeadamente a partir de amostras de pele colhidas nas zonas com erupção petequial.

Os dados epidemiológicos apresentados e a existência de novas vacinas evidenciam a utilidade da vigilância epidemiológica integrada e reforçam a necessidade do investimento na vigilância da epidemiologia da DIM em Portugal, uma vez que esta é uma das bases mais importantes para apoiar a tomada de decisão na prevenção e controlo da doença.

Referências bibliográficas

1. Heymann DL (ed). Control of Communicable Diseases Manual, 18th ed. Baltimore: American Public Health Assoc, United Book Press, 2004.
2. Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa 13/DEP, de 5 de setembro de 2002. Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença Meningocócica.
3. Mölling P, Jacobsson S, Bäckman A, Olcén P. Direct and rapid identification and genogrouping of meningococci and porA amplification by LightCycler PCR. J Clin Microbiol. 2002 Dec;40(12):4531-5.
4. McGuinness BT, Lambden PR, Heckels JE. Class 1 outer membrane protein of Neisseria meningitidis: epitope analysis of the antigenic diversity between strains, implications for subtype definition and molecular epidemiology. Mol Microbiol. 1993 Feb;7(4):505-14.
5. Thompson EA, Feavers IM, Maiden MC. Antigenic diversity of meningococcal enterobactin receptor FetA, a vaccine component. Microbiology. 2003 Jul;149(Pt 7):1849-58.
6. Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, Zhang Q, Zhou J, Zurth K, Caugant DA, Feavers IM, Achtman M, Spratt BG. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Mar 17;95(6):3140-5.
7. Jolley KA, Brehony C, Maiden MC. Molecular typing of meningococci: recommendations for target choice and nomenclature. FEMS Microbiol Rev. 2007 Jan;31(1):89-96. Epub 2006 Dec 1.
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of invasive bacterial diseases in Europe 2012. Stockholm: ECDC, 2015.
9. Direção-Geral da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Relatório Doença Meningocócica em Portugal 2000-2006. Lisboa, outubro 2007.
10. European Invasive Bacterial Infections Surveillance Network. Invasive Neisseria meningitidis in Europe 2006. London: Health Protection Agency, 2006.
11. Ladhani SN, Flood JS, Ramsay ME, Campbell H, Gray SJ, Kaczmarski EB, Mallard RH, Guiver M, Newbold LS, Borrow R. Invasive meningococcal disease in England and Wales: implications for the introduction of new vaccines. Vaccine. 2012 May 21;30(24):3710-6.
12. Bröker M, Bukovski S, Culic D, Jacobsson S, Koliou M, Kuusi M, Simões MJ, Skoczynska A, Toropainen M, Taha MK, Tzanakaki G. Meningococcal serogroup Y emergence in Europe: high importance in some European regions in 2012. Hum Vaccin Immunother. 2014;10(6):1725-8.
13. Direção-Geral da Saúde. Informação nº 4/2012, de 3 de fevereiro. (atualizada em 21/02/2012). Programa Nacional de Vacinação - PNV 2012 - Doença Meningocócica pelo serogrupo C e estratégia vacinal.
14. Yazdankhah SP, Kriz P, Tzanakaki G, Kremastinou J, Kalmusova J, Musilek M, Alvestad T, Jolley KA, Wilson DJ, McCarthy ND, Caugant DA, Maiden MC. Distribution of serogroups and genotypes among disease-associated and carried isolates of Neisseria meningitidis from the Czech Republic, Greece, and Norway. J Clin Microbiol. 2004 Nov;42(11):5146-53.
15. Caugant DA. Population genetics and molecular epidemiology of Neisseria meningitidis. APMIS. 1998 May;106(5):505-25.

Anexo

Definições de casos para a notificação de doenças transmissíveis à rede comunitária (Decisão 2119/98/CE da Comissão Europeia, de 8 de agosto de 2012, publicada pelo *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* em 27 de setembro de 2012.

Critérios clínicos

Pessoa que preenche pelo menos um dos cinco critérios seguintes:

- febre;
- sinais meníngeos;
- exantema petequial;
- choque séptico;
- artrite séptica.

Critérios laboratoriais

Pelo menos um dos quatro critérios seguintes:

- isolamento de *Neisseria meningitidis* a partir de um local normalmente estéril, incluindo lesões purpúricas;
- detecção de ácidos nucleicos de *Neisseria meningitidis* a partir de um local normalmente estéril, incluindo lesões purpúricas;
- detecção do antigénio de *Neisseria meningitidis* no líquido céfalo-raquidiano (LCR);
- detecção de diplococos gram-negativos no LCR.

Critérios epidemiológicos

Relação epidemiológica por contágio de pessoa a pessoa.

Classificação do caso

A. Caso possível

Pessoa que preenche os critérios clínicos.

B. Caso provável

Pessoa que preenche os critérios clínicos e apresenta uma relação epidemiológica.

C. Caso confirmado

Pessoa que preenche os critérios laboratoriais.

REPÚBLICA PORTUGUESA
SAÚDE

SNS SERVIÇO NACIONAL DE SAÚDE

DGS desde 1899
Direção-Geral da Saúde

Instituto_Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

_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 Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira
Rua Alexandre Herculano, n.321 4000-055 Porto, **Portugal**
Tel.: (+351) 223 401 190
Fax: (+351) 223 401 109
E-mail: inforporto@insa.min-saude.pt

Centro de Estudos de Vetores de Doenças Infeciosas
Doutor Francisco Cambournac
Av. da Liberdade, n.5 2965-575 Águas de Moura, **Portugal**
Tel.: (+351) 265 938 290
E-mail: cevdi@insa.min-saude.pt

www.insa.pt