

## Diagnóstico laboratorial do sarampo em Portugal, 2011-2013

Paula Palminha, Elsa Vinagre, Rita Cordeiro, Carlos Ribeiro, Carla Roque

paula.palminha@insa.min-saúde.pt

Laboratório Nacional de Referência de Doenças Evitáveis pela Vacinação.  
Departamento de Doenças Infeciosas, INSA.

### Introdução

O sarampo é uma doença grave, altamente contagiosa causada por um vírus da família Paramyxovirinae (1).

O vírus do sarampo transmite-se por via aérea, através de gotículas de aerossóis ou por contacto direto com as secreções respiratórias de indivíduos infetados. A infeção é adquirida ao nível do trato respiratório ou da conjuntiva (1).

Após um período de incubação de 10-11 dias o paciente desenvolve sintomas prodrómicos de febre, mal-estar, coriza, conjuntivite e tosse. As manchas de koplik, patognomónicas para o sarampo, aparecem na mucosa bucal e labial inferior e a erupção maculopapular generalizada surge cerca de 4 dias após a exposição (1). As complicações mais frequentes incluem infeções bacterianas secundárias, pneumonia, encefalite, panencefalite esclerosante subaguda e purpura trombocitopenia. Na gravidez a infeção pelo vírus do sarampo pode dar origem a aborto espontâneo ou parto prematuro (1).

Em 2005, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu como meta a eliminação do sarampo e da rubéola e a prevenção da rubéola congénita na Região Europeia até 2010 (2). Portugal aderiu a esta iniciativa, desenvolvendo para o efeito, um conjunto de ações, coordenadas pela Direção-Geral da Saúde (DGS), que incluíam a confirmação laboratorial de todos os casos suspeitos de sarampo a realizar no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) (3).

Em 2010, e apesar das medidas adotadas pelos vários países, o sarampo reemergiu com mais de 30 000 casos notificados na Região Europeia (4).

Em setembro de 2010, os países da Região Europeia da OMS aprovaram uma resolução em que renovaram o seu compromisso em acelerar as ações necessárias à eliminação do sarampo, rubéola e rubéola congénita nesta região até 2015 (5). No entanto, o sarampo continuou a disseminar-se e em 2013 foram declarados 10271 casos de sarampo em 30 Estados-Membros EU/EFA (*European Union/European Free Alliance*), 91% dos quais ocorreram na Alemanha, Itália, Holanda, Roménia e Reino Unido (6).

Em 2013, a DGS publicou o Programa Nacional de Eliminação do Sarampo que inclui quatro áreas de intervenção: vacinação; vigilância clínica, epidemiológica e laboratorial dos casos possíveis e gestão de casos e surtos (7).

Em 2014, a Comissão Europeia Regional de Verificação para a Eliminação do Sarampo e Rubéola concluiu que a transmissão endémica do sarampo e da rubéola está interrompida desde o final de 2012 em Portugal.

### Objetivo

Este estudo tem como objetivo descrever os casos prováveis de sarampo enviados ao INSA para confirmação laboratorial entre 2011 e 2013 em Portugal.

### Material e métodos

Para efeitos do presente estudo e de acordo com a Norma n.º 006/2013 de 02/04/2013 da DGS em vigor (7), consideraram-se as seguintes definições de caso:

- *Caso possível de sarampo* – indivíduo que apresenta um quadro clínico de febre superior a 38°C, exantema maculopapular e pelo menos um dos seguintes sintomas: tosse, coriza ou conjuntivite (8).

artigos breves\_ n. 6

- *Caso confirmado de sarampo* – indivíduo que apresenta um quadro clínico de caso possível com confirmação laboratorial da infeção por isolamento do agente viral ou deteção do RNA do vírus por RT-PCR ou seroconversão das imunoglobulinas da classe G em duas amostras de soros colhidas com 1 semana de intervalo e/ou, ainda, pela deteção de IgM específica para o vírus (8).
- *Caso provável de sarampo* – indivíduo que apresenta um quadro clínico de caso possível com ligação epidemiológica a um caso confirmado (7).

O diagnóstico laboratorial de sarampo foi realizado através da deteção de imunoglobulinas da classe G (IgG) e M (IgM) específicas e pela pesquisa do RNA viral por RT-PCR em tempo real. A determinação genotípica foi efetuada por técnicas de sequenciação do cDNA. O isolamento do vírus do sarampo foi realizado em todas os produtos biológicos com resultado positivo por RT-PCR.

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Deteção de anticorpos      | A deteção de imunoglobulinas da classe G e M específicas para o vírus do sarampo foi realizada por ensaio imunoenzimático EIA utilizando os reagentes Enzygnost® Anti-Measles-virus/IgG e Enzygnost® Anti-Measles-virus/IgM, de acordo com as recomendações da OMS (9).   |
| Identificação do RNA viral | A deteção do RNA do vírus do sarampo foi realizada por RT-PCR em tempo real, utilizando para o efeito reagentes comerciais. A extração de RNA foi realizada no equipamento automático.  |
| Genotipagem                | A determinação do genótipo foi realizada pela análise da sequência dos 450 nucleótidos que codificam os 150 aminoácidos da nucleoproteína (N), de acordo com as recomendações da OMS. O cDNA foi sintetizado utilizando o <i>kit</i> comercial da Nanogen ELItecGroup e amplificado por nested-PCR, utilizando os primers Mn5 e Mn6 (10) e Nf1a e Nr7a (11). Os fragmentos de cDNA purificados foram sequenciados com os primers Nf1a e Nr7a. |
| Isolamento viral           | O isolamento do vírus do sarampo foi realizado em tubo por inoculação de 400 µl de urina ou fluidos orais em células VerohSLAM (12). A incubação processou-se a 37°C com 5% de CO <sub>2</sub> . Foi efetuada observação diária para identificação do efeito citopático (CPE), característico do vírus do sarampo.  |

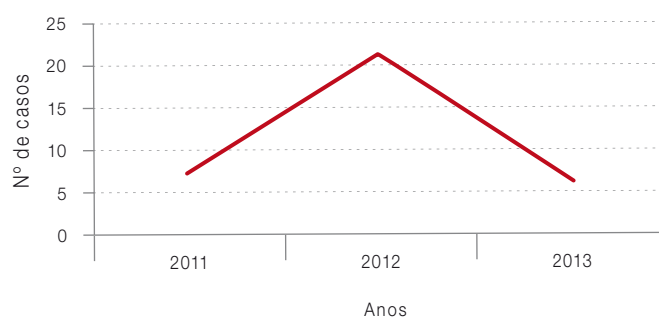
## \_Resultados

Entre 2011 e 2014, e no âmbito do Programa Nacional de Eliminação do Sarampo, o INSA recebeu amostras biológicas (34 soros, 18 urinas e 18 fluidos orais) de 34 casos possíveis de sarampo para confirmação laboratorial.

Dos 34 casos possíveis de sarampo, trinta e dois casos (94%) eram indivíduos de nacionalidade portuguesa, dois dos quais residentes em outros países da União Europeia (França e Reino Unido) e três com história de viagens recentes para fora de Portugal.

A distribuição dos casos possíveis de sarampo por idade indicou que 44% (15/34) ocorreram na população adulta. Quanto à distribuição por ano de diagnóstico verificaram-se 7 casos possíveis em 2011, 21 em 2012 e 6 em 2013 (gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição do número de casos possíveis de sarampo, por ano de diagnóstico (2011-2013).



Em Portugal, entre 2011 e 2013, o diagnóstico laboratorial confirmou oito dos 34 casos possíveis de sarampo (23.5%). Um caso (2,9%) sem confirmação laboratorial foi classificado como provável face à ligação epidemiológica a um caso confirmado.

Os dois casos (28,6%, 2/7) de sarampo confirmados em 2011 eram casos importados: um jovem adulto de nacionalidade portuguesa residente França e uma criança com 11 meses de nacionalidade angolana. Os genótipos identificados foram respetivamente D4 e B3.1. Nenhum destes casos deu origem a casos secundários.

Em 2012 ocorreram cinco (23.8%; 5/21) casos de sarampo confirmados e um caso provável com ligação epidemiológica a um caso confirmado, como anteriormente descrito. Todos os casos de sarampo ocorreram em indivíduos de nacionalidade portuguesa. Os casos confirmados laboratorialmente eram indivíduos não vacinados, três dos quais foram importados, oriundos do Reino Unido, Angola e China. Um destes casos importados originou um surto com um caso secundário numa criança de 11 meses de idade, um terciário numa criança de cinco meses e um caso provável num adulto com 31 anos de idade vacinado em Portugal, de acordo com a investigação epidemiológica levada a efeito.

O genótipo do vírus do sarampo no caso importado do Reino Unido foi D4 Manchester. No caso da China foi o genótipo H1, o qual foi igualmente detetado no caso terciário do surto acima referido. Em relação ao caso importado de Angola e ao caso secundário resultante do caso importado da China só foi possível confirmar a presença e concentração de imunoglobulina de classe M (IgM) específica para o vírus do sarampo.

Dos 6 casos prováveis de sarampo notificados em 2013 apenas um foi confirmado numa mulher de 27 anos de nacionalidade alemã, Este caso não originou casos secundários e o genótipo identificado foi o D8.

## \_Discussão

Durante os anos em análise foram notificados nove casos de sarampo (oito casos confirmados e um provável) em Portugal.

Os casos notificados em 2011 e em 2013 foram importados e nenhum deu origem a casos secundários.

Em 2012 houve três casos importados, tendo um deles sido responsável por um surto.

Dos casos notificados, 75% (6/8) foram em indivíduos adultos e os restantes em crianças sem idade para serem vacinadas.

Os genótipos determinados neste estudo ligam os casos de sarampo aos países onde a infeção ocorreu. De facto, os genótipos D4, D4 Manchester e D8 são endémicos na Europa e circulavam respetivamente em França em 2011, no Reino Unido em 2012 e na Alemanha em 2013. O genótipo H1 detetado no caso importado da China, é também endémico neste país.

## \_Conclusão

Em Portugal, a vacina monovalente contra o sarampo (VAS) foi introduzida no Plano Nacional de Vacinação em 1974 tendo sido substituída pela vacina tríplice contra o sarampo, parotidite e rubéola (VASPR) em 1989. Contudo, os casos de sarampo que ocorreram em Portugal nestes 3 anos (2011-2013) mostraram a existência de indivíduos adultos não imunes. Este facto, alerta para a necessidade de se reforçar a vacinação nesta população, nomeadamente em situações de deslocação ao estrangeiro, desde que não haja vacinação anterior ou registo da doença. Acrescente-se que durante o período em estudo não se observaram casos autóctones entre a população portuguesa.

## Agradecimentos

À coordenadora do Programa de Eliminação do Sarampo, Dra. Teresa Fernandes (Direção de Serviços de Prevenção da Doença e Promoção da Saúde/ DGS). À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Griffin DE. Measles Virus. In Knipe DM, Howley PM (eds). Fields virology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, c2007.pp. 1551-86.
- (2) Eliminating measles and rubella and preventing congenital rubella infection: WHO European Region strategic plan 2005-2010. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2005. [www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0008/79028/E87772.pdf](http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0008/79028/E87772.pdf)
- (3) Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa n.º 10/DSCS/DPCD, de 05/06/2008. Vacinação complementar contra o sarampo. [www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/circular-normativa-n-10dscsdpcd-de-05062008.aspx](http://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/circular-normativa-n-10dscsdpcd-de-05062008.aspx)
- (4) European Centre for Disease Prevention and Control. European monthly measles monitoring (EMMO), July 2011. Stockholm: ECDC, 2011. (ECDC/Surveillance Report; vol. 2). [www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/2011\\_July\\_Measles\\_Monthly\\_Monitoring.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/2011_July_Measles_Monthly_Monitoring.pdf)
- (5) World Health Organization. Global measles and rubella: strategic plan 2012–2020. Geneva: WHO, 2012. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44855/1/9789241503396\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44855/1/9789241503396_eng.pdf)
- (6) European Centre for Disease Prevention and Control. Measles and Rubella Monitoring, April 2014. Stockholm: ECDC, 2014. (ECDC/Surveillance Report). [www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/measles-rubella-monitoring-april-2014.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/measles-rubella-monitoring-april-2014.pdf)
- (7) Direção-Geral da Saúde. Norma n.º 006/2013, de 02/04/2013. Programa Nacional de Eliminação do Sarampo. Integrado no Programa Nacional de Eliminação do Sarampo e da Rubéola. [www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0062013-de-02042013.aspx](http://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0062013-de-02042013.aspx)
- (8) Ministério da Saúde. Direção-Geral da Saúde. Despacho n.º 5681-A/2014, de 21 de abril. DR 2.ª série (parte c), n.º 82, de 29 de abril de 2014: 11374-(2)-(20). Notificação obrigatória de doenças transmissíveis e outros riscos em saúde pública. Retificado pela Declaração de retificação n.º 609-A/2014, de 1 de junho. DR 2.ª Série(parte c), n.º 113, de 16 de junho de 2014. <https://dre.pt/application/file/25697650>
- (9) World Health Organization. Manual for the laboratory diagnosis of measles virus infection. 2nd ed. Geneva: WHO, 2007. [www.who.int/ihr/elibrary/manual\\_diagn\\_lab\\_mea\\_rub\\_en.pdf](http://www.who.int/ihr/elibrary/manual_diagn_lab_mea_rub_en.pdf)
- (10) Kremer JR, Nkwemba E, Bola Oyefolu AO, et al. Measles virus strain diversity, Nigeria and Democratic Republic of the Congo. Emerg Infect Dis. 2010;16(11):1724-30. [wwwnc.cdc.gov/eid/article/16/11/pdfs/10-0777.pdf](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/16/11/pdfs/10-0777.pdf)
- (11) Santibanez S, Tischer A, Heider A, et al. Rapid replacement of endemic measles virus genotypes. J Gen Virol. 2002;83(Pt 11):2699-708
- (12) Yasumura Y, Kawakita M. The research for the SV40 by means of tissue culture technique. Nippon Rinsho. 1963;21:1201-19.