

Observações

— Boletim Epidemiológico

editorial

Sequenciação de Nova Geração

Tecnologia de ponta no INSA para apoio à identificação e caracterização de surtos, situações de emergência e à decisão clínica

Os avanços recentes nas tecnologias de sequenciação de ácidos nucleicos, associados à progressiva diminuição dos seus custos, têm permitido aos laboratórios de Microbiologia Clínica utilizar, de forma cada vez mais frequente, a técnica de Sequenciação Total do Genoma (vulgarmente referenciada na literatura por *Whole Genome Sequencing* - WGS). De facto, esta tecnologia tem emergido como uma ferramenta de ponta para complementar e/ou substituir as tradicionais metodologias da Microbiologia Clínica, influenciando o diagnóstico, a monitorização epidemiológica e as atividades de investigação/desenvolvimento de virtualmente todos os agentes patogénicos (desde vírus e bactérias a fungos e parasitas). Permite, por exemplo, num período normalmente compreendido entre 12h e 2 dias, sequenciar o genoma completo de microrganismos, não só a partir de culturas puras, como também, em determinadas condições, diretamente de amostras clínicas. Esta última aplicação reveste-se de particular importância quando os microrganismos em causa não são cultiváveis em meios *in vitro* (ex. *Treponema pallidum*, agente causador da sífilis), ou cujo crescimento demora vários dias (ex. *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose).

nesto número

Editorial

Sequenciação de Nova Geração: tecnologia de ponta no INSA para apoio à identificação e caracterização de surtos, situações de emergência e à decisão clínica p 01
João Paulo Gomes

Artigos Breves

Sequenciação de Nova Geração

- 1 Sequenciação de Nova Geração no apoio à decisão de transplante pulmonar num doente com fibrose quística p 03
Leonor Silveira, Ana Casimiro, Margarida Pinto, Vítor Borges, João Paulo Gomes, Mónica Oleastro
- 2 *Burkholderia pseudomallei*: primeiro caso de melioidose em Portugal p 05
Ana Pelerito, Alexandra Nunes, Susana Coelho, Cátia Piedade, Paulo Paixão, Rita Cordeiro, Daniel Sampaio, Luís Vieira, João Paulo Gomes, Sofia Núncio
- 3 Sequenciação Total do Genoma aplicada ao estudo de caracterização de uma estirpe de *Klebsiella pneumoniae* isolada de pus de drenagem de abcesso hepático p 07
Maria João Simões, Aida Pereira, João Carlos Rodrigues, Tiago Pertucci, Inês Maury, Frederico E. Santo, Vítor Borges, João Paulo Gomes
- 4 Isolamento de *Helicobacter pullorum* de carne de frango: características de um patógeno emergente de origem alimentar p 09
Vítor Borges, Andrea Santos, Cristina Belo Correia, Margarida Saraiva, Luís Vieira, Daniel A. Sampaio, João Paulo Gomes, Mónica Oleastro

Doenças Evitáveis por Vacinação

- 5 Tosse convulsa em Portugal: análise retrospectiva de casos clínicos suspeitos de infeção por *Bordetella pertussis* no período 2010-2014 p 12
Maria Augusta Santos, Brígida Pereira, Cristina Furtado
- 6 Diagnóstico laboratorial do sarampo em Portugal, 2011- 2013 p 17
Paula Palminha, Elsa Vinagre, Rita Cordeiro, Carlos Ribeiro, Carla Roque
- 7 Rubéola congénita em Portugal entre 2009 e 2015 p 21
Paula Palminha, Elsa Vinagre, Carlos Ribeiro, Teresa Lourenço, Carla Roque
- 8 Apresentação clínica dos casos de síndrome gripal em Portugal: gripe e outros vírus respiratórios p 24
Ana Paula Rodrigues, Ausenda Machado, Baltazar Nunes, Pedro Pechirra, Raquel Guiomar
- 9 Vacinação antigripal da população portuguesa na época 2014/2015: estudo na amostra ECOS p 26
Mafalda Sousa Uva, Rita Roquette, Baltazar Nunes, Carlos Matias Dias
- 10 Efetividade da vacina antigripal entre 2009 e 2015 em Portugal p 29
Patrícia Conde, Ausenda Machado, Pedro Pechirra, Ana Paula Rodrigues, Paula Cristóvão, Inês Costa, Raquel Guiomar, Baltazar Nunes
- 11 Aplicação de um teste preliminar a um folheto informativo sobre o estudo da efetividade da vacina antigripal contra formas graves de gripe p 33
Maria Moitinho de Almeida, Ana João Santos, Ausenda Machado

Entre as principais aplicações da tecnologia de WGS nos laboratórios de Microbiologia Clínica referem-se: i) o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico através da identificação por WGS de sequências genómicas específicas de microrganismos causadores de determinadas patologias (1,2); ii) a caracterização genómica detalhada do microrganismo infeccioso, nomeadamente através da identificação de fatores de virulência, toxinas, e genes ou mutações associados à resistência a fármacos (3-5); e iii) a tipagem molecular de estirpes isoladas no âmbito de surtos hospitalares ou na comunidade, permitindo a identificação de cadeias de transmissão e de fontes de contaminação (6,7). Um dos grandes exemplos a nível mundial de aplicação da tecnologia de WGS em termos de estudos epidemiológicos consistiu na caracterização relâmpago de uma estirpe de *Escherichia coli* enteroagregativa e especialmente virulenta, causadora do gigantesco surto de diarreia e síndrome hemolítica urémica, ocorrido na Alemanha em 2011, com mais de 4000 casos e 50 mortes (8).

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) adquiriu recentemente um equipamento de sequenciação de nova geração, o qual tem permitido inequivocamente um “virar de página” em termos de progresso tecnológico e de serviços oferecidos à comunidade médico-científica. Neste âmbito, refere-se, por exemplo, a participação do INSA como instituição responsável pelas atividades laboratoriais de WGS no âmbito de um projeto europeu de grande dimensão que visa estabelecer a tecnologia de WGS como ferramenta de vigilância e investigação epidemiológica de agentes patogénicos transmitidos por alimentos. A nível nacional, o exemplo mais evidente, amplamente divulgado na comunicação social, consistiu na contribuição decisiva do INSA para a caracterização da estirpe responsável pelo surto da Doença dos Legionários que ocorreu em 2014 em Vila Franca de Xira (constituindo o segundo maior surto a nível mundial), tendo possibilitado também a identificação da potencial fonte de contaminação. No entanto, a caracterização de estirpes de *Klebsiella pneumoniae* associadas a um abscesso do fígado, bem como a caracterização da diversidade microbiana em infeções oportunistas de estirpes de *Burkholderia* spp. e/ou *Pseudomonas aeruginosa* em doentes

com fibrose quística, não são de menor relevo. Alguns dos artigos que se seguem neste *Boletim Epidemiológico Observações* descrevem precisamente exemplos de aplicação com sucesso da tecnologia de WGS no INSA na área das doenças infecciosas. Na sua qualidade de Laboratório de Referência, o INSA está naturalmente disponível para estabelecer colaborações científicas relevantes no domínio da Saúde, envolvendo para tal equipas especializadas tanto no domínio da bioinformática como da sequenciação de nova geração.

João Paulo Gomes

Responsável da Unidade de Investigação e do Núcleo de Bioinformática
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA

Contactos para WGS:

João Paulo Gomes:	Luís Vieira:
j.paulo.gomes@insa.min-saude.pt	luis.vieira@insa.min-saude.pt
tel. 217 519 241	tel. 217 519 440

Referências bibliográficas:

- (1) Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010;11(1):31-46. Epub 2009 Dec 8.
- (2) Millar BC, Xu J, Moore JE. Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. *Curr Issues Mol Biol.* 2007;9(1):21-39. Review. www.horizonpress.com/cimb/v/v9/21.pdf
- (3) Chen Y, Johnson JA, Pusch GD, et al. The genome of non-O1 *Vibrio cholerae* NRT36S demonstrates the presence of pathogenic mechanisms that are distinct from those of O1 *Vibrio cholerae*. *Infect Immun.* 2007;75(5):2645-7. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1865779/
- (4) Chen PE, Willner KM, Butani A, et al. Rapid identification of genetic modifications in *Bacillus anthracis* using whole genome draft sequences generated by 454 pyrosequencing. *PLoS One.* 2010;5(8):e12397. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0012397>
- (5) Chin CS, Sorenson J, Harris JB, et al. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N Engl J Med.* 2011;364(1):33-42. Epub 2010 Dec 9. www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1012928
- (6) McAdam PR, Templeton KE, Edwards GF, et al. Molecular tracing of the emergence, adaptation, and transmission of hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(23):9107-12. www.pnas.org/content/109/23/9107.long
- (7) Lewis T, Loman NJ, Bingle L, et al. High-throughput whole-genome sequencing to dissect the epidemiology of *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospital outbreak. *J Hosp Infect.* 2010;75(1):37-41. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670110000289
- (8) Rasko DA, Webster DR, Sahl JW, et al. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. *N Engl J Med.* 2011;365(8):709-17. www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa106920