

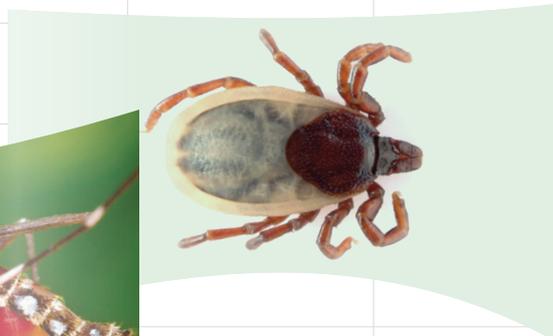
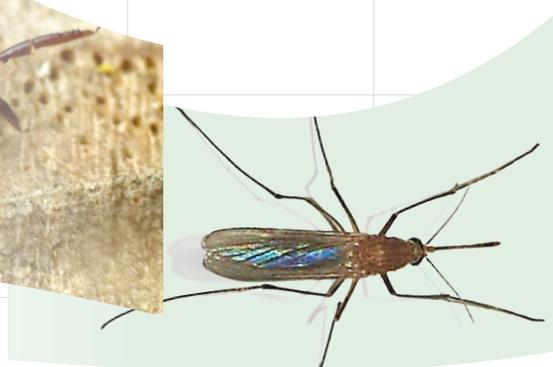
REVIVE 2011-2015

Culicídeos e Ixodídeos

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-Geral da Saúde

Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac



Catálogo na publicação:

PORTUGAL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP
REVIVE 2011-2015 - Culicídeos e Ixodídeos : Rede de Vigilância de Vetores / Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac. -Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, 2016. - 63 p. : il.

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2016

Título: REVIVE 2011-2015 - Culicídeos e Ixodídeos : Rede de Vigilância de Vetores
Autor: Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac
Editor: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, IP)
Coordenação técnica editorial: Elvira Silvestre
Composição gráfica: Francisco Tellechea
ISBN (ebook): 978-989-8794-21-5

Lisboa, abril de 2016

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



REVIVE 2011-2015

Culicídeos e Ixodídeos

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-Geral da Saúde

Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac

Lisboa, 2016

Índice

Projeto REVIVE	5
I. REVIVE 2011-2015 – Culicídeos	9
1. Introdução	11
2. Mosquitos e agentes transmitidos	11
3. Objetivos e metodologias REVIVE	14
4. Comunicação	16
5. Formações	18
6. Resultados REVIVE 2015 e totais 2011-2015	18
6.1. Vigilância nos concelhos	18
6.1.1. Locais e esforço de captura	18
6.1.2. Espécies identificadas	21
6.2. Vigilância nos portos e aeroportos	27
6.2.1. Locais e esforço de captura	27
6.2.2. Espécies identificadas	28
6.3. Pesquisa de agentes patogénicos	29
7. Conclusões REVIVE 2011-2015 - Culicídeos	31
II. REVIVE 2011- 2015 – Ixodídeos	33
1. Introdução	35
2. Carrças e agentes transmitidos	35
3. Objetivos e metodologias REVIVE	40
4. Comunicação	42
5. Formações	44
6. Resultados REVIVE 2015 e totais 2011-2015	44
6.1. Vigilância nos concelhos	44
6.2. Vigilância de carrças em fase parasitária	46
6.2.1. Homem	46
6.2.2. Animais	46
6.2.3. Vigilância em carrças em fase de vida livre	46
6.3. Espécies identificadas e distribuição geográfica	46
7. Identificação de <i>Rickettsia</i> e <i>Borrelia</i>	51
8. Conclusões REVIVE 2011-2015 - Ixodídeos	52
III. Considerações finais	55
IV. Equipas REVIVE	59

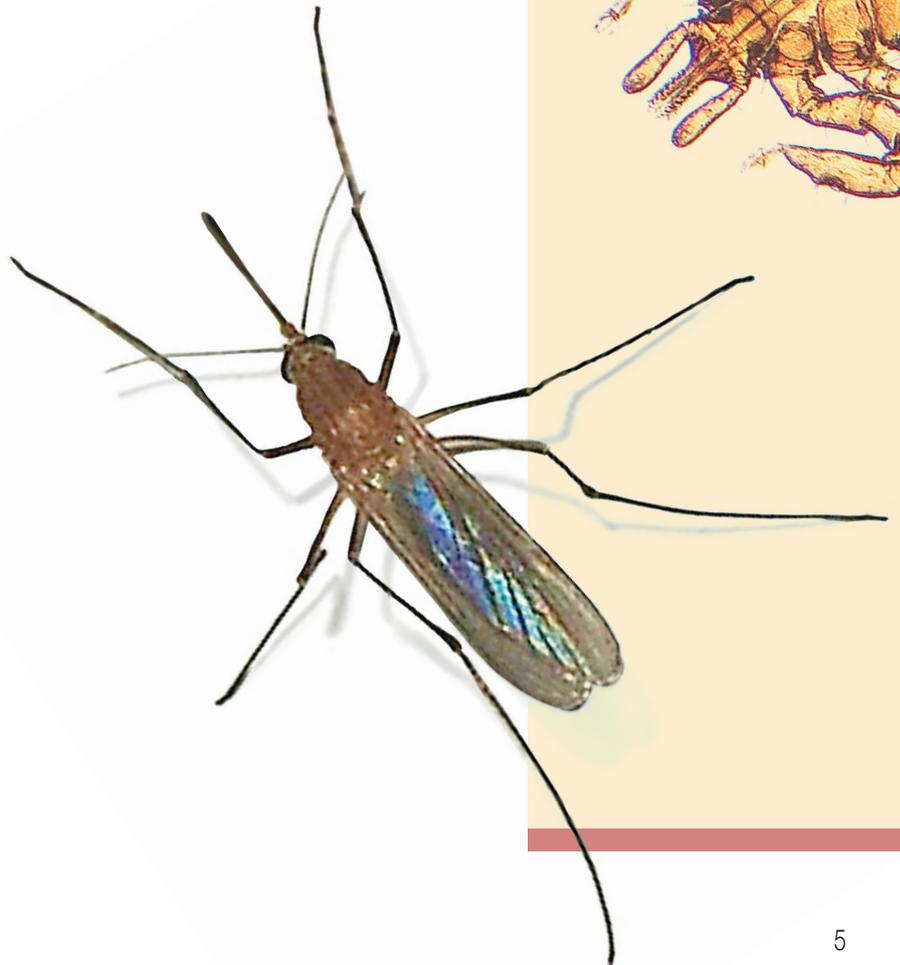
Índice de figuras

Figura 1: Ciclo de vida dos mosquitos	12
Figura 2: Concelhos com colheitas REVIVE 2015 e totais 2011-2015	19
Figura 3: Esforço de captura de mosquitos no estágio imaturo REVIVE 2015 e totais 2011-2015	20
Figura 4: Esforço de captura de mosquitos no estágio adulto REVIVE 2015 e totais 2011-2015	20
Figura 5: Distribuição geográfica de <i>Culex pipiens</i>	22
Figura 6: Distribuição geográfica de <i>Ochlerotatus caspius</i>	22
Figura 7: Distribuição geográfica de <i>Culex theileri</i>	23
Figura 8: Distribuição geográfica de <i>Culiseta longiareolata</i>	23
Figura 9: Distribuição geográfica de <i>Culex perexiguus</i>	24
Figura 10: Distribuição geográfica de <i>Culex modestus</i>	24
Figura 11: Distribuição geográfica de <i>Anopheles maculipennis</i> s.l.	25
Figura 12: Distribuição geográfica de <i>Aedes aegypti</i>	26
Figura 13: Vigilância de mosquitos adultos e imaturos em portos, aeroportos e fronteira	27
Figura 14: Árvore filogenética de flavivírus incluindo os detetados no âmbito do REVIVE	30
Figura 15: Ciclo de vida dos ixodídeos	36
Figura 16: Esforço de captura de ixodídeos por concelho	44
Figura 17: Colheitas de ixodídeos na fase de vida parasitária em hospedeiros humanos, cães, outros animais e na fase de vida livre	45
Figura 18: Distribuição geográfica de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	48
Figura 19: Distribuição geográfica de <i>Ixodes ricinus</i>	48
Figura 20: Distribuição geográfica de <i>Dermacentor marginatus</i>	49
Figura 21: Distribuição geográfica de <i>Dermacentor reticulatus</i>	49
Figura 22: Distribuição geográfica de <i>Hyalomma lusitanicum</i>	50
Figura 23: Distribuição geográfica de <i>Hyalomma marginatum</i>	50

Índice de quadros

Quadro 1: Espécies identificadas em portos, aeroportos e fronteiras	28
Quadro 2: Agentes etiológicos transmitidos por ixodídeos presentes ou em risco de emergir em Portugal	38
Quadro 3: Espécies de <i>Rickettsia</i> e <i>Borrelia</i> detetadas em ixodídeos colhidos em hospedeiros e na vegetação no âmbito do REVIVE 2015	51

Projeto REVIVE



O projeto REVIVE (Rede de Vigilância de Vetores) resultou da colaboração entre instituições do Ministério da Saúde.

A criação do REVIVE deveu-se, sobretudo, à necessidade de instalar capacidades para melhorar o conhecimento sobre as espécies de vetores presentes no país, a sua distribuição e abundância, esclarecer o seu papel como vetor de agentes de doença, assim como detetar atempadamente introduções de espécies invasoras com importância em saúde pública.

O 1.º protocolo REVIVE (2008-2010) da Direção-Geral da Saúde (DGS), Administrações Regionais de Saúde (ARS) do Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) iniciou a vigilância sistemática de culicídeos (mosquitos) em Portugal. Nesses anos foram colhidos e identificados mosquitos em 54 concelhos, foram descritas 18 espécies, autóctones, de mosquitos e pesquisada a respetiva actividade viral.

O 2.º protocolo REVIVE (2011-2015), da Direção-Geral da Saúde, Administrações Regionais de Saúde do Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, que agora termina teve como objectivo vigiar a actividade de artrópodes hematófagos tendo assim alargado, para além dos culicídeos, a vigilância sistemática de vetores aos ixodídeos (carraças).

Os objectivos “REVIVE Culicídeos e Ixodídeos” foram:

- Vigiar a atividade de artrópodes hematófagos;
- Caracterizar as espécies e a sua ocorrência sazonal;
- Identificar agentes patogénicos importantes em saúde pública;

- E em função da densidade dos vetores, do nível de infeção ou da introdução de espécies exóticas, alertar para a adequação das medidas de controlo.

A região da Madeira, através do Instituto da Administração da Saúde e dos Assuntos Sociais (IASAÚDE) participa no REVIVE na componente Mosquitos desde 2011.

Nesta publicação apresentam-se os resultados das actividades de vigilância em mosquitos e carraças em 2015 e no total do período 2011-2015, correspondente ao 2.º protocolo REVIVE que agora termina.

Os resultados detalhados obtidos em 2015 foram anteriormente enviados, pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge através do seu Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac (CEVDI) integrado no Departamento de Doenças Infecciosas (DDI), a cada uma das Administrações Regionais de Saúde e IASAÚDE RAM na forma de relatório, nomeadamente “8.º Relatório REVIVE-Culicídeos” e “5.º Relatório REVIVE-Ixodídeos”.

Privilegiando a prevenção, em detrimento da resposta à emergência, a vigilância permite que qualquer alteração na abundância, na diversidade e no papel de vetor, detetada atempadamente, leve as autoridades de saúde pública a tomar medidas que contribuam para o controlo das populações vectoras de forma a mitigar o seu impacto em saúde pública.

REVIVE 2011-2015

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

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

Maria João Alves

Líbia Zé-Zé

Fátima Amaro

Hugo Osório



1. Introdução

A criação de redes de vigilância de mosquitos é essencial para se proceder à deteção atempada de potenciais introduções de espécies exóticas e invasoras com impacto em saúde pública e para prevenir e controlar agentes patogénicos emergentes.

A vigilância sistemática de mosquitos providencia às partes interessadas em saúde pública conhecimento acerca da diversidade de espécies e abundância, o que é indispensável para se adotarem medidas, se necessárias, de controlo das populações de vetores de importantes agentes patogénicos.

Adicionalmente, algumas espécies de mosquitos autóctones sem conhecido estatuto de espécies vetoras, podem mesmo assim causar incómodo às populações por fenómenos de superabundância, com consequências graves nas atividades socio-económicas e com prejuízo financeiro.

Neste contexto, só conhecendo a distribuição das espécies, a sua abundância e o papel como agentes de doença em Portugal se podem tomar ações de educação, prevenção e controlo.

O REVIVE tem contribuído com dados para a criação de mapas no âmbito da rede Vbornet (*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) no *Programme on emerging and vector-borne diseases*). Os mapas, disponíveis no portal do ECDC, mostram a vigilância efetuada na Europa e a importância que as Administrações Regionais de Saúde, a Direção-Geral da Saúde e o Instituto Nacional de Saúde dão à vigilância de vetores a nível nacional. O ECDC preparou as *Guidelines for the surveillance of invasive*

*mosquitoes in Europe*¹, que refletem a preocupação existente na Europa com a introdução de mosquitos invasores, nomeadamente *Aedes albopictus* e *Ae. aegypti*.

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 nos portos e aeroportos, no âmbito do REVIVE, tem vindo a ser consolidada.

Na Madeira, a introdução do mosquito invasor *Aedes aegypti* em 2005 e o surto de Dengue em 2012 são ocorrências que justificam a necessidade de existência de programas de vigilância permanentes que avaliem eficazmente a diversidade e abundância das espécies com impacto em saúde pública.

A ocorrência esporádica de casos de infeção humana e equina por vírus *West Nile*, em 2004, 2010 e 2015, no território português e a consequente necessidade de vigilância de mosquitos em nichos ecológicos específicos tem demonstrado a utilidade do projecto REVIVE no que respeita à resposta atempada para uma ação em saúde pública.

2. 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 mundo².

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Stockholm : ECDC, 2012. www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TER.Mosquito-surveillance-guidelines.pdf

2. Edwards FW. Diptera, Family Culicidae. [book auth.] P. Wytzman. Genera Insectorum. Brussels : Desmet Verteneuil, 1932, pp. 1-258.

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 taxonómicas³. 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 géneros⁴.

As espécies com importância em saúde pública, com capacidade vetorial, pertencem às subfamílias 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 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 são o grupo de artrópodes mais importante do ponto de vista médico e veterinário pelo facto de serem vetores de importantes doenças.

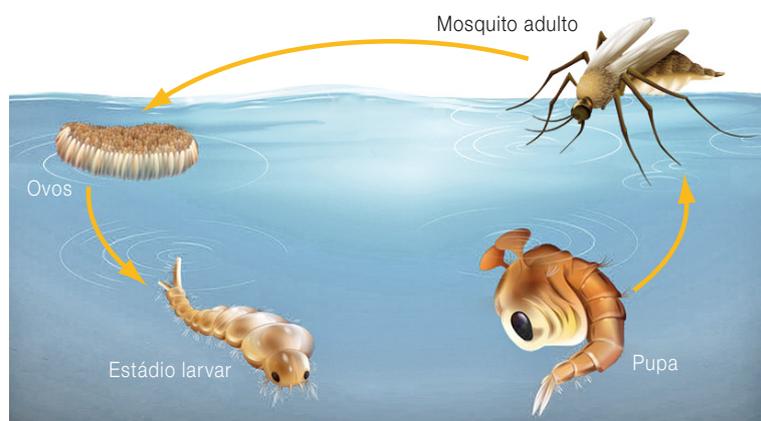


Figura 1: Ciclo de vida dos mosquitos

3. Stone A, Knight, KL, Starcke H. A Synoptic Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera, Culicidae). [Washington, Entomological Society of America], 1959.
4. Harbach RE, Howard TM. Mosquito Classification. The Walter Reed Biosystematics Unit. [Online], 2010. [consult. 2014-02-26] <http://wrbu.si.edu/index.html>.

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 infeção e 438 000 mortes associadas⁵.

Mais de 120 milhões de pessoas são anualmente afetadas por filarioses linfáticas e cerca de 1,4 mil milhões de pessoas em 73 países estão em risco de serem infetados por este helminta transmitido por mosquitos⁶.

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 anos⁷. 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, urbaniza-

ção e alterações climáticas⁸. A encefalite japonesa, a mais comum encefalite viral transmitida por mosquitos nos países asiáticos, tem uma casuística de 50 000 casos anuais⁹. A infeção por vírus *West Nile* tem um elevado impacto em países onde é ou se tornou endémico¹⁰. Nas últimas duas décadas os surtos epidémicos do vírus *West Nile* na Europa e bacia mediterrânica têm vindo a aumentar¹¹. 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 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 registados¹². 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 infeções por vírus Zika estarem associadas a malformações congénitas, como a microcefalia, e a outras alterações neurológicas, levou a

5. World Health Organization. World malaria report 2015. Geneva : WHO, 2015.

6. World Health Organization. Fact sheet. [Online] [consult. 26-02-2014]. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en

7. World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva : WHO, 2009.

8. World Health Organization. Fact sheet. [Online] [consult. 26-02-2014]. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en

9. Go YY, Balasuriya UB, Lee CK. Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. *Clinical and experimental vaccine research*. 2014;3(1): 58-77.

10. Komar N. *West Nile* virus: epidemiology and ecology in North America. *Advances in Virus Research*. 2003;61:185-234.

11. Danis K ,et al. Ongoing outbreak of *West Nile* virus infection in humans, Greece, July to August 2011. *Eurosurveillance*. 2011;16 (34): pii: 19951.

12. Charrel RN, Leparac-Goffart I, Gallian P, Lamballerie X. Clinical Globalization of Chikungunya: 10 years to invade the world. *Microbiology and Infection*. 2014. doi: 10.1111/1469-0691.12694.

Organização Mundial de Saúde (OMS) a declarar emergência mundial de saúde pública¹³.

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.

3. Objetivos e metodologias REVIVE

Os objetivos do REVIVE culicídeos são:

- Determinar a diversidade e abundância das espécies de mosquitos.
- Detetar atempadamente a introdução de espécies exóticas e invasoras, como *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*.
- Pesquisar a presença de agentes patogénicos (flavivírus e plasmódio) em amostras representativas de culicídeos.
- Vigiar portos, aeroportos e outros pontos de entrada, de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional.

As metodologias aplicadas aos programas que envolvem a investigação e vigilância de espécies de mosquitos estão, normalmente, focadas no estudo das fases imaturas. Por outro lado, os programas de estudo da sua capacidade vetorial incidem, sobretudo, nos mosquitos adultos. Os métodos de amostragem são, assim, diversos, variando com os interesses, objetivos e oportunidades das equipas.

Os métodos de colheita não podem ser universalmente aplicados a todas as espécies de mosquitos, sobretudo adultos, no entanto os

estádios imaturos – aquáticos – são fáceis de localizar o que simplifica a colheita.

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

Colheitas

No âmbito do REVIVE, para iniciar os trabalhos, foram selecionadas as armadilhas tipo CDC iscadas com CO₂ e aspiradores para captura de culicídeos vivos, processados para a pesquisa de agentes infecciosos. As ARS's receberam inicialmente três armadilhas e um aspirador, tendo, nos anos seguintes, adquirido, de acordo com as necessidades e logística nas colheitas, mais armadilhas de adultos, inclusivamente de outros modelos (BG, *Mosquitaire*), assim como aspiradores.

Na recolha de larvas e pupas em criadouros aquáticos, que representam mais eficientemente a distribuição de espécies nos locais, 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 ARS's.

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 selecionado

13. World Health Organization. Zika virus microcephaly and guillain-barré syndrome situation report 31 March 2016. Geneva: WHO, 2016. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204718/1/zikasitrep_31Mar2016_eng.pdf?ua=1

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.

No período de colheitas as regiões de saúde são aconselhadas a fazer saídas de duas a três noites, duas vezes por mês.

As seleções de locais e calendários de colheitas são feitas pelas respetivas regiões, que informam o CEVDI/INSA antes das saídas de campo, para programação da chegada de material.

Transporte

As amostras chegam 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 respetivos Boletins de Colheita de Mosquitos Adultos e Estádios Imaturos, nos quais foram reunidas informações sobre a ARS, colector, local de colheita, descrição, coordenadas GPS, condições atmosféricas, horas, temperatura e humidade.

Identificação

Os mosquitos no estágio adulto recebidos no laboratório são anestesiados numa mesa refrigerada e identificados à espécie com as chaves de identi-

cação de Ribeiro e Ramos (1999)¹⁴ e Schaffner *et al.* (2001)¹⁵. Posteriormente são transferidos para tubos em *pools* até um máximo de 50 espécimes, de acordo com a espécie, género, data e local de colheita.

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 extração de ARN total dos *pools* de mosquitos macerados em azoto líquido. Metade de cada macerado é armazenada a -80°C para posterior tentativa de isolamento de vírus.

A deteção de flavivírus efetua-se por pesquisa direta da presença de ARN viral no ARN total extraído dos *pools* com a amplificação parcial por RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) do gene NS5 recorrendo a *primers* específicos para flavivírus. Os produtos de RT-PCR são re-amplificados numa segunda reacção de PCR de forma a aumentar a sensibilidade da deteção e analisados em gel de agarose. Para identificação molecular dos flavivírus detetados, os produtos de *Nested-PCR* são purificados e sequenciados num sequenciador automático.

14. Ribeiro H, Ramos HC. Identification keys of the mosquitoes of Continental Portugal, Açores and Madeira. *Eur Mosq Bull.* 1999;3:1-11.

15. Schaffner E, Angel G, Geoffroy B, Hervy J-P, et al. The Mosquitoes of Europe: an identification and training programme [CD-ROM]. Montpellier : IRD Éditions & EID Méditerranée, 2001.

Em 2015, devido aos casos de infeção humana¹⁶ e equina¹⁷ por vírus *West Nile* detetados no Algarve, todos os *pools* de espécies vectoras deste vírus desta região foram especificamente pesquisados para a presença de ARN do vírus *West Nile* por RT-PCR em tempo real¹⁸.

Para cada *pool* de mosquitos positivo, as sequências parciais do gene NS5 são obtidas combinando as sequências geradas com ambos os *primers* recorrendo ao *software* BioEdit. As pesquisas de semelhanças com sequências em bases de dados (GenBank) são efetuadas recorrendo ao algoritmo BLASTN. Cada *pool* positivo é designado, de acordo com a regra usualmente seguida no CEVDI para a deteção/isolamento de novos agentes, como PoMoFlav (de *Portuguese Mosquito Flavivirus*) seguido de um R, de REVIVE e o n.º do *pool*.

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.

4. Comunicação

Em caso de identificação de espécies de mosquitos exóticos e/ou invasores e de amostras positivas para agentes patogénicos o CEVDI informa imediatamente as regiões 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 resumos 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, com os resumos dos resultados da vigilância e identificações de culicídeos.

No término da época de colheitas e trabalho laboratorial de identificação de mosquitos e pesquisa de flavivírus, o CEVDI/INSA prepara Relatórios Técnicos relativos a cada uma das regiões e uma publicação com os resultados a nível nacional, disponibilizada em www.insa.pt.

Em abril de cada ano é organizado o Workshop REVIVE nas instalações do CEVDI/INSA em Águas de Moura ou no INSA Lisboa, com a participação de técnicos e responsáveis das ARS's, IASAÚDE Madeira, INSA e DGS.

Para além dos relatórios anuais, os resultados do REVIVE têm sido também apresentados em reuniões ou revistas científicas, com a co-autoria da Equipa REVIVE.

Artigos científicos:

□ Osório HC, Zé-Zé L, Amaro F, Nunes A, Alves MJ. Sympatric occurrence of *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) biotypes pipiens, molestus and their hybrids in Portugal, Western Europe: feeding patterns and habitat determinants. *Medical and Veterinary Entomology*. 2013. doi: 10.1111/mve.12020.

16. Zé-Zé L, Proença P, Osório HC, Gomes S, Luz T, Parreira P, Fevereiro M, Alves MJ. Human case of West Nile neuroinvasive disease in Portugal, summer 2015. *EuroSurveill*. 2015;20(38):pii=30024. doi: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.38.30024>.

17. World Organisation for Animal Health. West Nile Fever, Portugal (online) [consult. 20-06-2015]. www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=18585

18. Barros S C, Ramos F, Zé-Zé L, Alves M J, Faguiha T, Duarte M, et al. Simultaneous detection of West Nile and Japanese Encephalitis virus RNA by duplex TaqMan RT-PCR. *J Virol Methods*. 2013;193(2):554-7. doi: 10.1016/j.jviromet.

□ Osório HC, Zé-Zé L, Amaro F, Alves MJ. Mosquito Surveillance for Prevention and Control of Emerging Mosquito-Borne Diseases in Portugal, 2008–2014. Tchounwou PB, ed. Int. Journal of Environmental Research and Public Health. 2014;11(11):11583-96. doi: 10.3390/ijerph111111583.

□ Alves MJ, Santos-Silva MM, Osório HC, Lopes de Carvalho I, Zé-Zé L, Sousa R, Amaro F, Santos AS, Nuncio S e equipa REVIVE. REVIVE (Rede de Vigilância de Vetores) 2008-2014. Boletim Epidemiológico Observações. 2015;4(13):7-10.

Comunicações orais:

□ Zé-Zé L, Osório HC, Amaro F, Chelo IM, REVIVE workgroup, Alves MJ. Mosquito flavivirus survey in Portugal, 2006-2009. International meeting on Emerging Diseases and Surveillance, 4-7/02/2011 Viena, Áustria.

□ Alves MJ, Osório HC, Zé-Zé L, Amaro F, Carvalho I, Sousa R, Santos A, Santos Silva M, Nuncio MS, equipa REVIVE. Vigilância de Vetores em Portugal – REVIVE – Agentes Infeciosos Identificados e sua Importância em Saúde Pública. Selecionado para comunicação oral. III Congresso Nacional de Saúde Pública, 25-26 /10/2012, Coimbra.

□ Alves MJ. Vetores e Doenças transmitidas, Impacto nas políticas de saúde pública, ambientais e económicas. Dia do INSA: Saúde em todas as Políticas, 01/10/2013, Lisboa.

□ Alves, MJ. Sistemas de vigilância de vetores e agentes transmitidos. 1.º Simpósio de Saúde Pública do Barroso, 14/06/2013, Boticas.

□ Alves, MJ “The REVIVE project, Portugal”. VBORNET, 4th Annual General meeting, Antuérpia, 27-29/11/2013.

□ Osório, H. Rede de Vigilância de Vetores em Portugal (REVIVE). Workshop Dengue presente e futuro. UNL, IHMT, CMDT, 29-30/11/2013, Lisboa.

□ Osório HC, Zé-Zé L, Amaro, Alves MJ. Epidemiology of vector-borne diseases and impact on vector distribution: risk assessment, modelling, remote sensing analysis, climate changes. 19th E-SOVE Conference Thessaloniki, 13-17/10/2014, Grécia.

□ Alves MJ. REVIVE: National Vector Surveillance Network. 3.º Congresso Nacional de Medicina Tropical e 1.º Congresso Lusófono de Doenças Transmitidas por Vetores. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, 20-21/04/2015, Lisboa.

Comunicações em painel:

□ Zé-Zé L, Amaro F, Osório HC, MJ Alves. Vigilância de Flavivírus em Mosquitos. IV Congresso Nacional de Saúde Pública, 2-3/10/2014, Lisboa.

□ Antunes M, Bermudez P, Proença MC, Rebelo MT, Alves MJ, Osório HC & REVIVE team. Modelling the abundance of *Culex pipiens* in Portugal in a Bayesian perspective. 3rd International Conference on Dynamics, Games and Science, 17-21/02/2014, Porto.

□ Antunes M, Bermudez P, Proença MC, Rebelo MT, Alves MJ, Osório HC & REVIVE team. Modelling the abundance of *Culex pipiens* in Portugal in a Bayesian perspective. Bayesian Biostatistics 2014 – International Biometric Conference, 2-5/07/2014, Zurique.

- Proença MC, Rebelo MT, Antunes M, Alves MJ, Osório H and REVIVE team. Using remote sensed data to assess danger from virus vector in Portugal, ForestSAT2014: a bridge between forest sciences, remote sensing and geo-spatial applications, 4-7/11/2014, Riva del Garda.
- Antunes M, Bermudez P, Proença MC, Rebelo MT, Alves MJ, Osório H. Modelling the abundance of *Culex pipiens* in Portugal. Royal Statistical Society RSS 2014 International Conference, 1-4/09/2014, Sheffield, UK.
- Proença MC, Rebelo MT, Antunes M, Alves MJ, Osório HC, Cunha S, Casaca J and REVIVE Team. The *Culex pipiens* Niche: Assessment with Climatic and Physiographic Variables via a Geographic Information System. 17th International Conference on Ecological and Environmental Engineering. 09/07/2015, Estocolmo, Suécia.

5. Formações

No âmbito do REVIVE são organizadas ações de formação, com duração de um dia, 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.

A formação é da responsabilidade dos investigadores do CEVDI/INSA que prepararam um “Manual REVIVE”, revisto anualmente, para distribuição aos formandos.

As ações de formação REVIVE – Mosquitos ocorreram em 2008 (1.º protocolo) e anualmente desde 2011 (2.º protocolo), tendo contado com a participação de 169 formandos.

As ações de formação decorrem em maio e a informação está disponível em www.insa.pt.

6. Resultados REVIVE 2015 e totais 2011-2015

6.1. Vigilância nos concelhos

6.1.1. Locais e Esforço de Captura

Em 2015 o trabalho de campo, realizado pelas regiões de saúde, para recolha de mosquitos adultos e imaturos, decorreu entre maio e outubro e, no âmbito da vigilância de pontos de entrada (portos, aeroportos e regiões de fronteira), entre janeiro e dezembro em 10 portos, três aeroportos, um aeródromo e duas regiões de fronteira.

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.

As colheitas de mosquitos adultos e imaturos em 2015 foram realizadas em 156 concelhos de Portugal continental e Madeira. No período 2011-2015 foram sistematicamente estudados 186 concelhos (Figura 2).

O esforço de captura por concelho (número de colheitas) de mosquitos adultos em 2015 foi em média de 6,6 (intervalo de 1 a 32) e de mosquitos imaturos de 25,1 (intervalo de 1 a 170) colheitas/concelho. No período 2011-2015 o esforço de captura de mosquitos adultos foi em média 22,7 (intervalo de 1-580) e de mosquitos imaturos de 55,7 (intervalo de 1 a 478) colheitas/concelho (Figura 3).

Em 878 colheitas de mosquitos adultos (armadilhas/noite) efetuadas em 2015 foram capturados 6609 mosquitos e em 2100 colheitas de imaturos (boletins) foram recolhidos 31189 larvas e pupas de mosquito.

No período 2011-2015, em 3617 colheitas de mosquitos adultos foram capturados 53698 mosquitos e em 6043 colheitas de imaturos foram recolhidos 116580 larvas e pupas de mosquito (Figura 4).

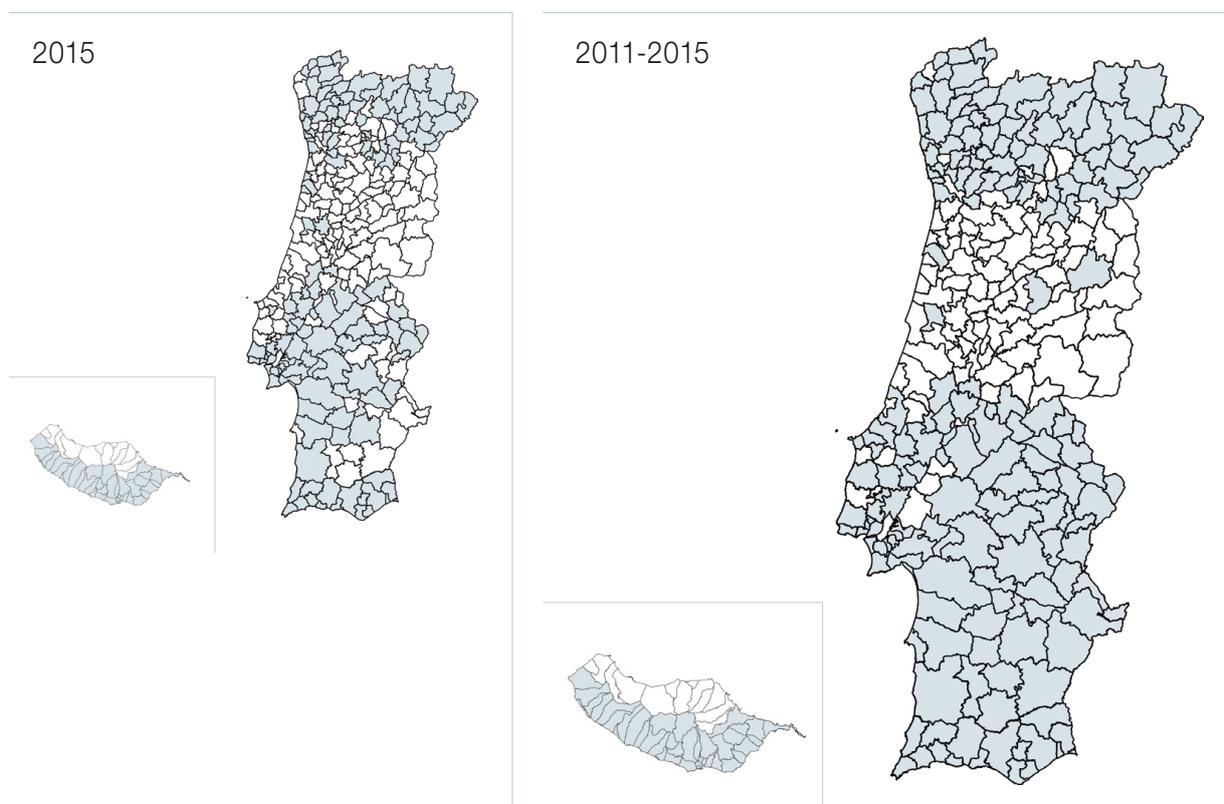


Figura 2: Concelhos com colheitas REVIVE 2015 e totais 2011-2015

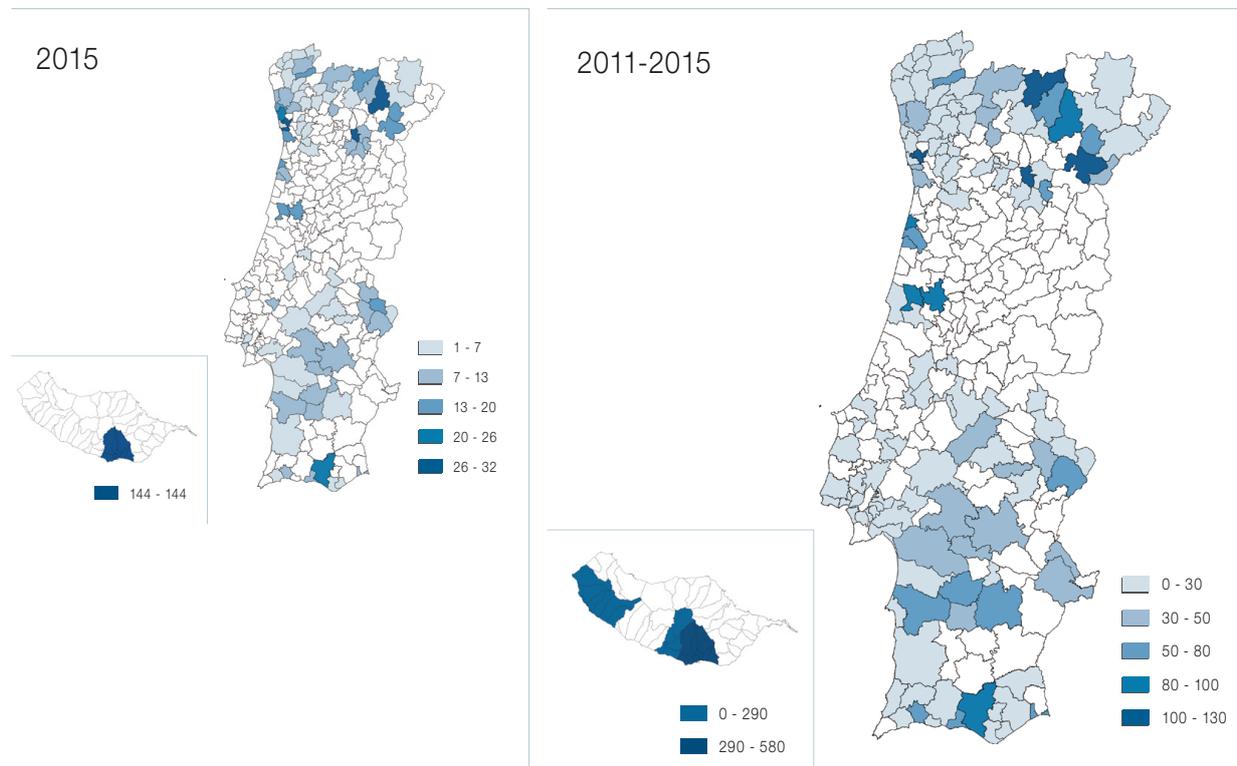


Figura 3: Esforço de captura de mosquitos no estágio imaturo REVIVE 2015 e totais 2011-2015

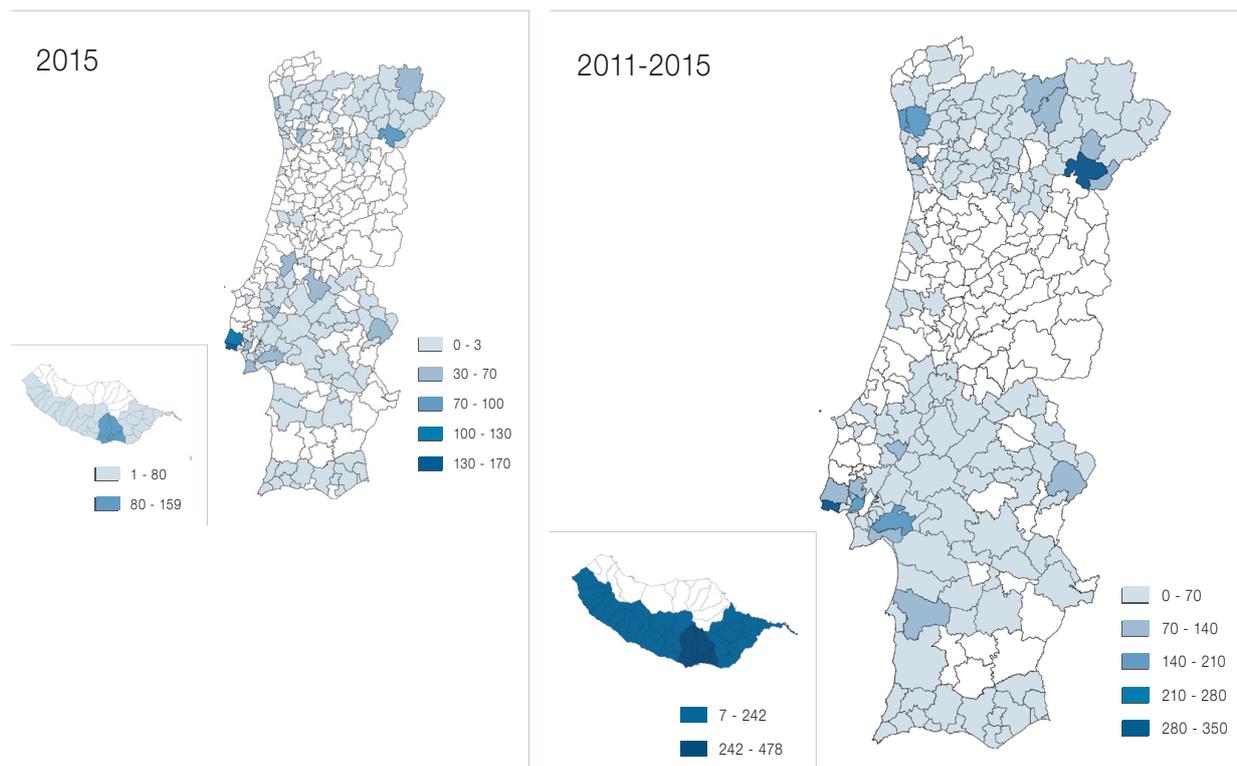


Figura 4: Esforço de captura de mosquitos no estágio adulto REVIVE 2015 e totais 2011-2015

6.1.2. Espécies identificadas

Os mosquitos adultos e imaturos foram identificados nos laboratórios do CEVDI/INSA.

Dos mosquitos colhidos como adultos em 2015 e no total 2011-2015, 92 e 91%, respetivamente, eram fêmeas devido ao método de captura mais utilizado, nomeadamente as armadilhas CDC desenhadas para atrair fêmeas, e prováveis vetores de agentes patogénicos.

Em 2015 foram identificados no laboratório 21 espécies de mosquito.

De 2011 a 2015 foram identificadas 25 espécies do total das 40 espécies referenciadas para o território português.

A única espécie exótica/invasora identificada foi *Aedes aegypti*, na ilha da Madeira, onde está registada a sua presença desde 2005.

Aedes albopictus, outra espécie exótica/invasora, ainda não foi identificada no âmbito do REVIVE, nem em Portugal continental nem na Região Autónoma da Madeira.

Abaixo e nas páginas seguintes descrevem-se as espécies identificadas e com importância em

saúde pública, ou por serem vetores de doença ou por serem incomodativas para a população, a sua abundância e a respetiva distribuição geográfica nas colheitas realizadas em 2015 e no total 2011-2015.

Para além das espécies apresentadas nos mapas foram ainda identificadas outras espécies com abundâncias relativas inferiores a 5% e/ou com pouca expressão como vetores de agentes etiológicos, nomeadamente *Anopheles algeriensis*, *An. cinereus*, *An. claviger*, *An. eatoni*, *An. plumbeus*, *Coquilletidea richiardii*, *Culiseta annulata*, *Culex hortensis*, *Cx. impudicus*, *Cx. laticinctus*, *Cx. mimeticus*, *Cx. modestus*, *Cx. territans*, *Cx. torrentium*, *Ochlerotatus berlandi*, *Oc. detritus*, *Oc. geniculatus* e *Uranotaenia unguiculata*.

Os mapas representam a cinzento os concelhos onde foram realizadas colheitas, tanto de mosquitos adultos como de imaturos, e a azul os concelhos onde foram identificadas as espécies. Nos concelhos representados a branco não foram realizadas colheitas. O mapa à esquerda diz respeito às colheitas realizadas em 2015 e o mapa central ao total das colheitas de 2011 a 2015.

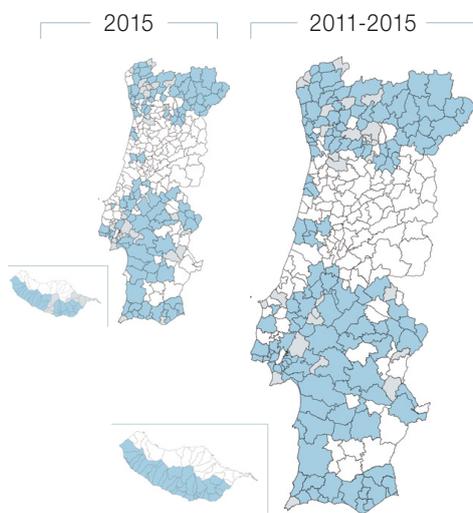


Figura 7: Distribuição geográfica de *Culex pipiens*

***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 ornitofílica, 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*.

A abundância relativa de *Cx. pipiens* determinada no REVIVE 2015 foi de 57% em mosquitos adultos e de 42% em imaturos no continente e de 20% e 17%, respetivamente, na Madeira.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 41% *Cx. pipiens* adultos e 45% imaturos no continente e de 25% mosquitos adultos e 31% imaturos, respetivamente, na Madeira.

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

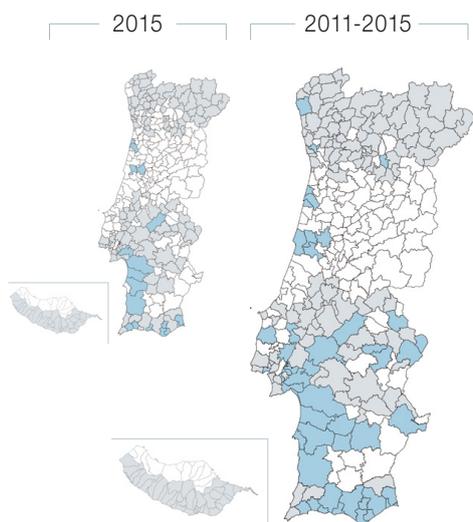


Figura 8: Distribuição geográfica de *Ochlerotatus caspius*

***Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius* Pallas, 1771**

Ochlerotatus caspius é uma espécie amplamente distribuída na região Paleártica.

Ochlerotatus caspius é um mosquito halofílico 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*.

A abundância relativa de *Oc. caspius* determinada no REVIVE 2015 foi de 15% em mosquitos adultos e de 0,3% em imaturos no continente. A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 17% mosquitos *Oc. caspius* adultos e 0,3% 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.

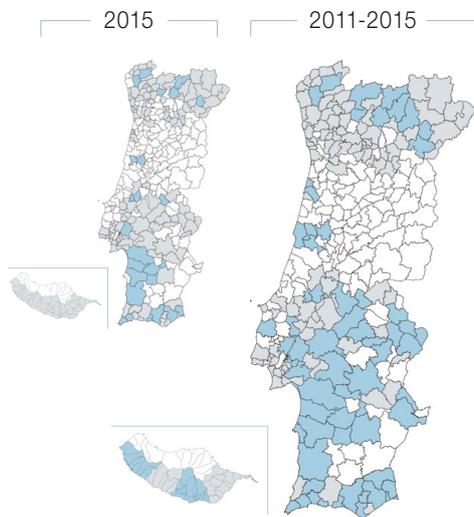


Figura 9: Distribuição geográfica de *Culex theileri*

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.

A abundância relativa de *Cx. theileri* determinada no REVIVE 2015 foi de 17% em mosquitos adultos e de 0,2% em imaturos no continente, não tendo sido identificada esta espécie na Madeira.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 34% em mosquitos adultos e 0,4% imaturos no continente e na ilha da Madeira foi de 8% e 9%, respetivamente.

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.

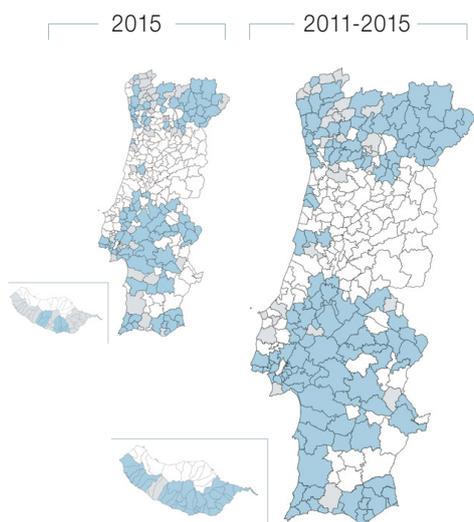


Figura 10: Distribuição geográfica de *Culiseta longiareolata*

Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata Macquart, 1838

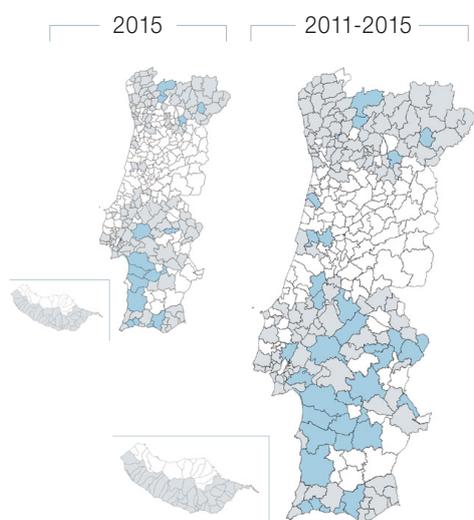
Culiseta longiareolata apresenta uma distribuição ampla e descontínua que inclui a região Paleártica Central e Sul e a região Afro-tropical.

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.

A abundância relativa de *Cs. longiareolata* determinada no REVIVE 2015 foi de 2% em mosquitos adultos e de 49% em imaturos no continente e de 0% e 1%, respetivamente, na Madeira.

A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 1% em mosquitos adultos e 47% 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.



***Culex (Culex) perexiguus* Theobald, 1903**

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

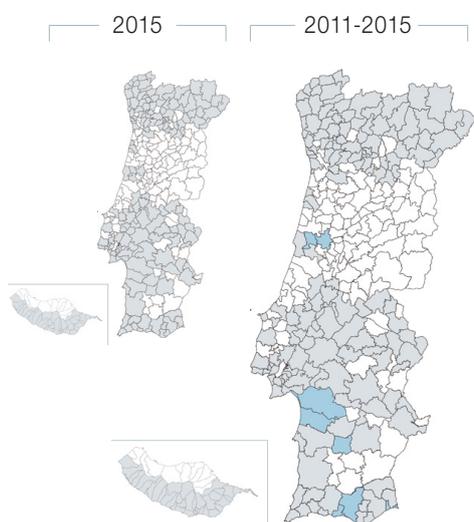
Culex perexiguus é um mosquito frequentemente identificado na região centro e sul de Portugal. É mais abundante no fim do Verão e Outono. As larvas desenvolvem-se em criadouros domésticos (vasos de plantas) ou naturais (linhas de água) e a água é geralmente límpida.

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*.

A abundância relativa de *Cx. perexiguus* determinada no REVIVE 2015 e no total de 2011-2015 foi de 1% em mosquitos adultos e de 0% em imaturos.

Figura 10: Distribuição geográfica de *Culex perexiguus*



***Culex (Barradius) 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 frequentemente encontrada 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 2 g/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 2012 o programa REVIVE detetou esta espécie no concelho de Coimbra.

Em 2013 como em 2014 esta espécie foi apenas detetada na região do Algarve.

Em 2015 esta espécie não foi identificada no REVIVE.

A abundância relativa de *Cx. modestus* determinada no 2011-2015 foi de 0,5% em mosquitos adultos. Em imaturos foi apenas identificado um espécime.

Figura 10: Distribuição geográfica de *Culex modestus*

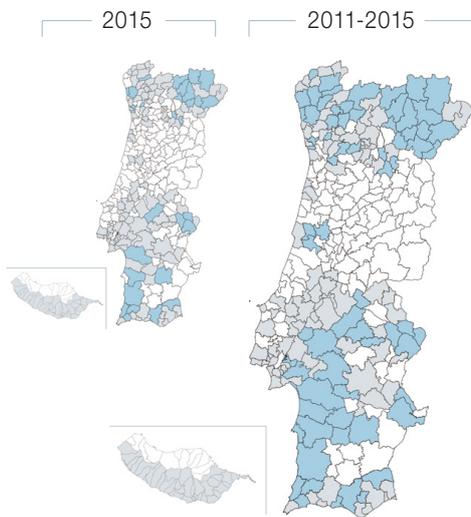


Figura 11: Distribuição geográfica de *Anopheles maculipennis* s.l.

Anopheles (Anopheles) maculipennis s.l. Meigen, 1818

Anopheles maculipennis s.l. representa um complexo de espécies indistinguíveis por caracteres morfológicos nos estádios de adulto e imaturo, com exceção dos ovos que fornecem algumas características diagnósticas das espécies. Na Europa estão identificadas sete espécies neste complexo e em Portugal quatro, sendo a espécie *An. atroparvus* a mais abundante e amplamente distribuída.

Anopheles atroparvus é uma espécie Paleártica ocidental da sub-região Mediterrânica e está distribuída em Portugal Continental, tendo sido o principal vetor da malária em Portugal.

As larvas desenvolvem-se em criadouros de águas calmas, limpas e expostas ao sol, podendo ser ligeiramente salobras como, por exemplo, pântanos costeiros, canais de irrigação e arrozais. Podem entrar em casas e estábulos, onde são frequentemente encontrados em repouso.

Anopheles atroparvus é uma espécie zoofílica, normalmente associada a animais domésticos ou de criação, encontrando-se em elevado número em abrigos animais fechados, como coelheiras, pocilgas e estábulos. É geralmente nestes locais onde as fêmeas invernam.

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 2015 e no total 2011-2015 foi de 1% em mosquitos adultos e de 0,5% 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.

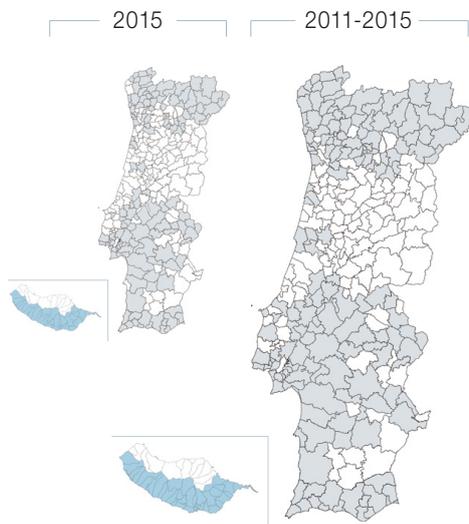


Figura 12: Distribuição geográfica de *Aedes aegypti*

***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 detetada 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 detetado na freguesia de Santa Luzia, Funchal, Madeira. Tudo indica que terá chegado à região numa importação de palmeiras para um jardim público. Apesar das medidas de combate, com recurso a desinfestações, 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 Dengue, febre-amarela, Zika e vírus Chikungunya, pode também transmitir o vírus *West Nile*, a mixomatose, o plasmódio aviário e a filariase canina.

A abundância relativa de *Ae. aegypti* determinada no REVIVE 2015 na Madeira foi de 80% em mosquitos adultos e de 81% em imaturos. A abundância na amostragem REVIVE 2011-2015 foi de 58% e 51%, respetivamente.

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

6.2. Vigilância nos portos e aeroportos

6.2.1. Locais e esforço de captura

De acordo com o Regulamento Sanitário Internacional (D.R. 1.ª série, n.º 16, de 23 de janeiro de 2008) devem ser estabelecidos 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.

A vigilância nestes locais deve ser realizada durante todo o ano.

A vigilância em aeroportos, no âmbito do REVIVE 2015 foi realizada nos três aeroportos internacionais, Faro, Lisboa e Porto, e no aeródromo de Tires, Cascais.

A vigilância em portos, no âmbito do REVIVE 2015, foi realizada em dez portos, nomeadamen-

te Aveiro, Faro, Figueira da Foz, Leixões, Lisboa (Almada), Portimão, Setúbal, Sines, Viana do Castelo e Vila Real de Santo António.

A vigilância em zonas de fronteira foi realizada em Alcoutim e Castro Marim, no Algarve.

Na [Figura 13](#) representa-se o esforço de captura (número de colheitas) realizado nos concelhos exclusivamente no âmbito dos portos e aeroportos.

Em 2015 foram capturados 2231 mosquitos adultos em 158 armadilhas/noite e 1940 mosquitos imaturos foram colhidos, sobretudo em *ovitrap*s (criadouros artificiais para oviposição), vigiadas 1811 vezes.

No REVIVE 2011-2015 foram capturados 15233 mosquitos adultos em 599 armadilhas/noite e 6017 mosquitos imaturos, sobretudo em *ovitrap*s (criadouros artificiais para oviposição), vigiadas 4318 vezes.

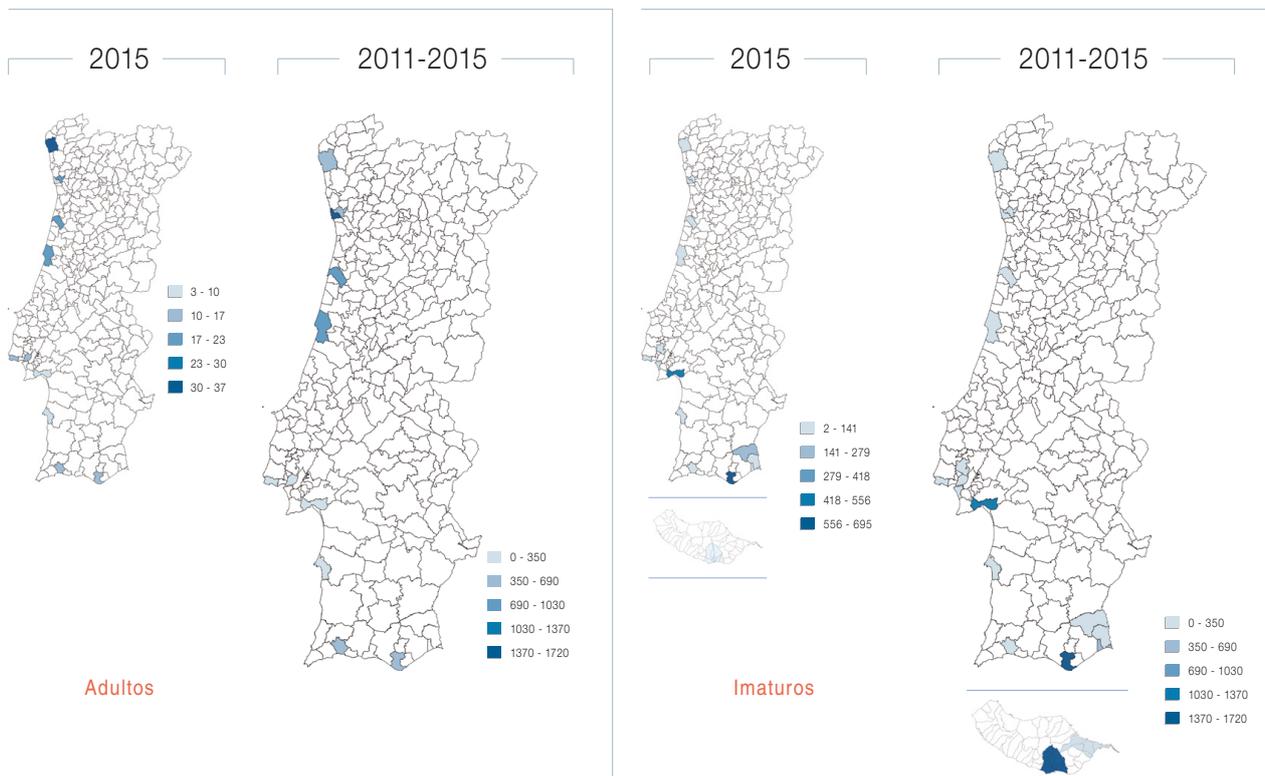


Figura 13: Vigilância de mosquitos adultos e imaturos em portos, aeroportos e fronteira

6.2.2. Espécies identificadas

No âmbito do REVIVE foram identificadas, em 2015, nove espécies de mosquitos em zonas de fronteira e no perímetro exterior e interior de portos e aeroportos do país.

No total, de 2011 a 2015, foi realizada vigilância de mosquitos em três aeroportos, um aeró-

dromo, dez portos e duas zonas de fronteira e foram identificadas doze espécies de mosquitos (Quadro 1).

As espécies mais abundantes coincidem com as espécies detetadas no resto do país.

Não foram identificadas espécies exóticas/invasoras na vigilância realizada no âmbito do REVIVE.

Quadro 1: Espécies identificadas em portos, aeroportos e zonas de fronteira

	Colheitas Adultos	Colheitas Imaturos	Espécies identificadas											
			Armadilhas /noite	Ovitrap	An. maculipennis	Cq. richiardii	Cs. annulata	Cs. longiareolata	Cx. hortensis	Cx. laticinctus	Cx. pipiens	Cx. perexiguus	Cx. theileri	Cx. torrentium
Aeroporto														
Faro	57	1592				X		X	X		X	X	X	X
Lisboa	28	41		X		X		X	X	X			X	
Porto	49	21							X					
Aeródromo														
Tires	16	60				X			X					
Porto marítimo														
Aveiro	80	133				X			X		X		X	
Faro		125				X			X					
Figueira da Foz	84	20	X			X			X		X		X	X
Leixões	122	13	X		X	X			X		X			
Lisboa (Almada)		27	X			X			X					
Portimão	54	213				X			X	X	X		X	
Setúbal	16	1124							X				X	
Sines	34	216	X		X	X			X		X		X	X
Viana do Castelo	59	96			X	X	X		X		X		X	X
V. R. de Stº António		359			X	X			X		X			
Fronteira														
Alcoutim		270				X			X	X				
Castro Marim		4												

6.3. Pesquisa de agentes patogénicos

No âmbito do REVIVE tem-se efetuado a pesquisa dos agentes patogénicos transmitidos por mosquitos com maior impacto em saúde pública, presentes ou em risco de serem introduzidos em Portugal. Neste sentido, todos os *pools* de mosquitos de espécies com capacidade vetorial, têm sido pesquisados para a presença de ácidos nucleicos de flavivírus (que incluem os vírus *West Nile*, Dengue, Febre Amarela, Zika, Encefalite Japonesa e outros).

A pesquisa do plasmódio da malária em mosquitos do complexo *Anopheles maculipennis* capturados no âmbito da vigilância em aeroportos, também está preconizada no âmbito do REVIVE. Em 2015 não foram identificados *An. maculipennis* nos 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 insetos (*Insect Specific Flavivirus*, ISFs) que podem representar um grupo primordial de flavivírus, aparentemente incapazes de infetar vertebrados^{19,20,21}.

Devido aos casos de infeção humana²² e equina²³ por vírus *West Nile* detetados no Algarve em

agosto de 2015, todos os *pools* de espécies vetoras deste vírus desta região (e alguns selecionados de outras regiões do país) foram especificamente pesquisados para a presença de ARN do vírus *West Nile* por RT-PCR em tempo real²⁴. No total foram analisados por PCR em tempo real para deteção do vírus *West Nile*, um total de 648 mosquitos em 43 *pools* de espécies vetoras (dos quais 64% do Algarve). Todos os *pools* analisados foram negativos.

A totalidade dos espécimes de mosquitos adultos *Aedes aegypti* provenientes da Madeira são testados para a presença de flavivírus, devido ao surto de dengue que ocorreu em 2012/2013 naquela ilha. Uma parte dos mosquitos que chegam no estádio de ovo da Madeira são colocados a eclodir e posteriormente analisados na forma de adulto.

Em 2015, no total foram pesquisados para a presença de flavivírus 5065 mosquitos em 217 *pools* de espécies vetoras. Nesta amostra não foram identificados flavivírus patogénicos para o Homem, nem ISFs.

Os ISFs representam um subgrupo de flavivírus com uma elevada diversidade genética. Até ao momento apenas foram isolados ou detetados em insetos, apresentando incapacidade ou dificuldade de se replicar em células de vertebrados. O primeiro ISF reconhecido foi o *Cell Fusing Agent*

19. Calzolari M, Zé-Zé L, Vázquez A, Seco MPS, Amaro F, Dottori M. Insect-specific flaviviruses, a worldwide widespread group of viruses only detected in insects. *Infection, Genetics and Evolution*. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2015.07.032>
20. Calzolari M, Zé-Zé L, Růžek D, Vázquez A, Jeffries C, Defilippo F, Osório HC, Kilian P, Ruiz S, Fooks AR, Maioli G, Amaro F, Tlustý M, Figuerola J, Medlock JM, Bonilauri P, Alves MJ, Šebesta O, Tenorio A, Vaux AG, Bellini R, Gelbič I, Sánchez-Seco MP, Johnson N, Dottori M. Detection of mosquito-only flaviviruses in Europe. *J Gen Virol*. 2012;93:1215-1225.
21. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol*. 1998;72(1):73-83.
22. Zé-Zé L, Proença P, Osório HC, Gomes S, Luz T, Parreira P, Fevereiro M, Alves MJ. Human case of West Nile neuroinvasive disease in Portugal, summer 2015. *EuroSurveill*. 2015;20(38):pii=30024. doi: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.38.30024>.
23. World Organisation for Animal Health. West Nile Fever, Portugal (online) [consult. 20-06-2015]. www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=18585
24. Barros S C, Ramos F, Zé-Zé L, Alves M J, Fagulha T, Duarte M, et al. Simultaneous detection of West Nile and Japanese Encephalitis virus RNA by duplex TaqMan RT-PCR. *J Virol Methods*. 2013;193(2):554-7. doi: 10.1016/j.jviromet.

Virus (CFAV) que foi isolado em 1975 de uma linha celular de *Ae. aegypti*²⁵. Com a percepção da importância dos arbovírus como zoonoses emergentes e o desenvolvimento de programas de vigilância entomológica, o isolamento e detecção de ISFs tem sido reportado em todos os continentes. No âmbito do REVIVE foram detetados três tipos diferentes de ISFs, associados a diferentes géneros de mosquitos *Aedes* (*Ae. aegypti* na Madeira, 2010, 2013 e 2014), *Culex* (*Cx. theileri* em Lisboa e Vale do Tejo, 2008, e no Alentejo em 2009 e 2010) e *Ochlerotatus* (*Ochlerotatus caspius* no Algarve, 2008).

Na análise filogenética, apresentada na Figura 14 pode-se observar que todas as sequências de flavivírus identificadas até ao momento no âmbito do REVIVE, pertencem ao grupo dos vírus específicos de insetos, que são completamente distintos dos vírus dos grupos de causam doença no Homem. Os flavivírus patogénicos apresentados na Figura 14, representam sequências de vírus identificados no INSA em casos importados (vírus Dengue e Zika) e autóctones (Dengue 1, Madeira) no âmbito do diagnóstico, ou isolados a partir de mosquitos (*West Nile*, Roxo).

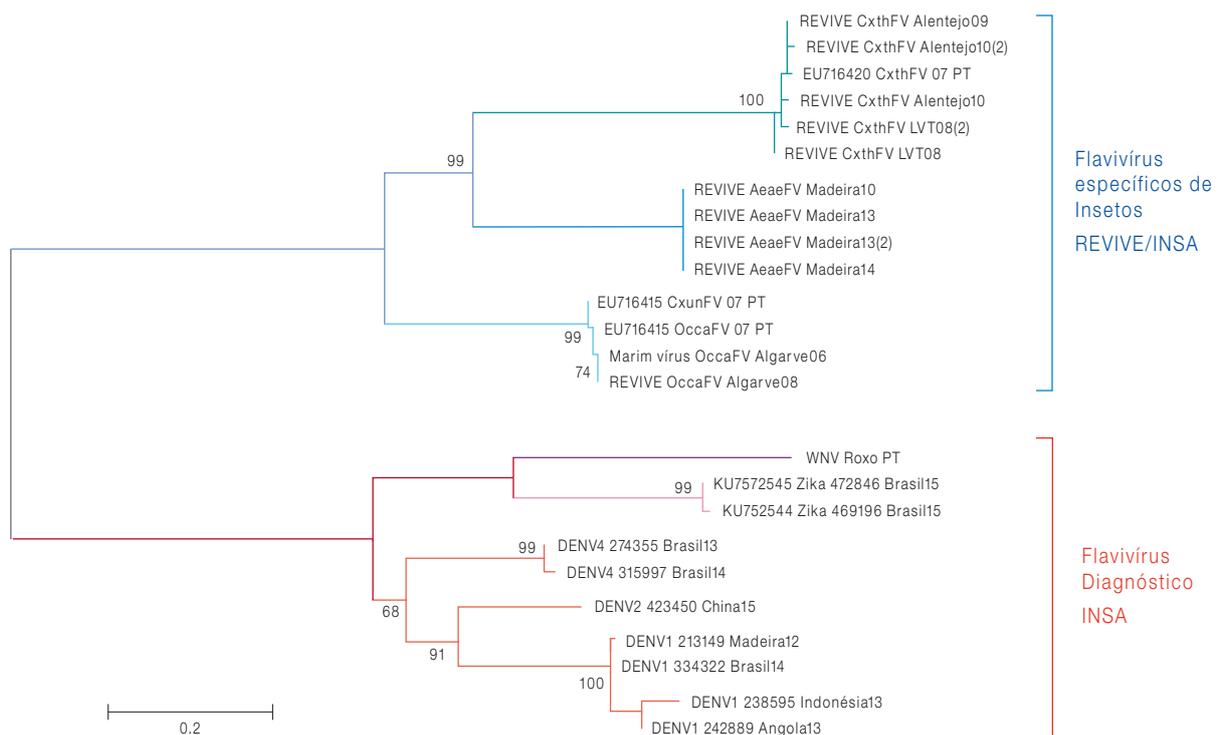


Figura 14: Árvore filogenética máxima parcimónia baseada em sequências parciais da proteína não estrutural NS5 obtida recorrendo ao software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA), versão 6. Os valores de bootstrap superiores a 60 são apresentados na árvore. Os flavivírus específicos de insetos estão representados a azuis e os flavivírus patogénicos para o Homem identificados no INSA (no âmbito do diagnóstico laboratorial) estão representados a vermelhos. Todas as sequências apresentam a identificação do vírus, país ou região de origem e ano de deteção: AeaeFV, Flavivírus detetados em *Aedes aegypti*; CxthFV, Flavivírus detetados em *Culex theileri*; CxunFV, Flavivírus detetados em *Culex univittatus*; OccaFV; Flavivírus detetados em *Ochlerotatus caspius*; WNV, vírus *West Nile*; DENV1, vírus Dengue serotipo 1; DENV2, vírus Dengue serotipo 2; DENV4, vírus Dengue serotipo 4.

25. Stollar V, Thomas VL. An agent in the *Aedes aegypti* cell line (Peleg) which causes fusion of *Aedes albopictus* cells. *Virology*. 1975;64(2):367-77.

7. Conclusões REVIVE 2011-2015 – Culicídeos

Entre maio e outubro de 2015 realizaram-se, em 156 concelhos de Portugal, 878 colheitas de culicídeos adultos e 2100 de imaturos.

A vigilância em portos e aeroportos foi realizada de janeiro a dezembro em três aeroportos, num aeródromo, em dez portos e em duas zonas de fronteira em 158 colheitas de culicídeos adultos e em *ovitraps* vigiadas 1811 vezes.

No laboratório foram identificados 37798 mosquitos de 21 espécies com origem nos concelhos e 4273 mosquitos com origem nos portos e aeroportos.

Na pesquisa de flavivírus não foram identificados vírus patogénicos.

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

Em 2015 termina o 2.º protocolo REVIVE e é 8.º ano de aplicação do programa REVIVE.

Desde o início do programa REVIVE foram colhidos e identificados 259111 espécimes de mosquitos em 189 concelhos de Portugal continental e Madeira.

A actividade viral detetada 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 2011-2015



Ixodídeos



DGS – Divisão de Saúde Ambiental

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

INSA/DDI - Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac

Maria Margarida Santos-Silva

Rita de Sousa

Isabel Lopes de Carvalho

Ana Sofia Santos

Hugo Osório

Maria João Alves

Maria Sofia Nuncio



1. Introdução

Os artrópodes vetores que constituem um maior risco para a saúde pública em Portugal e na Europa, são os ixodídeos (carraças). Neste âmbito em 2011 foi inserido nos objetivos do REVIVE também a vigilância sistemática destes vetores.

A incidência das doenças associadas à transmissão de agentes patogénicos por ixodídeos depende de fatores como a atividade, abundância, taxa de infeção e a exposição do homem a estes vetores. Por sua vez estas variáveis são influenciadas por outros fatores como por exemplo as alterações climáticas que condicionam o ciclo dos ixodídeos, e o comportamento humano (social, recreativo, tecnológico).

Considerando que são doenças que podem ser prevenidas, cujos métodos para controlo e prevenção amplamente conhecidos, é apenas necessário conhecer e caracterizar a zona geográfica para poderem ser estabelecidas medidas que visem mitigar o efeito das doenças associadas a carraças na população. Assim, é necessário conhecer quais as espécies de carraças presentes, qual a sua abundância, a taxa de infeção para cada um dos agentes infecciosos que circulam na mesma zona geográfica, período de atividade, principais hospedeiros e fatores de risco para a população exposta ao contacto com carraças.

2. 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 infetadas, transmitir os agentes infecciosos enquanto realizam a sua alimentação.

Atualmente 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 21 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 15](#)).

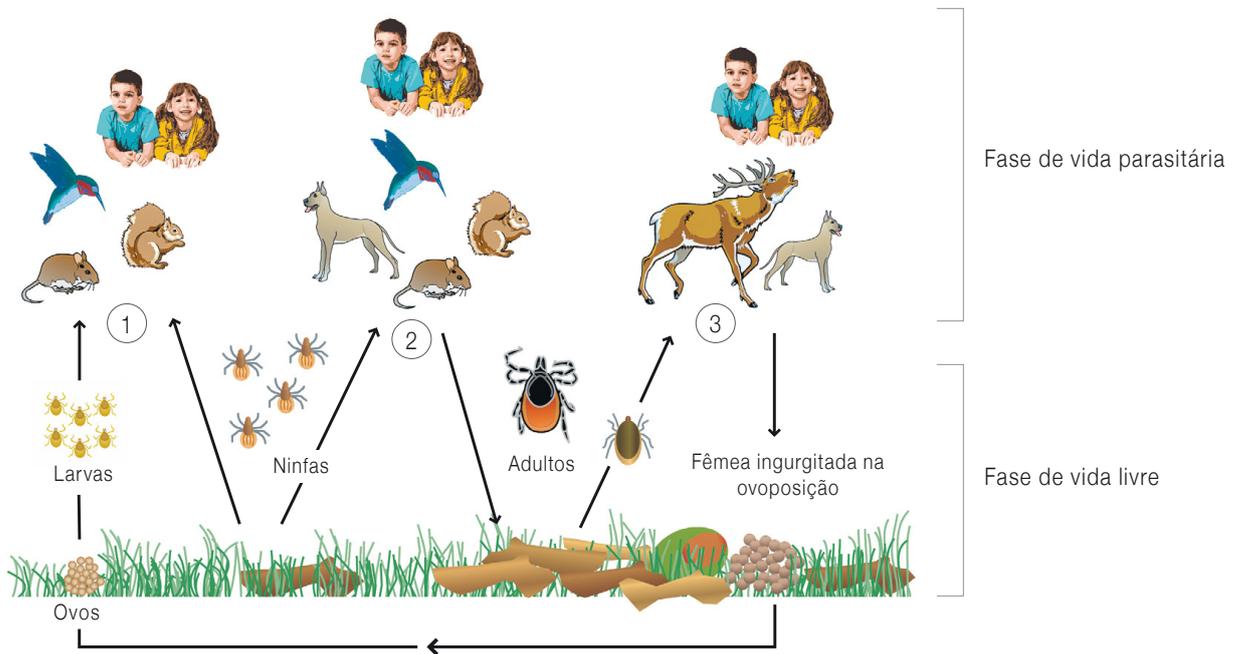


Figura 15. Ciclo de vida dos ixodídeos

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 efetuar, 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 20 000 no caso do género *Amblyomma*, no entanto a maioria das espécies presentes em Portugal apresentam posturas na ordem dos 3 000 - 5 000 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 efetuar 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 efetuada diretamente 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 efetuar 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 infeção à progenitura (transmissão transovarial). A percentagem de fêmeas transmitindo um agente transovaricamente e a percentagem da geração seguinte que eclode já infetada depende do grau de infeção 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 detetar 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 deteção e profilaxia.

A lista atualizada de espécies de carraças presentes em Portugal engloba 21 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 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* (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 identificadas²⁶, 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 do agente da febre escaro nodular, e *Ixodes ricinus*, vetor do agente da borreliose de Lyme.

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. ventralloii</i>
<i>Babesia divergens</i>	Babesiose	<i>Ixodes spp.</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i> s.s.	Borreliose de Lyme	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>B. garinii</i>		
<i>B. afzelii</i>		
<i>B. valaisiana</i>		
<i>B. lusitaniae</i>		
<i>B. turdi</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 sp.</i> , <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 spp.</i> , <i>Rhipicephalus spp.</i>
Vírus Eyach	Sem denominação	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes ventralloii</i>
Vírus TBE	Encefalite	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Haemaphysalis punctata</i>

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

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

Febre escaro nodular e outras rickettsioses

A febre escaro nodular (FEN) é uma doença endémica em Portugal.

O agente etiológico responsável por esta patologia é a bactéria *Rickettsia conorii*.

Rhipicephalus sanguineus, vulgarmente designada por carraça do cão, é o vetor mais importante sob o ponto de vista epidemiológico da FEN. 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 estágio responsável pelo maior número de casos de FEN nos meses de agosto e setembro. Apesar de ser uma doença com características estivais, 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 caracteriza-se clinicamente como uma doença exantemática, com um processo de vasculite generalizado. O diagnóstico da FEN é habitualmente clínico. Contudo em Portugal, segundo a Circular Normativa n.º3/DSIA de 1999 da DGS, os casos suspeitos devem ter confirmação laboratorial. Esta circular descreve ainda que o diagnóstico clínico de FEN baseia-se na “*observação de febre de início súbito, artralguas e mialgias, com aparecimento de uma erupção maculopapulosa não pruriginosa, afetando geralmente as regiões palmar e plantar dos membros entre o*

3.º e 5.º dia. 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 atividades ao ar livre, a atividade 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^{27,28}. A FEN é uma doença com uma distribuição homogénea relativamente aos sexos e o grupo etário mais afetado 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.

No [Quadro 2](#), apresentam-se ainda outras espécies de rickettsias capazes de causar doença no Homem. Apesar de todas estas espécies terem sido detetadas em ixodídeos no nosso País, estão apenas descritos casos clínicos de infeção por *R. sibirica mongolitimoniae* e por *R. slovaca*²⁹.

27. Sousa R, Nobrega SD, Bacellar F & Torgal J. Sobre a realidade epidemiológica da febre escaro-nodular em Portugal. *Acta Méd. Port.* 2003;16:430-8.

28. 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.

29. 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

Borreliose de Lyme

A borreliose de Lyme é uma doença multissistémica, que pode afetar 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 afetados e causar lesões ao nível articular (artrite de Lyme), neurológico (neuroborreliose) ou dermatológico (acrodermatite crónica atrofiante).

Esta doença tem uma distribuição mundial e é causada por espiroquetas do complexo *B. burgdorferi* sensu lato, que são transmitidas por carraças antropófilas do género *Ixodes*. Atualmente 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 a partir de *I. ricinus* colhidos em Águas de Moura³⁰. Estudos recentes demonstraram que esta espécie é patogénica para o Homem^{31,32}. No nosso País, apesar de já terem sido detetadas borrelíias 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 borrelíias 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 efetuada pela inoculação das bactérias juntamente com a saliva, durante a refeição sanguínea. A transmissão pode ocorrer 24h após o início da refeição, mas a maior parte das borrelíias só passa para o sangue do hospedeiro ao fim de 48h. Qualquer dos estádios (larva, ninfa e adulto) pode transmitir o agente ao homem. O estágio ninfal parece ser o mais perigoso uma vez que como possui menores dimensões tornando-se mais difícil de ser detetado. Estas bactérias já foram isoladas a partir de várias espécies de mamíferos domésticos e silvestres e de espécies de aves^{33,34}. Todos eles demonstram ser reservatórios competentes, dependendo da genoespécie de borrelíia.

3. Objetivos e metodologias REVIVE

Objetivos

O REVIVE-Carraças tem como objetivo geral identificar as espécies de carraças em circulação em Portugal e pesquisar agentes patogénicos transmitidos por estas, como as bactérias do género *Rickettsia* e *Borrelia*, no sentido de contribuir para o conhecimento da distribuição geográfica da abundância e períodos de atividade das espécies importantes em saúde pública.

-
30. Nuncio MS, Péter O, Alves MJ, Bacellar F e Filipe AR. Isolamento e caracterização de borrelíias de *Ixodes ricinus* L. em Portugal. Rev. Port. Doença Infec. 1992;16(3):175-9.
 31. 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.
 32. 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.
 33. 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):531-4
 34. 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):386-7.

São objectivos específicos do REVIVE – Carraças:

- Identificar as espécies de carraças existentes no continente, sua distribuição geográfica, atividade sazonal, abundância e associação a hospedeiros;
- Vigiar a introdução de espécies exóticas;
- Clarificar quais as espécies mais importantes como vetores de agentes de doença;
- Identificar os agentes de doença e prevalência de infecção das bactérias dos géneros *Borrelia* e *Rickettsia* nos ixodídeos;
- Promover campanhas de informação dirigidas para médicos, enfermeiros, outros técnicos de saúde e público em geral,
- Contribuir para decisões, intervenções e planeamento informado por parte das autoridades de saúde.

Metodologias

Colheitas

As colheitas de carraças são realizadas ao longo de todo o ano, quer na sua fase parasitária (em hospedeiros humanos, cães e outros animais) quer na sua fase de vida livre (normalmente na vegetação).

Colheita de carraças em fase de vida livre (vegetação)

As colheitas de carraças em fase de vida livre são realizadas em habitats onde há possibilidade, ou registo de ocorrência de carraças. As seleções de locais e calendários de colheitas são feitas pelas respetivas regiões, que informam o CEVDI/INSA antes das saídas de campo, para programação da chegada de material. 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 100m. As carraças são recolhidas, com o auxílio de pinças, acondicionadas em frascos com garantia de manutenção de nível mínimo de humidade no interior, identificados e mantidos no frigorífico até serem enviadas para o laboratório.

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

A colheita de carraças em diferentes hospedeiros, nomeadamente no Homem, em cães e em outros animais domésticos ou silváticos é efetuada por remoção directa, com o auxílio de pinças, acondicionadas em frascos com garantia de manutenção de nível mínimo de humidade no interior, identificados e mantidos no frigorífico até serem enviadas para o laboratório.

Transporte

As amostras são enviadas pelas ARS's para o CEVDI/INSA por correio, ou em mão, acondicionadas em malas refrigeradas, até três dias depois do início do trabalho de campo, em tripla embalagem como recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

Identificação dos exemplares colhidos

Os exemplares são identificados com base nos caracteres morfológicos e separados de acordo com a espécie, género, hospedeiro, data e local de colheita.

Pesquisa de agentes infecciosos (*Rickettsia* e *Borrelia*)

Depois de identificada a espécie cada carraça é lavada e extraído o ADN pelo método de hidrólise com solução de amónia. Posteriormente são feitos pools de ADN com uma a cinco carraças da mesma colheita, espécie e estado evolutivo. As carraças removidas de humanos são sempre analisadas individualmente, uma vez que a identificação dos agentes patogénicos presentes no vetor pode dar informação ao clínico da potencial patologia que o indivíduo poderá vir a desenvolver. A extração de ADN a partir destes ixodídeos é realizada com um *kit* comercial. A pesquisa de ADN específico de *Rickettsia* e *Borrelia* é realizada pela técnica de PCR convencional e as amostras positivas são posteriormente sequenciadas para a confirmação e identificação da espécie bacteriana.

4. Comunicação

O resultado da identificação e pesquisa de *Rickettsia* e *Borrelia* em carraças recolhidas no homem é enviado imediatamente após o seu processamento aos serviços de cada uma das ARS's.

De maio a outubro são enviados mensalmente, por correio eletrónico, aos participantes REVIVE resumos dos resultados das colheitas, identificações e pesquisas de agentes patogénicos. No resto do ano são enviados balanços bimestrais, pelo mesmo meio, com os resumos dos resultados da vigilância e identificações de ixodídeos.

No fim da época de colheitas e trabalho laboratorial de identificação de carraças e pesquisa de *Rickettsia* e *Borrelia*, o CEVDI/INSA prepara os quadros e resumo dos dados REVIVE relativo a cada uma das regiões (ARS Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte), na forma de relatório.

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.

Anualmente são enviados Relatórios Técnicos a cada uma das regiões e é preparado uma publicação REVIVE com resultados nacionais e colocada à disposição em www.insa.pt.

Os resultados do REVIVE, pela sua importância, têm ainda sido apresentados em reuniões ou revistas científicas com a co-autoria da equipa REVIVE.

Artigos científicos:

- Santos-Silva MM. Atualização de conhecimentos sobre as espécies ixodológicas nacionais: distribuição geográfica, sazonalidade, associações a hospedeiros vertebrados e importância em saúde pública. *Saúde em Números*. 2015;3:30-1.
- Louro M, Pereira MC, Pereira L, Santos AS, Santos-Silva MM, Guarda L. Implementação de procedimentos de boas práticas na remoção de ixodídeos no Homem nas unidades funcionais do Agrupamento de Centros de Saúde da Arrábida. *Saúde em Números*. 2015;3:32.
- Lopes de Carvalho I, Toledo A, Carvalho CL, Barandika JF, Respicio-Kingry LB, Garcia-Amil C, García-Pérez AL, Olmeda AS, Zé-Zé L, Petersen JM, Anda P, Nuncio MS, Escudero R. Francisella species in ticks and animals, Iberian Peninsula. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016;7(1):159-65.
- Alves MJ, Santos-Silva MM, Osório H, Lopes de Carvalho I, Zé-Zé L, Sousa R, Amaro F, Santos AS, Nuncio S e Equipa REVIVE. REVIVE (Rede de Vigilância de Vetores), 2008-2014. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2015;4(3):7-10.

□ Carina Carvalho, Sofia Nuncio, Isabel Lopes de Carvalho. Tularémia: uma zoonose emergente? Boletim Epidemiológico Observações. 2015;4(3):16-8.

Comunicações orais:

□ Santos AS, Santos-Silva MM, Lopes de Carvalho, Milhano N, Chainho L, Luz T, Parreira P, Gomes S, De Sousa R, Nuncio MS on behalf of REVIVE Workgroup. REVIVE, a surveillance program on vectors and vector-borne pathogens in Portugal – four year experience on ticks. WG1: The "One Health" concept in the ecology of vector-borne diseases. The 2nd Conference on Neglected Vectors and Vector-Borne Diseases with MC and WG Meetings of the COST Action TD1303. 31 mar.-2 abril, Izmir, Turkey.

□ Santos-Silva MM, Santos AS, Lopes de Carvalho I, Milhano N, De Sousa R, Nuncio MS. Atualização de conhecimentos sobre as espécies ixodológicas nacionais: distribuição geográfica, sazonalidade, associação a hospedeiros vertebrados e importância em Saúde Pública. IV Congresso Nacional de Saúde Pública, Forum Lisboa, 2-3 out., Lisboa.

□ Santos-Silva MM, Santos AS, Lopes de Carvalho I, De Sousa R, Nuncio MS. Ticks in Portugal: from the design of a networking program to the surveillance of ticks and tick-borne pathogens. Joint 8th International Ticks & Tick-borne pathogens (TTP8) & Biennial Society for Tropical Veterinary Medicine (STVM) Conference, 24-29 August 2014, Cape Town, South Africa.

□ Alves MJ, Osório H, Zé Zé L, Amaro F, Lopes de Carvalho I, Sousa R, Santos AS, Santos-Silva M, Nuncio MS e equipa REVIVE. Vigilância de Vetores em Portugal - REVIVE Agentes infecciosos identificados e sua importância em Saúde Pública. III Congresso Nacional de Saúde Pública, 26 out. 2012, Coimbra.

Comunicações em painel:

□ Lopes de Carvalho I, Carvalho CL, Zé-Zé L, Petersen JM, Nuncio MS. Detecção de *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* em carraças e em lagomorfos. Congresso de Saúde Pública, 3 out. 2014, Lisboa.

□ Lopes de Carvalho I, Santos AS, Santos-Silva MM, de Sousa R, Milhano N, Nuncio MS. REVIVE: deteção de *B. burgdorferi* s.l. e *Rickettsia* spp. em carraças removidas do Homem. IV Congresso Nacional de Saúde Pública, Forum Lisboa, 2-3 out., Lisboa.

□ Lopes de Carvalho I, Santos AS, Santos-Silva MM, de Sousa R, Nuncio MS and REVIVE workgroup. REVIVE a surveillance programme for ticks and tick-borne diseases: molecular detection of *B. burgdorferi* s.l. and *Rickettsia* spp. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2014), 10-13 mai, Barcelona, Espanha.

□ Lopes de Carvalho I, Santos AS, Santos-Silva M, Chainho L, Nuncio MS, Sousa R and REVIVE workgroup. Ticks parasitizing humans: Portuguese surveillance program for tick-borne diseases (REVIVE). XII International Jena Symposium on Tick-Borne Diseases, 21-23 mar., Weimar, Alemanha.

□ Santos-Silva M, De Sousa R, Lopes de Carvalho I, Santos AS, Nuncio MS and REVIVE Workgroup. A Portuguese networking program for the surveillance of tick and tick-borne diseases. Seventh Ticks and Tick-borne Pathogens International Conference – TTP7, 28 ago.- 2 set. 2011, Zaragoza, Espanha.

5. Formações

No âmbito do REVIVE-Ixodídeos são organizadas acções de formação, com duração de um dia, destinadas aos colaboradores REVIVE. Na formação pretende-se divulgar a importância da vigilância de vetores e agentes transmitidos, demonstrar o funcionamento do projeto REVIVE, assim como treinar os formandos para as colheitas de carraças.

A formação é da responsabilidade dos investigadores do CEVDI/INSA que prepararam um “Manual REVIVE-Ixodídeos” para distribuição aos formandos.

No decorrer do programa nacional, entre 2011 e 2015 foram instruídos 131 formandos.

Foram ainda realizadas acções de formação sobre boas práticas na remoção de carraças no Homem, dirigidas a médicos e enfermeiros, nos concelhos de Palmela, Setúbal e Sesimbra. Estas acções foram dinamizadas pelo ACES Arrábida, em colaboração com o CEVDI, tendo participado mais de 150 elementos.

6. Resultados REVIVE 2015 e totais 2011-2015

6.1. Vigilância nos concelhos

As colheitas de carraças realizadas em 154 concelhos de cinco Administrações Regionais de Saúde, nomeadamente Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte, decorreram entre janeiro e dezembro de 2015.

Os locais, assim como a periodicidade da amostragem, foram seleccionados pelas ARS's, tendo como critério principal a proximidade à popula-

ção humana, o historial da presença de carraças, a ocorrência de doenças associadas, o impacto nas atividades humanas e a acessibilidade do local, assim como a experiência adquirida em anos anteriores no âmbito do REVIVE.

Como colheita efetuada na vegetação considerou-se todas as efetuadas em fase de vida livre da carraça incluindo, para além da vegetação, residências, paredes, habitações, solo, etc.

O esforço de captura (número de colheitas) de carraças por concelho variou entre uma e 72 colheitas (Figura 16).

No REVIVE 2015 o total de colheitas aumentou 1% comparativamente ao ano anterior.

Das 1373 colheitas realizadas, 347 foram feitas no Homem, 503 no cão, 92 em outros animais exceto o cão e 431 na fase de vida livre (Figura 17).

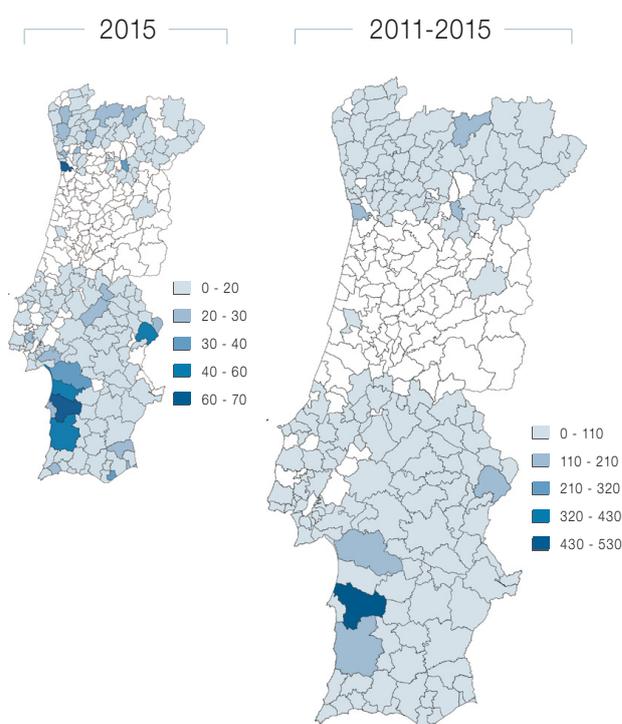


Figura 16: Esforço de captura de ixodídeos por concelho

As colheitas realizadas no Homem aumentaram 8%, no cão e na vegetação diminuíram 5% e 1%, respetivamente. Por área rastreada, houve

também um aumento de concelhos envolvidos nas colheitas.

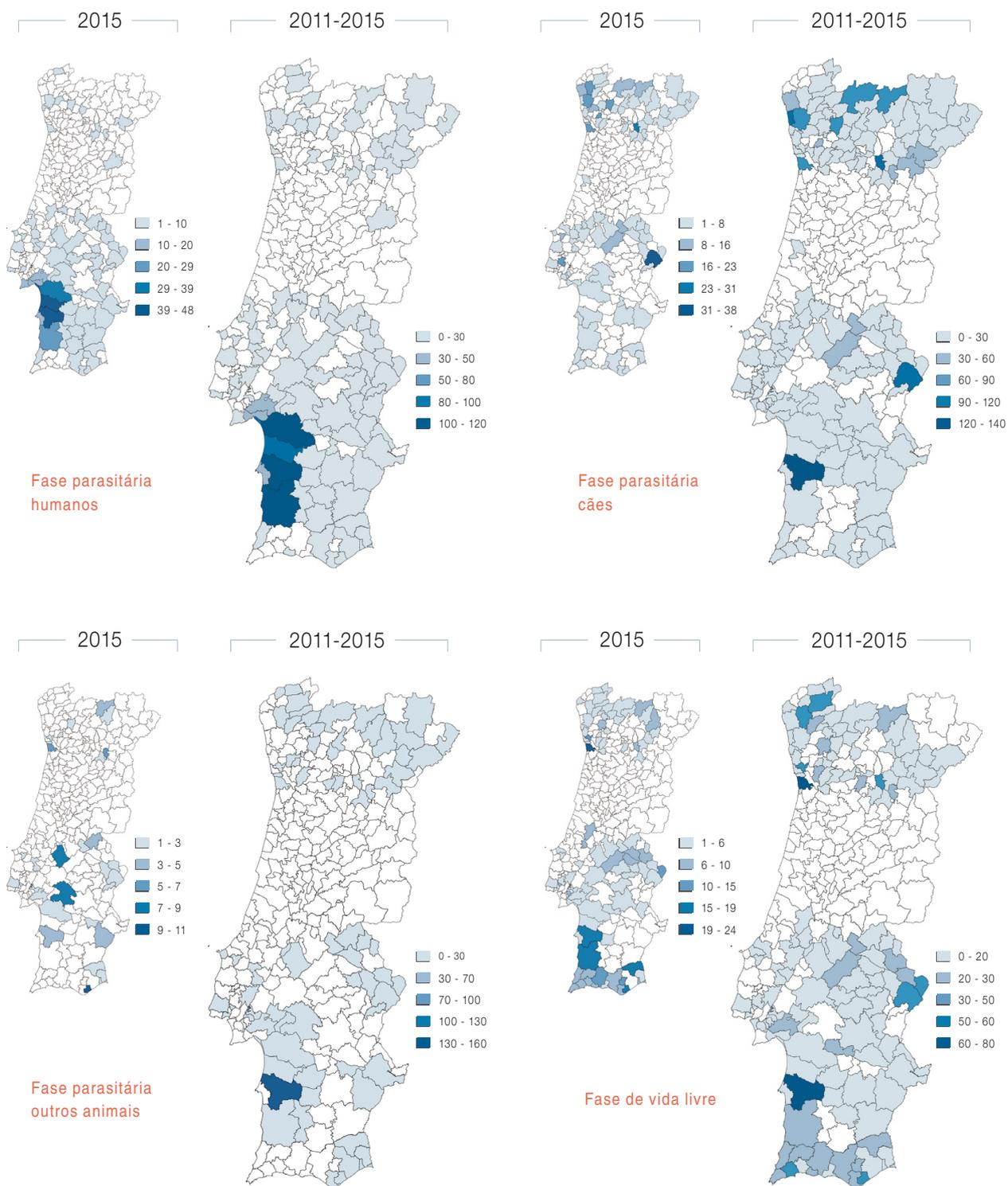


Figura 17: Colheitas de ixodídeos na fase de vida parasitária em hospedeiros humanos, cães, outros animais e na fase de vida livre

6.2. Vigilância de carraças em fase parasitária

6.2.1 Homem

No REVIVE 2015 foram identificadas a parasitar o Homem 8 espécies ixodológicas, nomeadamente, *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes ricinus*, *I. ventalloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*, contrastando com as 10 identificadas no REVIVE 2014.

No total foram removidos 391 ixodídeos de humanos em 2015, mais 12% que em 2014.

Todas as espécies já tinham sido identificadas a parasitar o Homem em Portugal Continental. Não foram identificadas espécies exóticas em Homem, contrastando com o ano anterior em que foi identificado um ixodídeo do género *Amblyomma* spp. a parasitar um indivíduo recém chegado dos EUA, o que demonstra a importância desta rede de vigilância epidemiológica na deteção da introdução de vetores e agentes infecciosos exóticos.

Os mapas de distribuição geográfica (presença/ausência) de algumas espécies de ixodídeos identificados e com importância em saúde pública podem ser visualizados no capítulo 7.

6.2.2 Animais

Em 2015, tal como em 2014, 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*.

No total foram removidos mais ixodídeos de animais em 2015, representando um aumento de 17% face a 2014. Todas as espécies já tinham sido anteriormente identificadas a parasitar animais em Portugal Continental.

No capítulo 7 apresentam-se mapas de distribuição geográfica (presença/ausência) em 2015 e no total 2011-2015, com descrições sumárias e respetiva abundância relativa de seis espécies de ixodídeos com maior importância.

6.2.3 Vigilância em carraças em fase de vida livre

No ano de 2015 foram identificadas na fase de vida livre nove espécies ixodológicas, nomeadamente, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*, contrastando com as sete identificadas em 2014.

Do total de espécies capturadas na vegetação verificou-se um aumento de 9% relativamente a 2014. Todas as espécies já tinham sido anteriormente identificadas na vegetação em Portugal Continental.

Os mapas de distribuição geográfica (presença/ausência) de algumas espécies podem ser observados no capítulo 7.

7.3 Espécies identificadas e distribuição geográfica

Os ixodídeos identificados durante o ano de 2015 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. ventralloii*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*.

No ano de 2015 não foram detetadas espécies exóticas em Portugal Continental.

Nos cinco anos do REVIVE – Carraças, das espécies identificadas seis têm importância em saúde pública. Para estas apresentam-se, de acordo com a sua abundância relativa, os mapas (presença/ausência) dos cinco anos do REVIVE – Carraças, com descrições sumárias e respetiva abundância relativa.

Os mapas representam a cinzento os concelhos onde foram realizadas colheitas e a azul os concelhos onde foram identificadas as espécies. Nos concelhos representados a branco não foram realizadas colheitas. O mapa pequeno diz respeito às colheitas realizadas no ano 2015.

Para além das espécies ixodológicas representadas nos mapas e referentes aos cinco anos de execução do programa REVIVE – Carraças, foram ainda identificadas outras espécies com abundâncias relativas inferiores a 1%, nomeadamente, *Amblyomma* spp., *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes canisuga*, *I. hexagonus*, *I. ventralloii*,

Rhipicephalus annulatus e *R. pusillus*. As abundâncias inferiores a 1% determinadas no âmbito do REVIVE para estas espécies podem refletir a verdadeira abundância de algumas ou ser o resultado 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 mongolotimonae*, espécie que causa doença no Homem.

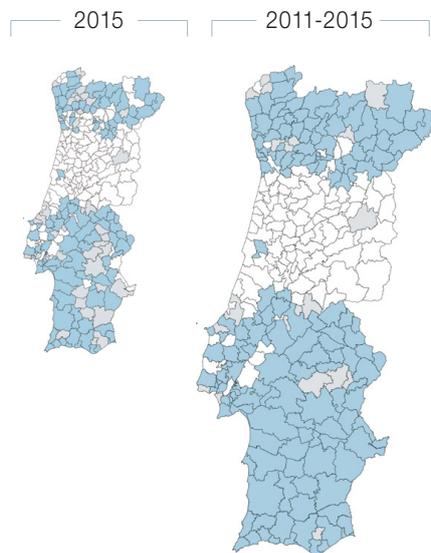


Figura 18: Distribuição geográfica de *Rhipicephalus sanguineus*

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 2015, das colheitas realizadas no âmbito do REVIVE *R. sanguineus* foi a espécie que apresentou maior abundância relativa (82,2%). No total dos cinco anos do REVIVE, a abundância relativa foi semelhante (77,7%).

R. sanguineus é o vetor de *Rickettsia conorii*, o agente etiológico da febre escaro nodular e a doença associada à picada de carraça, com maior incidência em Portugal

R. sanguineus também é vetor de outras bactérias, nomeadamente outras rickettsias, protozoários e vírus.

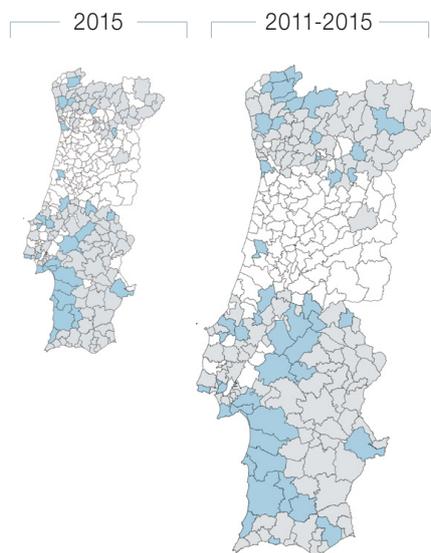


Figura 19: Distribuição geográfica de *Ixodes ricinus*

Ixodes ricinus

Ixodes ricinus apresenta uma distribuição geográfica que inclui Europa, Norte de África e 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 bem 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 2015 no âmbito das colheitas realizadas no projecto REVIVE *Ixodes ricinus* apresentou uma abundância relativa, de 3,5%. Este valor, superior ao do ano 2014, está relacionado com o aumento da colheita de ixodídeos no Homem. No âmbito dos cinco anos do REVIVE, *I. ricinus* apresentou uma abundância relativa de 1,6%.

Em termos de saúde pública, *I. ricinus* é a segunda espécie mais importante em Portugal Continental. Esta espécie é vetor de *Borrelia burgdorferi* sensu lato, 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.

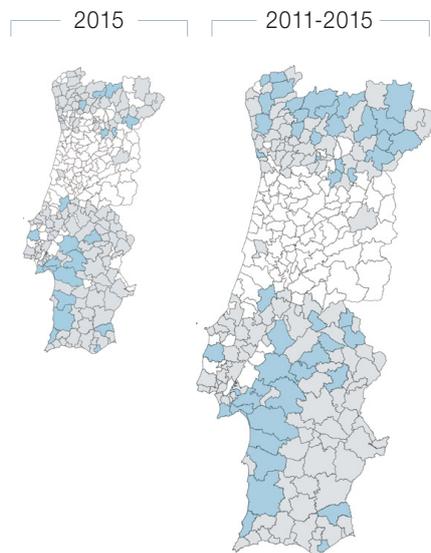


Figura 20: Distribuição geográfica de *Dermacentor marginatus*

Dermacentor marginatus

Dermacentor marginatus apresenta uma distribuição geográfica ampla, que inclui Europa, Norte de África e 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 ativos no período Primavera-Verão.

D. marginatus apresenta-se distribuído de norte a sul do País. De acordo com as colheitas realizadas no REVIVE apresentou uma abundância relativa de 4,3%, superior à verificada no ano anterior. No âmbito dos cinco anos do REVIVE, *D. marginatus* apresentou uma abundância relativa de 2,1%.

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 infetados com *Borrelia lusitaniae*, não sendo contudo claro o seu papel como vetor deste agente.

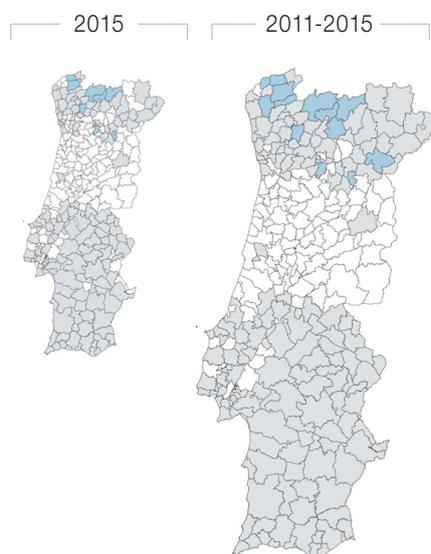


Figura 21: Distribuição geográfica de *Dermacentor reticulatus*

Dermacentor reticulatus

Dermacentor reticulatus apresenta uma distribuição geográfica que inclui Europa e 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 humidade relativa para a sua sobrevivência.

Parasita essencialmente ungulados selvagens, como por exemplo, o corço, 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 2015 foi identificada uma abundância relativa, no âmbito do REVIVE, de 1%, inferior à verificada no ano anterior. No âmbito dos cinco anos do REVIVE, apresenta uma abundância relativa de 1,7%.

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.

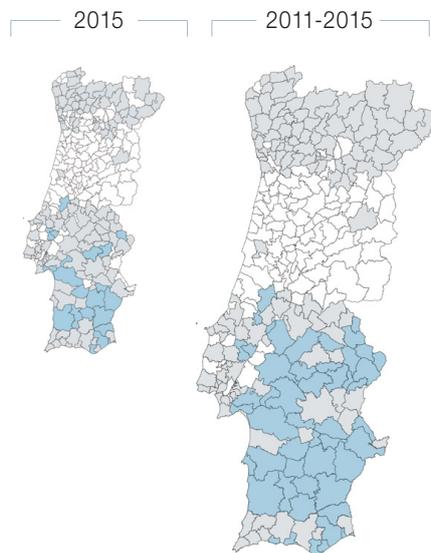


Figura 22: Distribuição geográfica de *Hyalomma lusitanicum*

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 foi assinalada na região sul do País com uma abundância relativa de 1%, inferior à do ano anterior. No âmbito dos cinco anos do REVIVE, apresenta uma abundância relativa de 1,5%.

H. lusitanicum é uma espécie que apresenta antropofagia relativamente ao Homem 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 Crimeia-Congo.

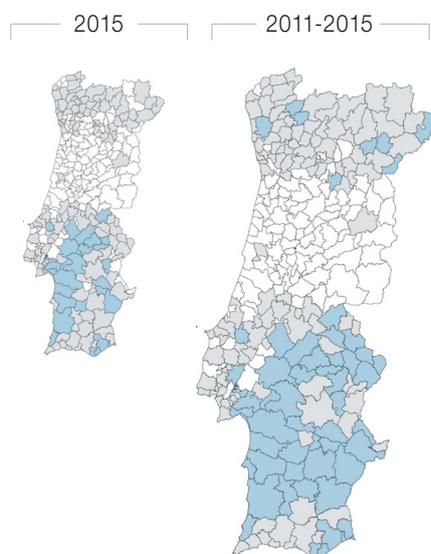


Figura 23: Distribuição geográfica de *Hyalomma marginatum*

Hyalomma marginatum

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

Do ponto de vista ecológico está bem adaptada, suportando variadas temperaturas e humidade relativa. *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 2015 a sua abundância relativa assinalada no âmbito do REVIVE foi de 2,4%, superior à verificada no ano anterior. No âmbito dos cinco anos do REVIVE, apresenta uma abundância relativa de 4,8%.

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 Crimeia-Congo.

7. Identificação de *Rickettsia* e *Borrelia*

Para a pesquisa de borrelíias e rickettsias foram analisados 1176 (17,5%) ixodídeos do total de exemplares capturados, distribuídos por 9 espécies e provenientes de 139 concelhos de norte a sul do País.

A seleção dos exemplares a testar foi efetuada com base na capacidade vetorial que determinadas espécies têm para transmitir borrelíias e rickettsias. A sazonalidade, a distribuição geográfica, a abundância e origem foram também factores ponderados de forma a assegurar a representatividade da amostra. No total foram

analisados 1086 *pools* pela técnica de PCR, constituídos por um a cinco ixodídeos cada. Salienta-se que todos os exemplares removidos de humanos foram obrigatoriamente incluídos na amostra em estudo e testados individualmente.

Dos 1086 *pools* em estudo, 203 (18,7%) foram positivos na detecção de ADN de *Rickettsia* e 28 (2,7%) positivos para ADN de *Borrelia* (Quadro 3).

As amostras positivas, provenientes de 62 concelhos, pertenciam a seis espécies de ixodídeos – *D. marginatus*, *H. marginatum*, *I. ricinus*, *I. ventalloi*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*. *I. ricinus* foi a espécie em que foi detetado maior número de *pools* positivos.

Quadro 3 – Espécies de *Rickettsia* e *Borrelia* detetadas em Ixodídeos colhidos em hospedeiros e na vegetação no âmbito do REVIVE 2015

Espécies de <i>Rickettsia</i> e <i>Borrelia</i>	Doença	Espécies de ixodídeos	Fase parasitária			Fase vida livre	Total
			Humano	Cão	Outros animais	Vegetação e outros	
<i>B. afzelii</i>	Borreliose de Lyme	<i>I. ricinus</i> , <i>I. ventalloi</i>	3				3
<i>B. garinii</i>		<i>R. sanguineus</i>		1			1
<i>B. lusitaniae</i>		<i>I. ricinus</i> , <i>I. spp.</i> , <i>H. marginatum</i> , <i>R. sanguineus</i>	16	1		2	19
<i>Borrelia</i> spp.		<i>I. hexagonus</i> , <i>R. sanguineus</i>		3	1	3	5
<i>R. conorii</i>	Febre escaro nodular	<i>R. sanguineus</i>		1	1	1	3
<i>R. sibirica mongolitimonae</i>	LAR	<i>R. pusillus</i>	1				1
<i>R. slovaca</i>	TIBOLA	<i>D. marginatus</i>				4	4
<i>R. helvetica</i>	s/ denominação	<i>I. ricinus</i> , <i>I. spp.</i> , <i>I. ventalloi</i>	17			4	21
<i>R. monacensis</i>	s/ denominação	<i>I. ricinus</i> , <i>Ixodes</i> spp.,	48	1		12	61
<i>R. raoulti</i>	s/ denominação	<i>H. marginatum</i> , <i>D. marginatus</i> , <i>R. sanguineus</i>	34	2	8	13	57
<i>R. massiliae</i>	s/ denominação	<i>R. sanguineus</i>	13	14	3	20	50
<i>Rickettsia</i> spp.		<i>I. spp.</i> , <i>D. marginatus</i> , <i>R. sanguineus</i>	1			5	6
Total			114	18	12	58	233

No total foram detetadas sete espécies de rickettsias, nomeadamente, *Rickettsia conorii*, *R. helvetica*, *R. massiliae*, *R. monacensis*, *R. sibirica mongolitimona*, *R. raoulti*, *R. slovaca* e três espécies de borrelíias nomeadamente, *Borrelia afzelii*, *B. garinii* e *B. lusitaniae*. Em relação ao total de *pools* positivos (n=203) analisados para *Rickettsia*, verificou-se que *R. monacensis* foi a espécie mais prevalente (n=61, 30%), e *R. sibirica mongolitimona* a menos prevalente, tendo sido apenas detetado 1 *pool* positivo para esta espécie. Contudo, esta distribuição está de acordo com o que se conhece relativamente à maior prevalência de espécies de rickettsias menos patogénicas nos ixodídeos comparativamente com espécies muito patogénicas como *R. conorii*.

Não foi possível caracterizar as espécies de *Rickettsia* ou *Borrelia* em 11 *pools* positivos e foram classificadas como *Rickettsia* spp. e *Borrelia* spp. Do total de *pools* positivos (n=28) para *Borrelia* verificou-se que *B. lusitaniae* é a mais prevalente (n=19, 67,9%) (Quadro 3). Foram ainda identificadas carraças coinfectadas com *B. lusitaniae/R. helvetica* (n=3), *B. lusitaniae/R. monacensis* (n=2) e *Borrelia* spp. e *R. monacensis* (n=3).

Em 2015, destaca-se, no âmbito do REVIVE, a deteção de três espécies de *Rickettsia* já identificadas a causar doença em doentes Portugueses. O caso de *R. conorii*, agente etiológico da febre escaro nodular, de *R. slovaca* agente responsável de TIBOLA e de *R. sibirica mongolitimona* agente associado à infeção denominada LAR. No que diz respeito à Borreliose de Lyme foram identificadas três agentes etiológicos *B. afzelii*, *B. garinii* e *B. lusitaniae*.

De realçar que dos 391 ixodídeos analisados e colhidos no homem foram detetados 114 *pools* positivos. Contudo, apenas foi detetado um *pool* positivo com uma espécie associada a doença em doentes Portugueses (*R. sibirica mongolitimona*).

Os resultados apresentados realçam o papel que o programa REVIVE - Ixodídeos tem na importância da monitorização dos agentes patogénicos que circulam nos ixodídeos e podem causar doença no Homem. É importante também identificar e sinalizar as áreas geográficas em que se encontram os vetores infetados.

De referir ainda a detecção dos agentes implicados na transmissão de FEN e BL em carraças removidas de canídeos, o que reforça a importância da monitorização das carraças destes animais que, no ambiente doméstico, funcionam como sentinelas para a presença de agentes patogénicos para o Homem.

8. Conclusões REVIVE 2011-2015 - Ixodídeos

Entre Janeiro e Dezembro de 2015 realizaram-se, em 154 concelhos de Portugal Continental, 1373 colheitas de ixodídeos.

No laboratório foram identificados 6716 ixodídeos, pertencentes a 11 espécies, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventralloji*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*.

No âmbito dos cinco anos do REVIVE - Carraças, realizaram-se 5217 colheitas de ixodídeos em 180 concelhos de Portugal Continental, tendo

sido identificadas 36018 ixodídeos de 13 espécies autóctones e uma exótica -*Amblyomma* spp.

O conhecimento da caracterização, distribuição geográfica, abundância relativa e períodos de actividade de cada espécie está cada vez mais aprofundado, assim como a identificação dos principais factores ecológicos que condicionam a presença/ausência de determinada espécie num dado local ou época do ano.

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.

A pesquisa de borrélias e rickettsias permitiu a identificação de agentes patogénicos para o Homem como *R. conorii*, *R. sibirica mongoliti-monae*, *R. slovacica*, *R. helvetica*, *R. massiliae*, *R. raoulti*, *R. monacensis*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. lusitaniae* e *B. valaisiana*. Foram ainda detetadas co-infeções entre *B. lusitaniae/R. helvetica*, *B. lusitaniae/R. monacensis*.

O ano de 2015 foi o 5.º ano do programa REVIVE-Ixodídeos. Nestes cinco anos o número de concelhos onde têm sido feitas colheitas, aumentou de 55 para 180, o que demonstra o empenho que as ARS's têm colocado neste programa.

Desde o início que o programa REVIVE-Ixodídeos tem contribuído para o conhecimento ecoepidemiológico de espécies de vetores presentes nas

regiões, a sua distribuição, período de actividade abundância, assim como o esclarecimento do seu papel como vetor de agentes de doença para o Homem.

Paralelamente, tem sido fundamental na identificação dos agentes patogénicos em circulação, sinalizando precocemente a existência de possíveis focos de infeção. 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.

A prioridade do REVIVE-Ixodídeos é assegurar a vigilância epidemiológica e contribuir para a prevenção das doenças transmitidas por carraças. Os resultados deste projeto permitem informar e alertar as autoridades de saúde para a implementação atempada de medidas adequadas para o controlo de populações de vetores, com o objectivo de mitigar o seu impacto em saúde pública, privilegiando a prevenção em detrimento da resposta à emergência.

Considerações finais III



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.

Em 2015 participaram no “REVIVE – Culicídeos” as cinco Administrações Regionais de Saúde, e o Instituto da Administração da Saúde e dos Assuntos Sociais da Madeira, entidades que realizaram colheitas de mosquitos em 156 concelhos de Portugal. Com a exceção da Madeira, onde uma espécie de mosquito invasor, *Aedes aegypti*, está presente pelo menos desde 2005, não foram identificadas espécies de mosquitos exóticas/invasoras no total de 37798 mosquitos de 21 espécies. Nas amostras em que foi pesquisada a presença de flavivírus patogénicos para o Homem os resultados foram negativos. No âmbito do “REVIVE – Culicídeos” foi feita a vigilância em três aeroportos internacionais, um aeródromo, dez portos e duas zonas de fronteira de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional.

No total do “REVIVE – Culicídeos” desde 2008 foram identificados 259111 mosquitos de 25 espécies em 189 concelhos de Portugal, tendo sido confirmada a identificação de *Aedes aegypti* na Madeira, onde foi sinalizada pela primeira vez em 2005. Não foram identificadas outras espécies exóticas/invasoras. A pesquisa de agentes patogénicos (flavivírus e plasmódio) foi negativa.

Em 2015, participaram no “REVIVE – Ixodídeos” cinco Administrações Regionais de Saúde, nomeadamente Alentejo, Algarve, Centro, LVT e

Norte que realizaram colheitas de carraças em 154 concelhos. No total de 6716 exemplares foram identificadas 11 espécies de carraças descritas anteriormente nas regiões.

No âmbito dos cinco anos do “REVIVE – Ixodídeos” foram identificados 36018 ixodídeos em 180 concelhos de Portugal continental, tendo sido identificada uma espécie importada, o que sublinha a importância desta vigilância epidemiológica nos vetores. Nas amostras em que foi pesquisada a presença de *Rickettsia* e *Borrelia* foi observada uma prevalência de 14,2% e 1,9%, 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.

Em resumo, o projeto REVIVE atingiu os objetivos propostos no seu início, tendo permitido uma vigilância ativa e atempada na área dos agentes transmitidos a carraças. Os resultados deste projeto são o resultado do esforço das equipas multidisciplinares das Administrações Regionais de Saúde e do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, sem os quais o REVIVE não seria possível.

Equipas REVIVE



CEVDI/INSA

Ana Marques

Ana Sofia Santos

Conceição Paliotes

Fátima Amaro

Hugo Osório

Isabel Lopes de Carvalho

Líbia Zé-Zé

Lígia Chaínho

Maria Margarida Santos-Silva

Maria Sofia Núncio

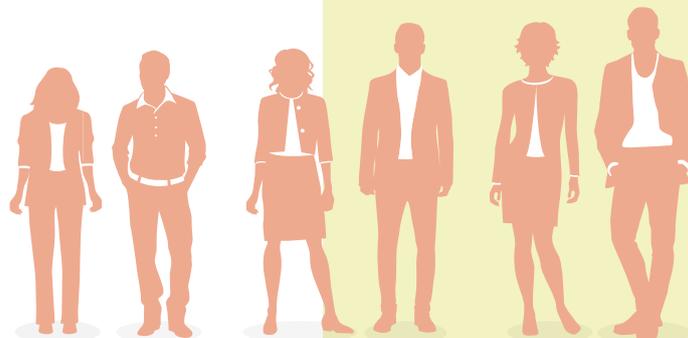
Paulo Parreira

Rita de Sousa

Salomé Gomes

Teresa Luz

Maria João Alves (coordenação)



Equipas 2015

ARS Lisboa e Vale do Tejo

	Luísa
	Manuela Gastão
Adriana Geraldès	Margarida Melo
Álvaro Antas	Margarida Narciso
Ana Almeida	Margarida Seabra
Ana Santos	Maria José Vicente
Ana Verde	Maria Neves
Anabela Santos	Marília Marques
Arlindo	Marina Antunes
Carla Alexandra F. Nobre	Marta Franco
Carla Gonçalves	Nélia Rosa
Carla Simões	Paulina Oliveira
Carlos Lourenço	Paulo Bastos
Carlos Pinto	Regina Dias
Carmo Pereira	Rosete Lourenço
Cátia Lopes	Sandra Jorge
Cátia Rodrigues	Sandra Limeiro
Célia Gomes	Sandra Pinheiro
Célia Maia	Sandrina Pereira
Cláudia Raminhos	Sérgio Lourenço
Conceição	Sérgio Santos
Cristina Nunes	Sílvia Duarte
Daia Monteiro	Sofia Barata
Daniel Carvalho	Sónia Caeiro Reis
Daniel Monteiro	Sónia Guerreiro
Gabriel	Susana Coito
Helena Correia	Susana Santos
Henrique Coelho	Susana Vieira
Hermes Santos	Susana Vieira da Silva
Inês Lopes	Teresa Meireles
Isabel Nobre	Teresa Rica
José Pedro Teixeira	Vanessa Freitas
José Teixeira	
Lígia Alves	Lígia Ribeiro
Liliana Cristóvão	Elsa Soares
Lúcia Lacerda	
Lúcia Pereira	

ARS Norte

Altina Pinto
Amâncio Ferreira
Ana Filipa Fernandes
Ana Rita Cruz
Ana Sofia Ribeiro
Anabela Fernandes
Andreia Pêgo
António Afonseca
António Borges
António João Pereira
António Leite
António Marinho
Ariana Cunha
Arlete Cardoso
Bruno Reigada
Carla Oliveira
Carla Quintas
Carlos Gomes
Carlos Gonçalves
Catarina Fernandes
Catarina Gomes
Cédric Samorinha
Cidália Sousa
Cláudia Fernandes
Conceição Almeida
Cristina Acabado
Cristina Campeão
Cristina Veiga
Daniela Almeida
Elisabete Dionísio
Elisabete Dionísio
Fátima Pinho
Fátima Sousa
Frederico Freitas
Graciete Lourenço

Helena Garcia
Henrique Sebastião
Isabel Miranda
Jesus Fernandes
João Paulo Monteiro
José Ales
José Carlos Reis
Laurentino Pires
Lucília Reis
Luís Aleixo
Manuel António
Manuel Oliveira
Manuela Pinto
Mara Verne
Maria João Pires
Maria Salomé Gonçalves
Marinela Cristo
Marta Vetia Vaz
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 Pintor

Sandra Santos
Sílvia Miranda
Sílvia Silva
Sofia Ribeiro
Solange Azevedo
Susana Torres
Vera Sampaio
Viriato Lemos

Sílvia Silva
Maria Neto

ARS Alentejo

Adriana Dinis
Ana Maria Paulino
Andreia Simões
Carlos Estevinha
Cristina Dias
Daniela Duarte
Diogo Sousa Gomes
Elsa Cabeça
Fernando Carvalho
Fernando Velinho
Hortênsia Costa
Humberto Ramos
Inês Ramos
Isabel Cansado
João Beguino
João Carrasquinha
Liliana Marques
Liliana Oliveira
Luís Ribeiro
Márcia Marques
Márcia Monteiro
Maria João Santos
Maria Miguel Valente
Maria Natalina Nunes
Mónica Bettencourt
Paula Abreu
Pedro Bento
Raposo
Sara Pinheiro

Diogo Sousa Gomes
Sónia Caeiro
Filomena Araújo

ARS Algarve

Carlos Lopes
Carmelo
Carmen Vieira
Hélia Monteiro
José Manuel Raiado
Lígia Pontes
Luísa Reis
Maria da Graça Fernandes
Maria Eduarda Gonçalves
Maria João Falcão
Maria João Varela
Maria José Fontes
Rosário Jorge
Sandra Faísca
Sara Campos
Sofia Duarte
Victor Vaz

Nélia Guerreiro
Ana Cristina Guerreiro

ARS Centro

Eduardo Almeida
Fátima Alho
José Manuel Cerdeira
Maria Fernandes
Sónia Veloso
Susana Conde

Judite Maia

IASAÚDE Madeira

Adélia
Bela
Cláudia Sá
Conceição Noite
Conceição Reis
Custódio
Daniel
Fátima
Filipe
Graça
Joel
Lúcia
Magda
Maria Ferreira
Paula Abreu
Rita
Rute
São Aguiar
Sara Guerra
Sardinha
Sónia Custódio

Maria Dores Vacas
Ana Clara Silva

_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