



SURTOS E PANDEMIAS DE DOENÇAS INFECCIOSAS

Jorge Machado

jorge.machad@insa.min-saúde.pt



REPÚBLICA
PORTUGUESA



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

The background of the slide features a collection of laboratory glassware, including beakers, flasks, and graduated cylinders, some containing liquids. The image is overlaid with a semi-transparent blue band and large, stylized geometric shapes in shades of blue and grey. The text is centered within the blue band.

INTRODUÇÃO

Surtos, Epidemias e Pandemias

Definições

- **Um surto** é um aumento repentino no número de casos de uma doença. Um surto pode ocorrer em uma comunidade ou área geográfica, ou pode afetar vários países. Pode durar alguns dias ou semanas, ou até mesmo por vários anos.

Alguns surtos são esperados a cada ano, como a gripe. Às vezes, um único caso de uma doença infecciosa pode ser considerado um surto. Isso pode ser verdade se a doença for rara (por exemplo, botulismo transmitido por alimentos) ou tiver sérias implicações para a saúde pública (como no caso de bioterrorismo) .

- **Uma epidemia** ocorre quando uma doença infecciosa se espalha rapidamente para muitas pessoas. Em 2003, a grave epidemia de síndrome respiratória aguda (SARS) tirou a vida de quase 800 pessoas em todo o mundo.

- **Uma pandemia** é um surto global de doenças. Difere de um surto ou epidemia porque:
 - afeta uma área geográfica mais ampla, muitas vezes em todo o mundo.
 - infecta um número maior de pessoas do que uma epidemia.
 - muitas vezes é causada por um novo vírus ou uma variante de vírus que não circula entre as pessoas há muito tempo. Os humanos geralmente têm pouca ou nenhuma imunidade contra isso. O vírus espalha-se rapidamente de pessoa para pessoa em todo o mundo.
 - causa um número muito maior de mortes do que epidemias.
 - muitas vezes cria rutura social, perda económica e dificuldades gerais.



Sistema nacional de informação de vigilância epidemiológica (SINAVE)

Lei n.º 81/2009, de 21 de agosto, institui um sistema de vigilância em saúde pública, que identifica situações de risco, recolhe, atualiza, analisa e divulga os dados relativos a doenças transmissíveis e outros riscos em saúde pública, bem como prepara planos de contingência face a situações de emergência ou tão graves como de calamidade pública.

A Lei cria uma rede de âmbito nacional, envolvendo os

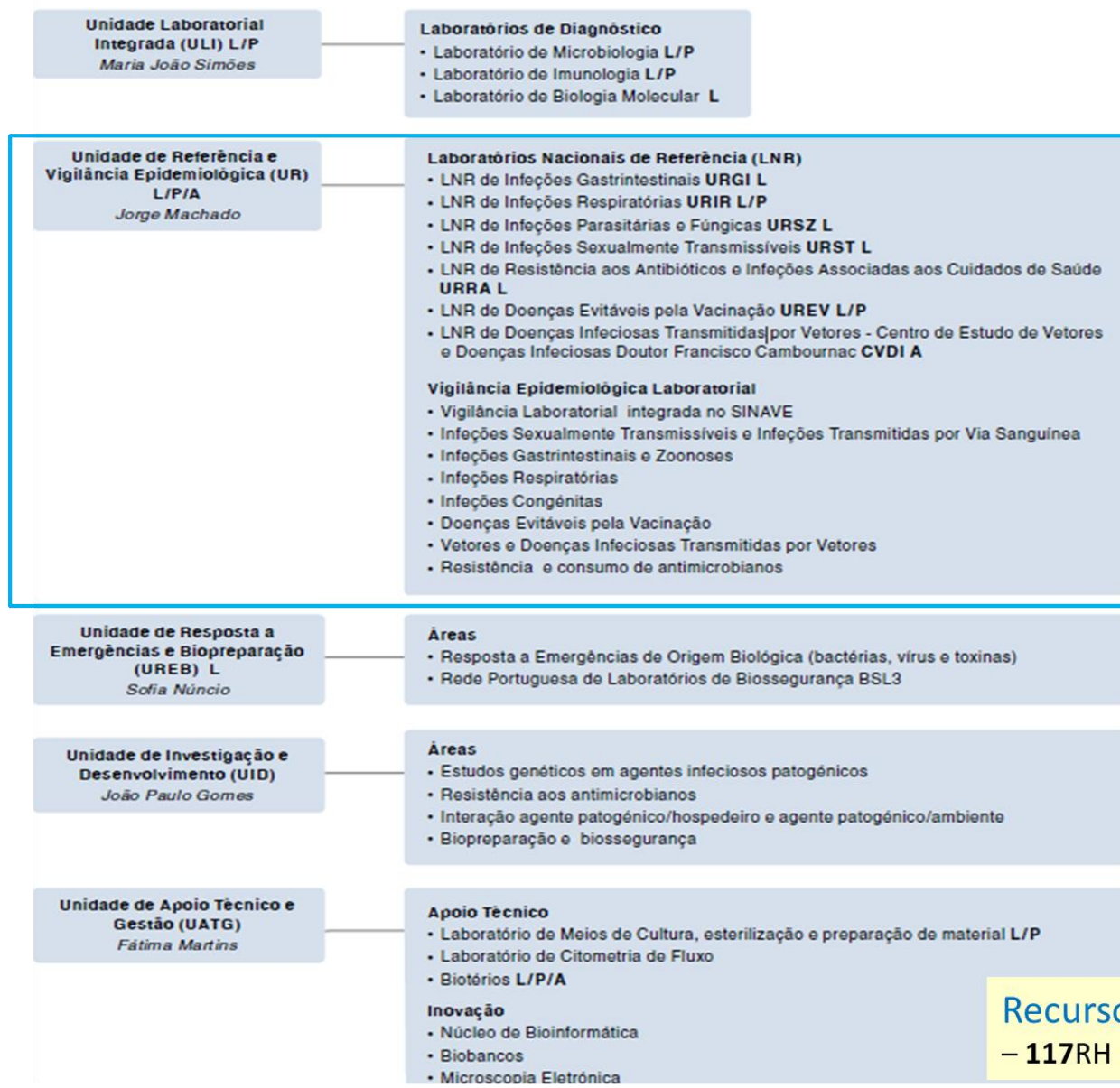
- serviços operativos de saúde pública,
- **os laboratórios,**
- as autoridades de saúde e
- outras entidades dos sectores público, privado e social, cujos participantes contribuem para um sistema nacional de informação de vigilância epidemiológica, denominado SINAVE. Portaria n.º 248/2013, de 5 de agosto

The background of the slide features a collection of laboratory glassware, including beakers, flasks, and graduated cylinders, some containing liquids. The image is overlaid with a semi-transparent blue band and large, stylized geometric shapes in shades of blue and grey. The text is centered within the blue band.

VIGILÂNCIA LABORATORIAL

Estrutura e resposta

Departamento de Doenças Infecciosas (DDI)



Recursos Humanos

– 117RH quadro + 25 bolseiros)

Laboratórios Nacionais de Referência (LNR)

1) LNR de Infecções Gastrointestinais – *Mónica Oleastro*

- LNR de *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Shigella* e outras bactérias entéricas (*Listeria*)
- LNR de *Helicobacter*, *Campylobacter* e *Clostridium difficile*
- LNR de *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* e outros parasitas intestinais
- LNR de Norovirus, Rotavirus e outros vírus entéricos (inclui VHA e VHE)

2) LNR de Infecções Respiratórias - *Maria João Simões*

- LNR de Micobactérias - Laboratório Supranacional da OMS para a tuberculose (Porto)
- LNR de *Neisseria meningitidis*,
- LNR de *Haemophilus influenzae* e *Corynebacterium diphtheriae*
- LNR de *Legionella* e *Streptococcus pneumoniae*
- LNR do vírus da Gripe e outros vírus respiratórios

3) LNR de Infecções Parasitárias e Fúngicas – *Maria João Gargaté*

- LNR de *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium*, *Leishmania*, *Trypanosoma* e outros protozoários
- LNR de *Echinococcus granulosus*, *Trichinella* e outros helmintas
- LNR de *Candida*, fungos dermatófitos e dimórficos
- LNR de *Aspergillus* e fungos raros

4) LNR de Infecções Sexualmente Transmissíveis – *Maria José Borrego*

- LNR de VIH/SIDA e Vírus da Hepatite B e C
- LNR de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Treponema pallidum*
- LNR de vírus do Papiloma Humano
- LNR de vírus Herpes simplex e Citomegalovirus

5) LNR de Resistência aos Antibióticos e Infecções Associadas aos Cuidados de Saúde - *Manuela Caniça*

6) LNR Doenças Evitáveis pela Vacinação - *Paula Palminha*

- LNR dos vírus da Poliomielite, do Sarampo, da Rubéola, da parotidite epidémica e Varicela-zoster
- LNR de *Bordetella pertussis*

7) LNR de Doenças Infeciosas transmitidas por vetores - *Sofia Núncio*

- LNR de *Borrelia*, *Rickettsias*, *Coxiella*, *Bartonella* e *Francisella*
- LNR de Dengue, West Nile e outros Arbovírus; Arenavírus e Hantavírus
- LNR de Acarologia e Entomologia médica



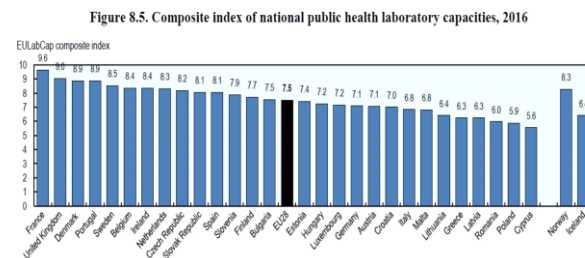
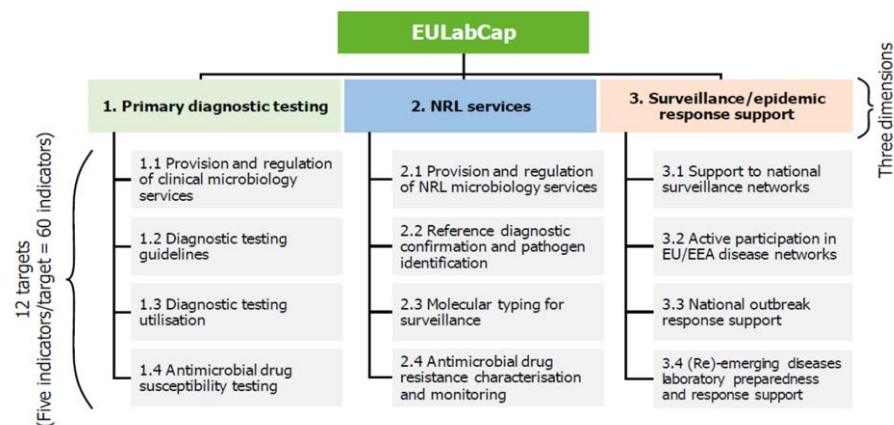
LABORATÓRIOS DE REFERÊNCIA – Atividades principais

- Confirmação de resultados externos por métodos de referência
- Caracterização molecular dos agentes
- Vigilância laboratorial continuada
- Investigação laboratorial de surtos
- Consultadoria
- Formação (protocolos nacionais e internacionais)
- Investigação

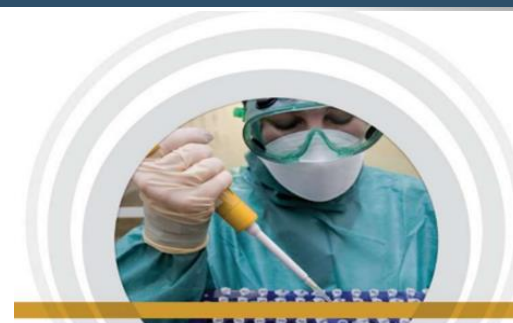
QUALIDADE E EVOLUÇÃO DA CAPACIDADE LABORATORIAL DE PORTUGAL NA EUROPA 2013 -2018

- Mais de 400 ensaios Acreditados pelo IPAC.
- LNR de Doenças Evitáveis pela Vacinação está acreditado pela OMS para o diagnóstico da poliomielite, do sarampo e da rubéola.
- Os LNR de Gripe e de Micobactérias são Lab. Referência para a OMS, sendo o Laboratório de Micobactérias o laboratório supranacional de referência.
- Os Laboratórios de Referência são também avaliados pelo ECDC em termos de capacidade Laboratorial, tendo Portugal tido em 2018 uma avaliação de 9,3/10.

Figure 1. Structural overview of EULabCap indicators, by dimension and target



Note: The maximum score for this indicator is 10.
Source: ECDC (2018).



EULabCap country profile PORTUGAL

Report on 2018 data
Version 1, 31 January 2020

Executive summary for Portugal

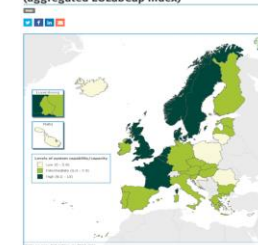
What are the key questions of EULabCap surveys?

Does the EU/EEA public health microbiology system possess the critical capabilities and adequate level of core capacity to provide timely and reliable information on pathogen detection and characterisation for effective infectious disease prevention, alert and control at Member State and EU/EEA level and how does it progress over time?

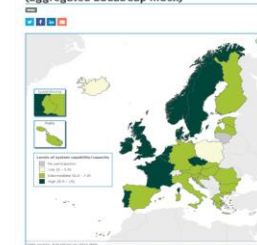
How well was your country performing in 2018?

Portugal provided data for 100% of the indicators. With an average **EULabCap index of 9.3/10** in 2018, as compared with 8.9 in 2016 (6.4 to 8.6 in 2013-15), data provided by Portugal indicate a **rapid improvement** towards a **very high level of well-balanced capability/capacity for their public health microbiology system** over the survey years.

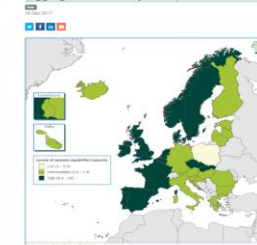
2013 - Levels of public health microbiology system capabilities and capacities (aggregated EULabCap index)



2015 - Levels of public health microbiology system capabilities and capacities (aggregated EULabCap index)



2016 - Levels of public health microbiology system capabilities and capacities (aggregated EULabCap index)



Participação /Coordenação de Redes Nacionais

Unidade	Designação da rede	Entidade Coordenadora	Responsável no INSA
DDI	Coleção Nacional <i>N. gonorrhoeae</i>	URST	Maria Borrego
DDI	Vigilância Laboratorial de Infecções fúngicas invasivas e subcutâneas	URSZ	Cristina Veríssimo
DDI	Vigilância laboratorial da Tuberculose - VigLab	URIR	Rita Macedo
DDI	Programa de Luta contra a Tuberculose Região Norte	ARS Norte	Anabela Silva
DDI	Rede de Vigilância de Vectores (REVIVE)	CEVDI/INSA	Maria João Alves
DDI	Lab-PTBioNet - Rede Laboratorial Portuguesa de Biossegurança	UREB	Sofia Núncio, Rita Cordeiro
DDI	Rede Laboratorial de Brucelose	UREB	Ana Pelerito
DDI	Estudo Doença Invasiva por <i>Haemophilus influenzae</i> na Criança	INSA /URIR	Paula Lavado
DDI	Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da gripe	INSA	Raquel Guiomar
DDI	Rede vigilância da campilobacteriose	INSA	Mónica Oleastro
DDI	Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e Resistências aos Antimicrobianos	DGS	Manuela Caniça
DDI	ARSIP	INSA	Manuela Caniça
DDI	Reunião da Rede Nacional de Vigilância Laboratorial e Clínica de Infecções Congénitas – TORCHnet	INSA	Maria João Gargate
DDI	Vigilância de epidemiologia molecular de <i>Aspergillus</i> / resistência aos azóis em <i>A. fumigatus</i>	INSA	Raque Sabino

Participação /Coordenação de Redes Internacionais

Unidade	Designação da rede	Países participantes	Entidade Coordenadora	Responsável no INSA
DDI	European Network for Diagnostics of "Imported" Viral Diseases (ENIVD)	Europa	ECDC	Maria João Alves
DDI	Rede de Vírus emergentes (VIRORED)	Portugal, Espanha e países da América latina	ISCIII, Espanha	Maria João Alves
DDI	THE GLOBAL OUTBREAK ALERT AND RESPONSE NETWORK	Mundial	OMS	Jorge Machado, Sofia Núncio, Rita Cordeiro, Ana Pelerito, Isabel Lopes Carvalho
DDI	European Network for Highly Pathogenic Bacteria	Europa	RKI/Alemanha	Sofia Núncio
DDI	European Invasive Bacterial Disease Surveillance Network (EU-IBD)-Haemophilus influenzae	Europa	ECDC	Paula Lavado
DDI	European Diphtheria Surveillance Network	Europa	ECDC	Paula Lavado
DDI	ESCMID Study Group for Legionella Infections (ESGLI)	Europa	ESCMID	Paulo Gonçalves
DDI	European Legionnaires' Disease Surveillance Network (ELDSNet)	Europa	ECDC	Paulo Gonçalves
DDI	European Influenza Surveillance network	Europa	ECDC	Raquel Guiomar
DDI	Global Influenza Surveillance Response System	Europa	OMS	Raquel Guiomar
DDI	Influenza Monitoring of vaccine Effectiveness (IMOVE)	Europa	ECDC-Epiconcept	Baltazar Nunes/Ausenda Machado (Epidemiologia); Raquel Guiomar (Virologia)
DDI	ViroRed	Portugal, Espanha e América Latina	Programa IberoAmericano de Ciência e Tecnologia para o desenvolvimento – CYTED	Raquel Guiomar
DDI	Food and Waterborne Diseases	Europa	ECDC	Jorge Machado
DDI	EARS-Net	Europa	ECDC	Manuela Caniça
DDI	HIV/AIDS Surveillance Network	Europa	ECDC	Helena Cortes Martins
DDI	ECDC European Reference Laboratory Network for Tuberculosis	Europa	ECDC	Rita Macedo
DDI	European Invasive Bacterial Disease Surveillance Network (EU-IBD)-Haemophilus influenzae	Europa	ECDC	Maria João Simões

The background of the slide features a collection of laboratory glassware, including graduated cylinders, beakers, and Erlenmeyer flasks, some containing liquids. The image is overlaid with a semi-transparent blue band and large, stylized geometric shapes in shades of blue and grey. The text is centered within the blue band.

VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA LABORATORIAL

Vigilância Laboratorial das Doenças Infecciosas

Whole-genome sequencing (WGS) as the gold standard typing method

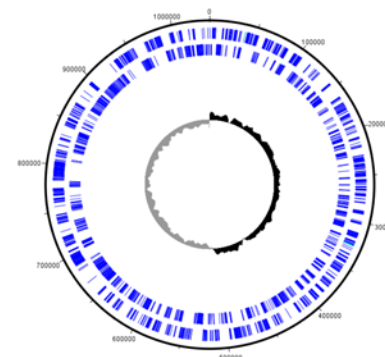
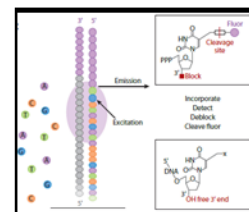
Traditional typing methods

PFGE
MLVA
MLST
PCR assays for detection of virulence genes
Antibiotic susceptibility tests
Serotyping
(...)

- *Difficult standardization*
- *Time consuming*
- *Low discriminatory power*
- (...)

Next-generation sequencing (NGS)

"massive parallel sequencing"

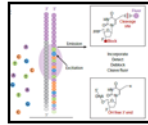


- *Capture of the "whole" genome*
- *High discriminatory power*
- *Applicable to "all" organisms*
- *Multiple tests in silico from a single assay*
- *Cost and time – already competitive*
- (...)

WGS /Aplicações Bioinformáticas no Departamento de Doenças Infeciosas do INSA



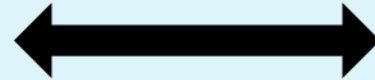
MiSeq (Illumina)



Sequencing-by-synthesis



NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS)



BIOINFORMATICS

Pathogen's detection

Technology transfer

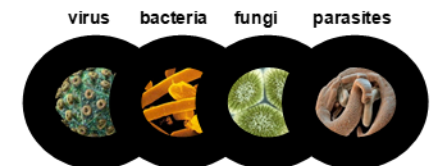
- WGS directly from clinical samples (uncultivable or fastidious pathogens)
- Transition from traditional typing methods to WGS for multiple pathogens

Monitoring vaccine antigens, antibiotic resistance, etc

Epidemiological surveillance / outbreak investigation

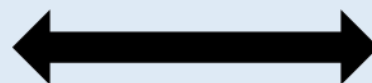
R&D activities

- Evolutionary adaptation
- Genotype-phenotype associations
- Prediction of antibiotic resistance profiles
- Transcriptomic studies (...)



Ganhos em Saúde Pública – alguns exemplos

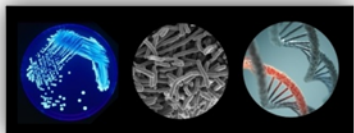
NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS)



BIOINFORMATICS

Investigation of one of the largest worldwide outbreaks of Legionnaires' disease

Borges V et al. 2016. *Sci Reports*; 6:26261
Correia AM et al. 2016. *N Engl J Med*; 374: 497-8.

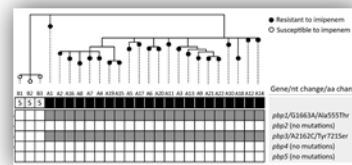
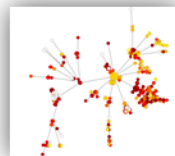


An innovative bioinformatics platform to strengthen flu surveillance at global scale

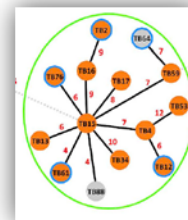
Borges V, Pinheiro M, et al, 2018.
Genome Medicine, 10:46.

Routine surveillance and outbreak investigation of food and waterborne diseases

Llarena et al, 2018, *EFSA*
Isidro et al, 2018; *Emerg Infect Dis*, 24:741-745
etc



Tracking *Mycobacterium tuberculosis* transmission and antibiotic-resistance spread

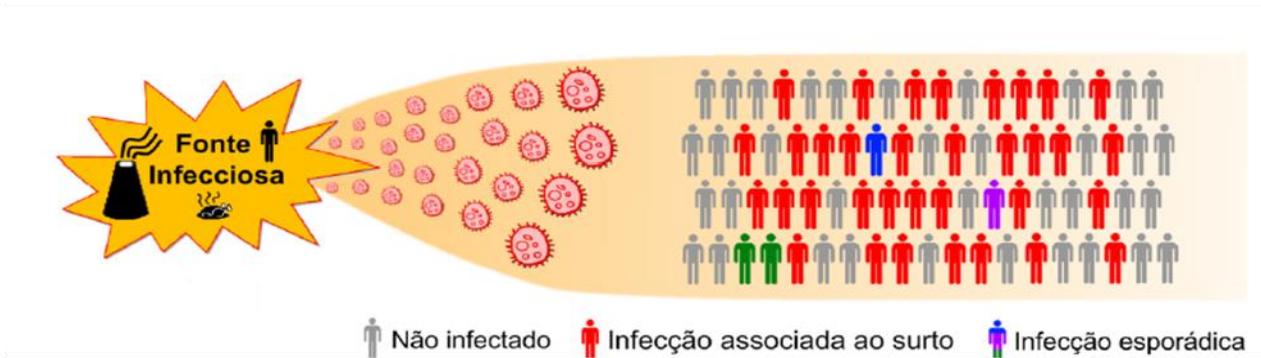


Tracking the within-patient variability of the syphilis-causing *T. pallidum*

Pinto M, Borges V et al. 2016.
Nature Microbiol. 2:16190

WGS aplicado às doenças infecciosas

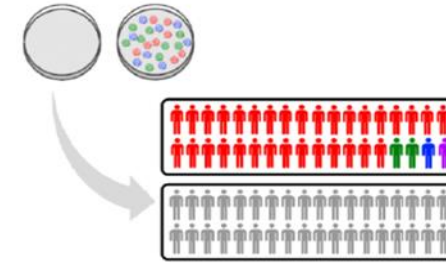
I. Investigação de surtos



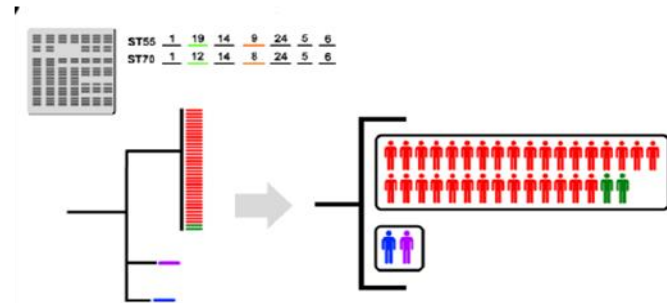
A **disease outbreak** is the occurrence of cases of disease in excess of what would normally be expected in a defined community, geographical area or season. An outbreak may occur in a restricted geographical area, or may extend over several countries. It may last for a few days or weeks, or for several years.

Source: WHO http://www.searo.who.int/topics/disease_outbreaks/en/

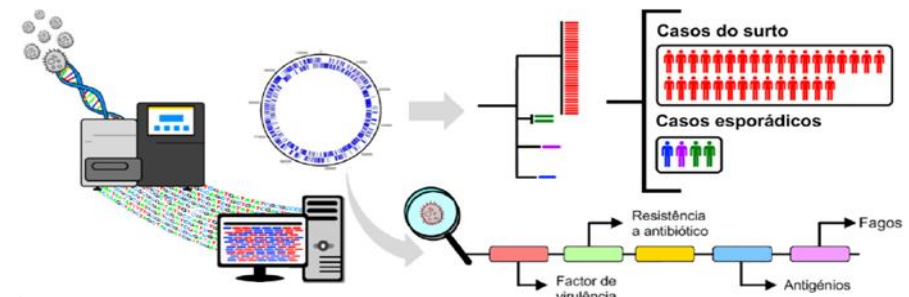
1. Identification



2. Characterization / discrimination



3. Enhanced discrimination / confirmation



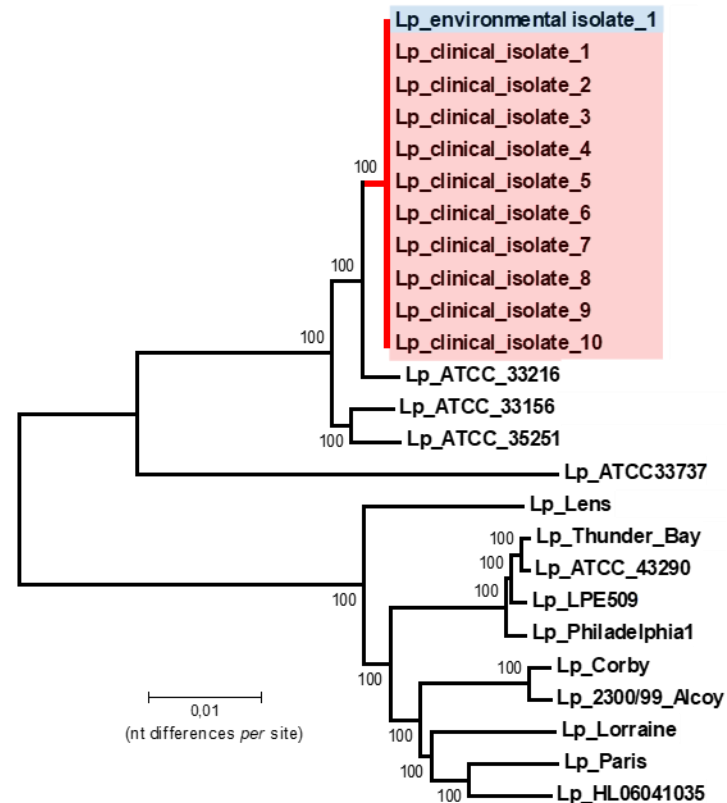
WGS aplicado às doenças infecciosas

I. Investigação de surtos

SECOND LARGEST LEGIONNAIRES' DISEASE OUTBREAK TO DATE

2014 - Vila Franca de Xira, **Portugal** - more than **400 cases** and **14 deaths**.

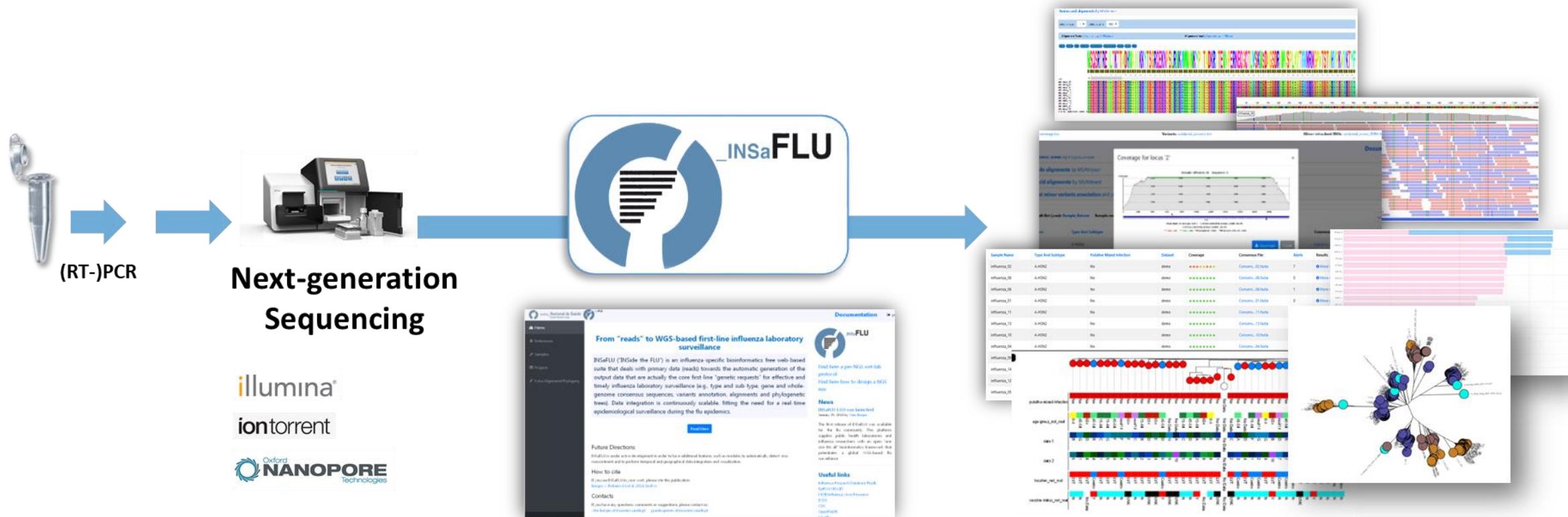
WGS / bioinformatics



Borges V et al. 2016. *Sci Reports*; 6:26261

Uma nova era na vigilância dos vírus

Targeting the whole-genome

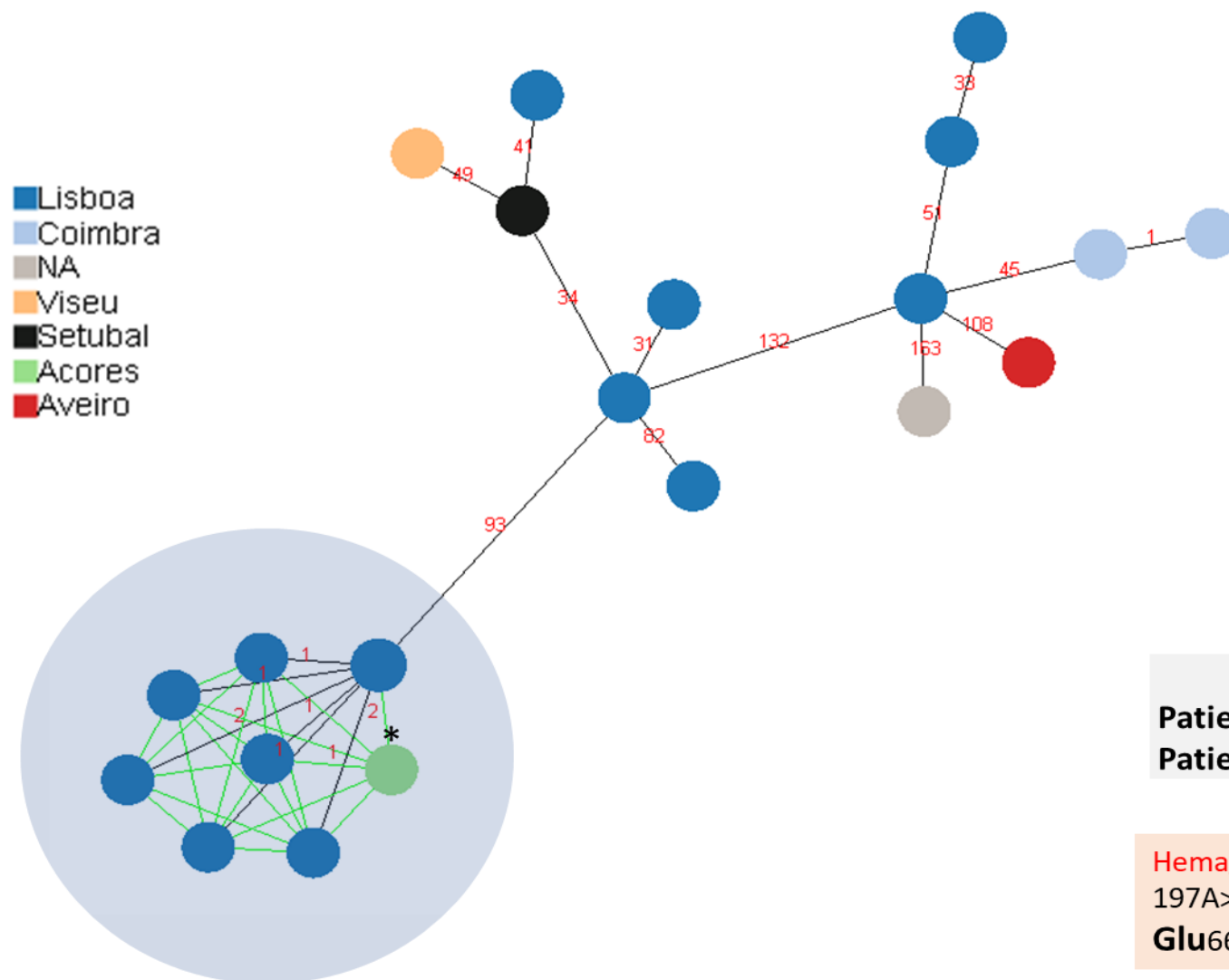


<https://insaflu.insa.pt>

Investigação de surtos



<https://insaflu.insa.pt>

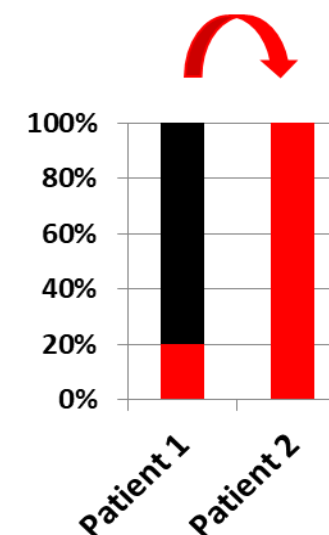


**Analysis of minor variants
during outbreak investigation**

**Intricate transmission link
unveiled by deep analysis of
intra-patient virus diversity**

	onset date
Patient 1	14-12-2017
Patient 2	17-12-2017

Hemagglutinin
197A>G
Glu66Gly



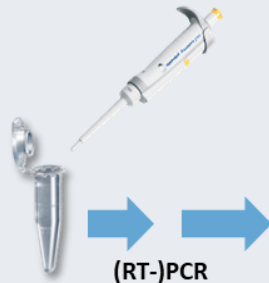
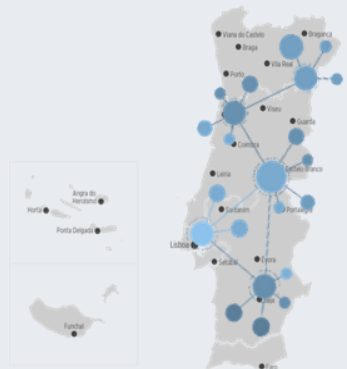
*Epidemiologically linked to the other cases, but diagnosis was performed in another geographical location (the patient travelled to Azores after contact)

Epidemiologia genómica de SARS-CoV-2 em Portugal

Lab network

Wet-lab

Dry-lab – Bioinformatics analysis



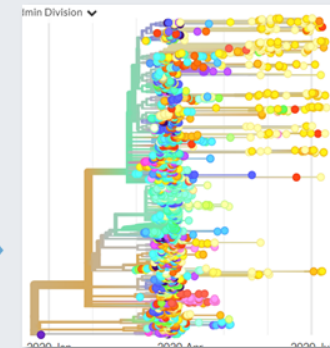
(RT-)PCR



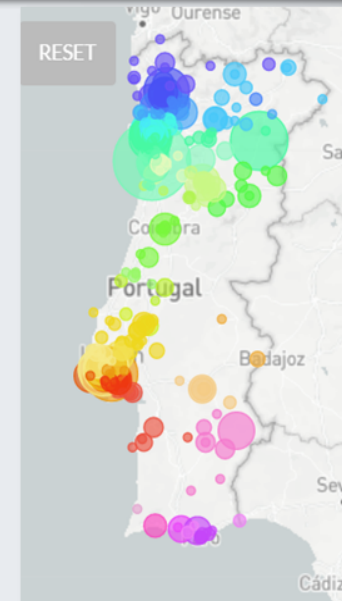
SARS-CoV-2
Genome assembly and analysis
(including minor variants)



<https://insaflu.insa.pt/>



Phylogenetic analysis
Clade/Lineage classification
Geotemporal tracking



<https://insaflu.insa.pt/covid19/>



- From raw data to genome sequence and variant classification
- Online platform (free, confidential accounts) but it can be installed locally
- User-oriented / no advanced expertise in bioinformatics is needed
- Adapted to SARS-CoV-2 at the beginning of the COVID-19 pandemic

Online tool: <https://insaflu.insa.pt>

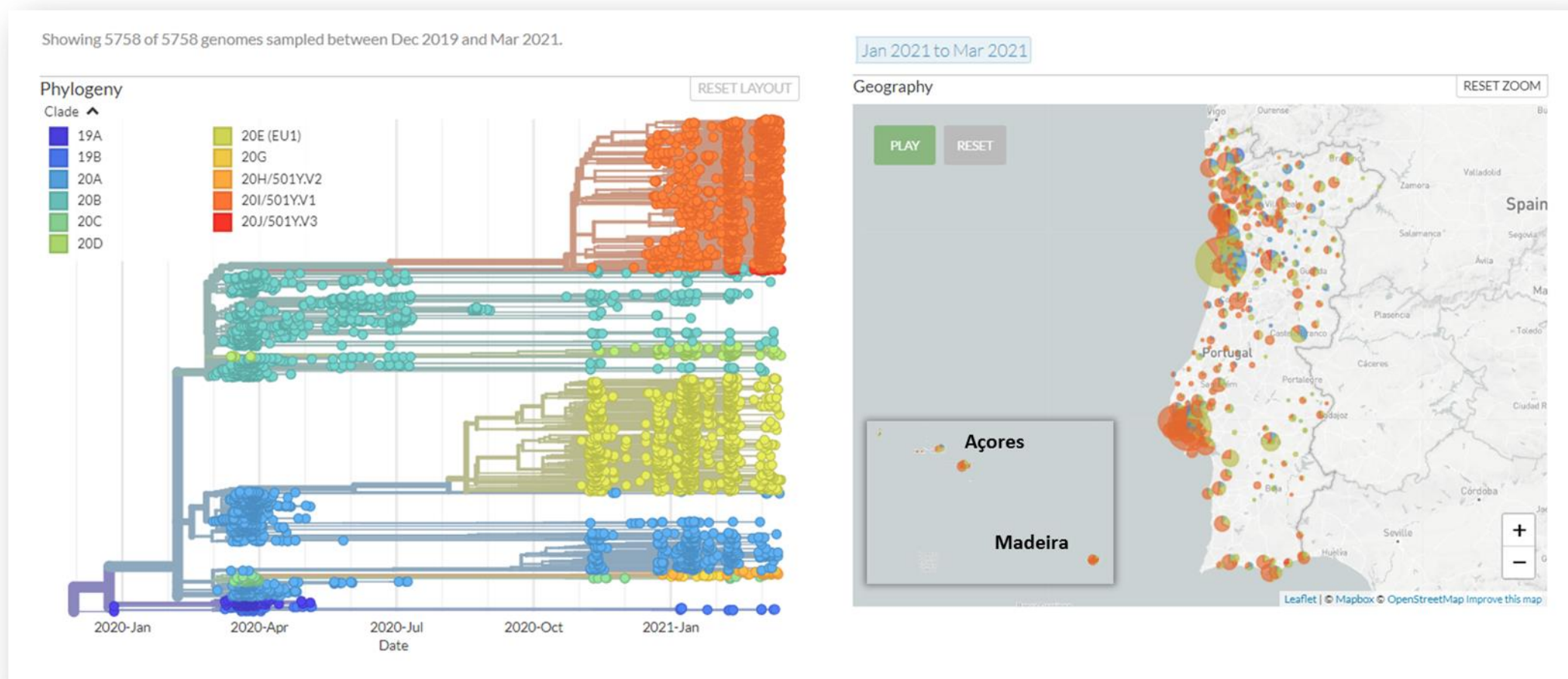
Documentation / Tutorial:

Code:

Easy local installation: <https://github.com/INSaFLU/docker>

Epidemiologia genómica de SARS-CoV-2 em Portugal

<https://insaflu.insa.pt/covid19/>



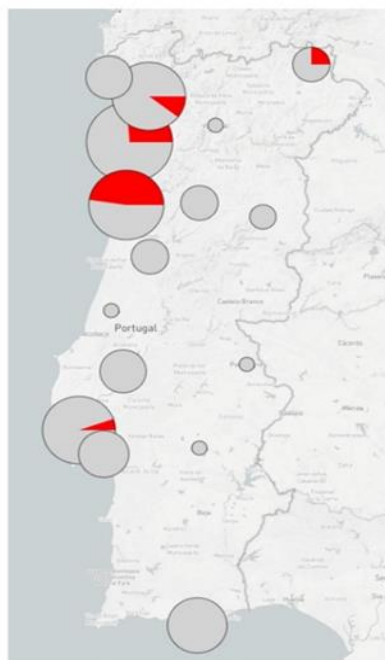
Epidemiologia genómica de SARS-CoV-2 em Portugal

Introductions and early dynamics of the SARS-CoV-2 epidemic in Portugal

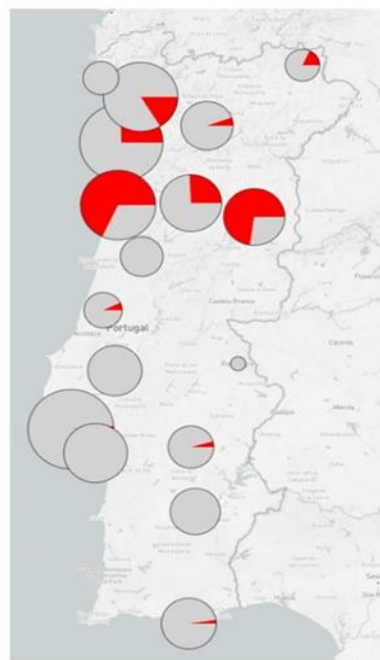
Massive dissemination of a SARS-CoV-2 variant with a D839Y mutation in the Spike during the early epidemic in Portugal



March 7th

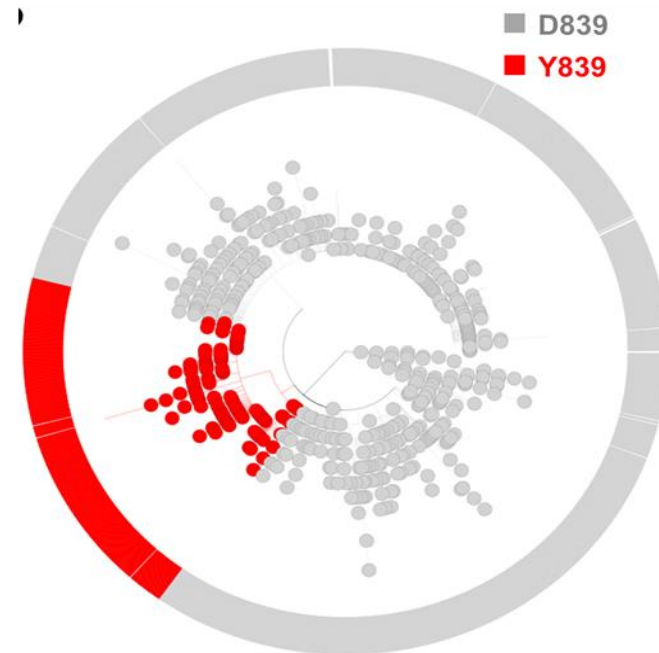


March 18th

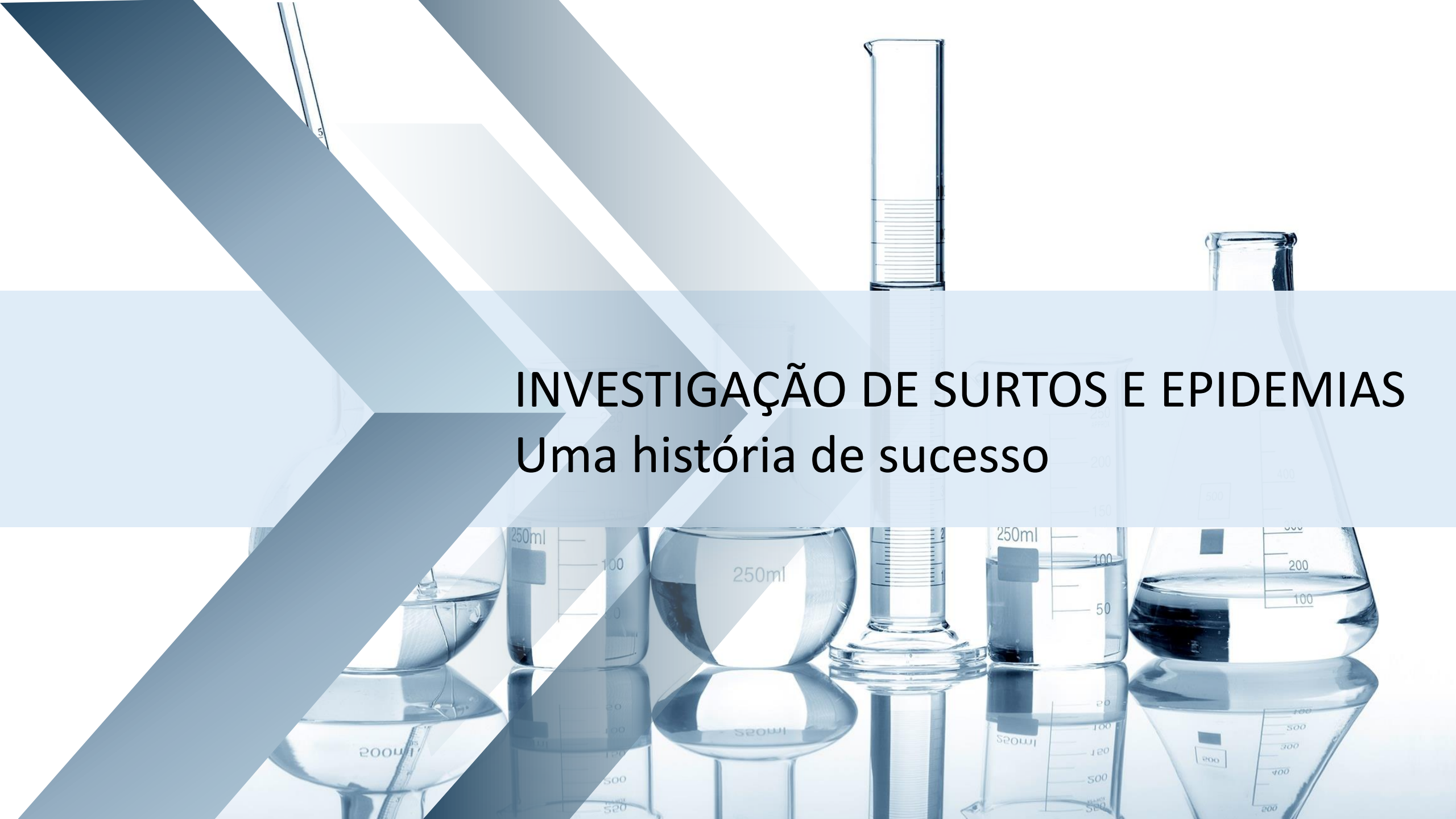


April 30th

■ D839
■ Y839



Borges et al, 2021, Emerg Microbes Infect

The background of the slide features a collection of laboratory glassware, including beakers, flasks, and graduated cylinders, some containing liquids. The image is overlaid with a semi-transparent blue band and large, stylized geometric shapes in shades of blue and grey. The text is centered within the blue band.

INVESTIGAÇÃO DE SURTOS E EPIDEMIAS

Uma história de sucesso



Investigação de surtos, epidemias e pandemias em que o INSA interveio (últimos 12 anos)

Exemplos:

2009/2010 – Pandemia de Gripe A H1N1p (cerca de um milhão de casos de gripe A, levando 1436 pessoas a ser internadas e causando 124 mortes - 18 500 mortos em todo o mundo segundo a OMS)

2009/2011 – Surto de *Listeria monocytogenes* (51 casos hospitalizados, 16 mortos)

2010/2011 – Surto de *E. coli* O104:H4 (sementes de feno grego do Egipto, mais de 4000 pessoas foram infetadas e 48 mortes na Alemanha)

2012/2013 – Surto de Dengue na ilha da Madeira (mais de 2 000 casos)

2014/2015- Surto de Doença dos legionários de Vila Franca de Xira (infetou 403 pessoas e causou 14 mortes)

2013/16 – Epidemia de Ebola na Africa Ocidental (mais de 11 000 mortos)

2016 – Epidemia de vírus Zika no Brasil (214 193 casos registados no Brasil)

2017- Surto de Doença dos legionários no Hospital da CUF (15 infetados); Surto de Hepatite A (435 casos confirmados) ; dois surtos de sarampo simultâneos por duas estirpes diferentes do vírus (56 pessoas, um morto); Surto de Doença dos legionários no Hospital S. Francisco Xavier em Lisboa (59 infetados e cinco mortos);

2018 – Três surtos de sarampo simultâneos na região norte do país (112 infetados);

2020/21 – Pandemia COVID-19 (1 082 797 casos, 18 106 mortes em Portugal; 242 142 481 casos, 4 924 803 mortes em todo o mundo)

FORUM



CONSELHOS CIENTÍFICOS
DOS LABORATÓRIOS DO ESTADO

25

Outubro de 2021

Auditório do LNEC em Lisboa

SEMINÁRIO

A INVESTIGAÇÃO NOS
LABORATÓRIOS DO ESTADO
E A CONSTRUÇÃO DE UMA
SOCIEDADE SEGURA E
MAIS RESILIENTE

Obrigado!

Jorge Machado

jorge.machad@insa.min-saúde.pt



REPÚBLICA
PORTUGUESA



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge