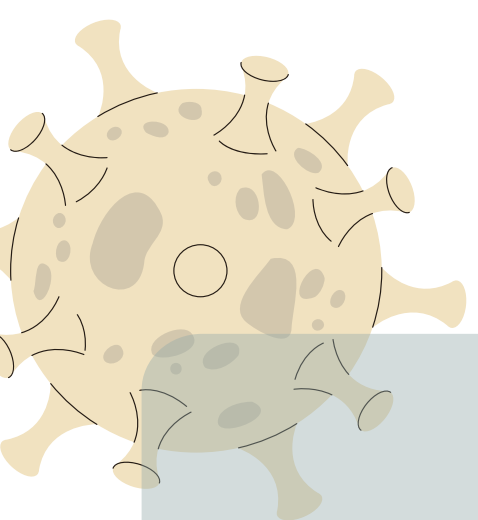




VIGILÂNCIA DA INFLUENZA A, INFLUENZA B E DO VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO NOS CADÁVERES PROVENIENTES DOS SERVIÇOS MÉDICO-LEGAIS EM PORTUGAL

Joana Rodrigues¹, Vânia Mofreira¹, Filipa Balsa¹, Joana Cerqueira¹, Jennifer Fadoni^{1,6}, Magda Franco¹, Alena Shastakova¹, Jéssica Magalhães¹, Helena Correia Dias^{1,2,7}, Laura Cainé^{1,3,6}, António Amorim^{1,4,5,6}

¹Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, Portugal | ²Laboratório de Antropologia Forense, Universidade de Coimbra, Portugal | ³Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal | ⁴Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Portugal | ⁵Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Portugal | ⁶REQUIMTE, Laboratório Associado, Portugal, ⁷Centro de Investigação em Antropologia e Saúde, Universidade de Coimbra, Portugal



INTRODUÇÃO

Os vírus respiratórios são responsáveis por numerosas doenças infecciosas que afetam milhões de pessoas todos os anos. Entre estes, encontram-se o vírus da Influenza A, o vírus da Influenza B e o vírus Sincicial Respiratório (RSV - *respiratory syncytial virus*), que podem causar uma variedade de sintomas respiratórios, desde simples infeções respiratórias a pneumonias letais ¹. As principais epidemias sazonais nos seres humanos ocorrem especialmente no inverno e são causadas pelos vírus da Influenza A e da Influenza B, sendo que a maioria das infeções ocorre em crianças e idosos ². O RSV é a principal causa de doenças do trato respiratório inferior, em crianças pequenas, com menos de dois anos de idade. Este vírus pode ser classificado em dois subgrupos, A e B ^{3,4}. A transmissão destes vírus dá-se principalmente por gotículas expelidas durante a fala, tosse ou espirros. A compreensão destes mecanismos de transmissão é crucial para controlar surtos em vários ambientes ⁵. O diagnóstico é feito essencialmente por testes moleculares, detetando o RNA viral com técnicas de PCR (*polymerase chain reaction*) a partir de amostras respiratórias.

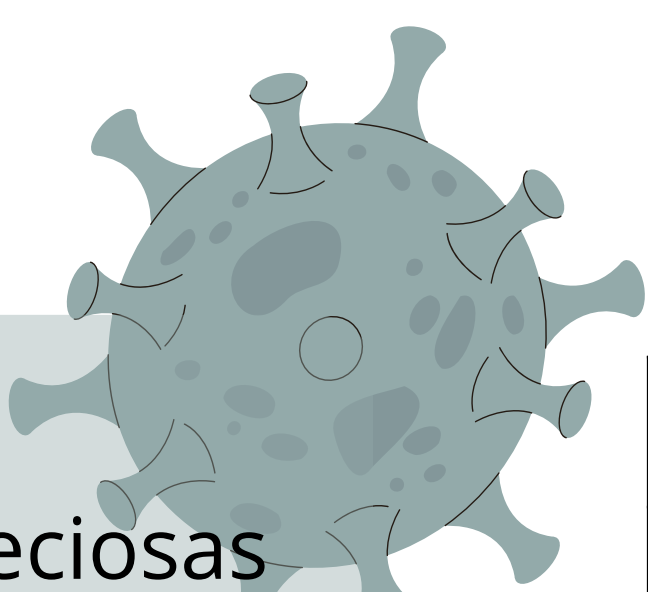


Tabela 1 – Alvos genéticos e sondas fluorescentes utilizadas no ensaio de RT-PCR para deteção dos vírus da Influenza A, Influenza B e RSV e ainda do controlo interno humano RNaseP.

Alvo analisado	Gene-alvo	Sonda utilizada
Influenza A	Proteína matriz (M1)	FAM
Influenza B	Proteína não estrutural (NS2)	HEX
RSV	Proteína matriz (M)	CFR-610
Controlo interno humano - RNaseP	RPP30	Quasar-670

RESULTADOS

Neste estudo foram testadas um total de 1556 amostras. O vírus da Influenza A foi detetado em 23 indivíduos distribuídos por Lisboa, Vila Franca de Xira, Évora, Setúbal e Porto. O vírus da Influenza B foi detetado em 4 indivíduos das regiões do Porto, Baixo Vouga e Dão-Lafões. Por fim, o RSV foi detetado em 7 indivíduos provenientes de Lisboa, Évora, Setúbal e Porto. Estes resultados positivos foram detetados entre dezembro de 2023 e maio de 2025.

OBJETIVOS

Deteção de Influenza A, Influenza B e RSV em cadáveres provenientes dos serviços médico-legais.



MATERIAIS E MÉTODOS

O Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses (INMLCF) assegura o diagnóstico laboratorial dos vírus da Influenza A, Influenza B e RSV, nos cadáveres que dão entrada para autópsia médico-legal, utilizando métodos moleculares. Neste estudo, reunimos informação sobre as análises de Real-Time PCR (RT-PCR) efetuadas pelos Laboratórios de Análises Clínicas e Médico-Legais (LAC-ML) do INMLCF. Antes de realizar a análise de RT-PCR, é necessário proceder à extração dos ácidos nucleicos das amostras recebidas. A extração de RNA (*ribonucleic acid*) em amostras de exsudados nasofaríngeos foi realizada utilizando o kit de extração de vírus EZ1 DSP (QIAGEN). Em seguida, foi realizado o ensaio de RT-PCR utilizando um kit multiplex específico para detetar os vírus da Influenza A, Influenza B e RSV, utilizando alvos genéticos e sondas fluorescentes distintas, que se encontram descritos na tabela 1. O ensaio incluiu ainda um controlo interno de amplificação do gene humano RNaseP (RPP30), marcado com a sonda Quasar-670, para verificar a qualidade da amostra colhida e a eficácia da extração de RNA. As amostras foram colhidas entre maio de 2022 e maio de 2025.

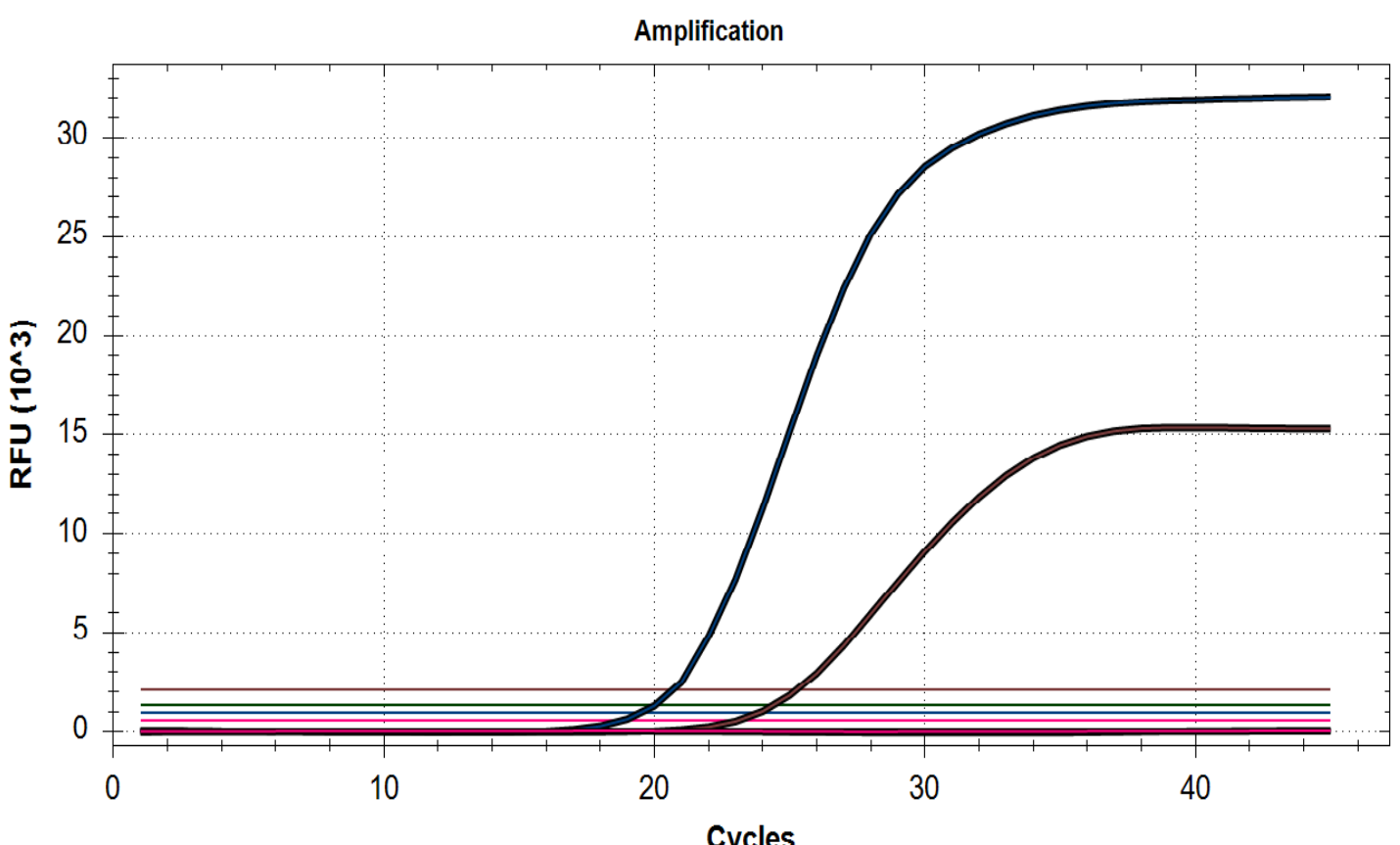
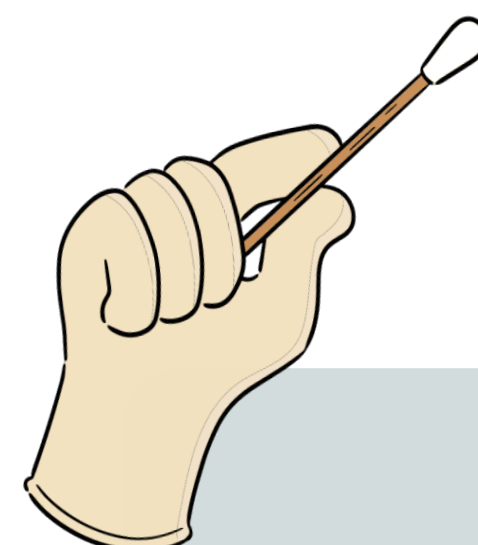


Figura 1 – Exemplo de um resultado positivo para o Vírus da Influenza A.

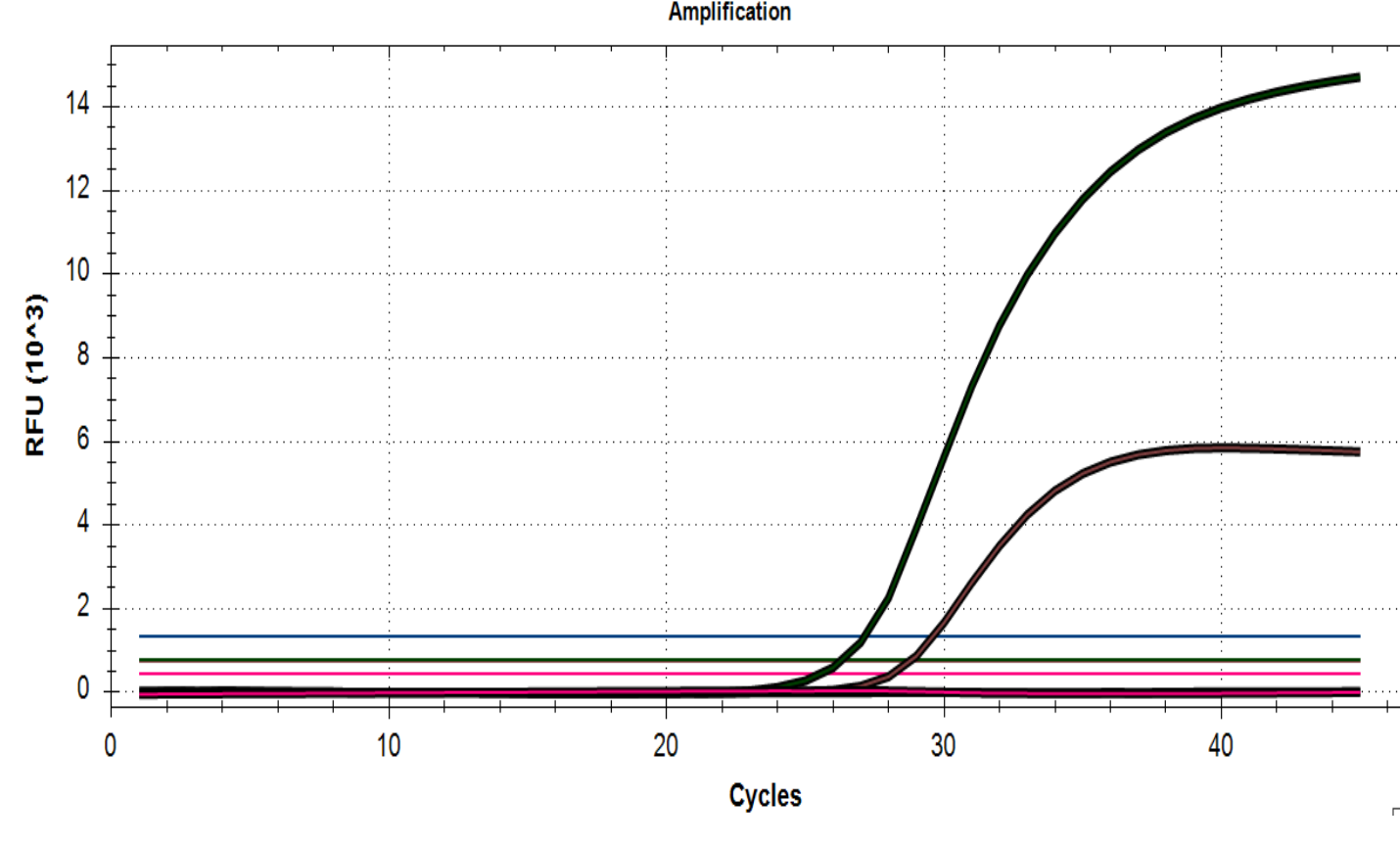


Figura 2 – Exemplo de um resultado positivo para o Vírus da Influenza B.

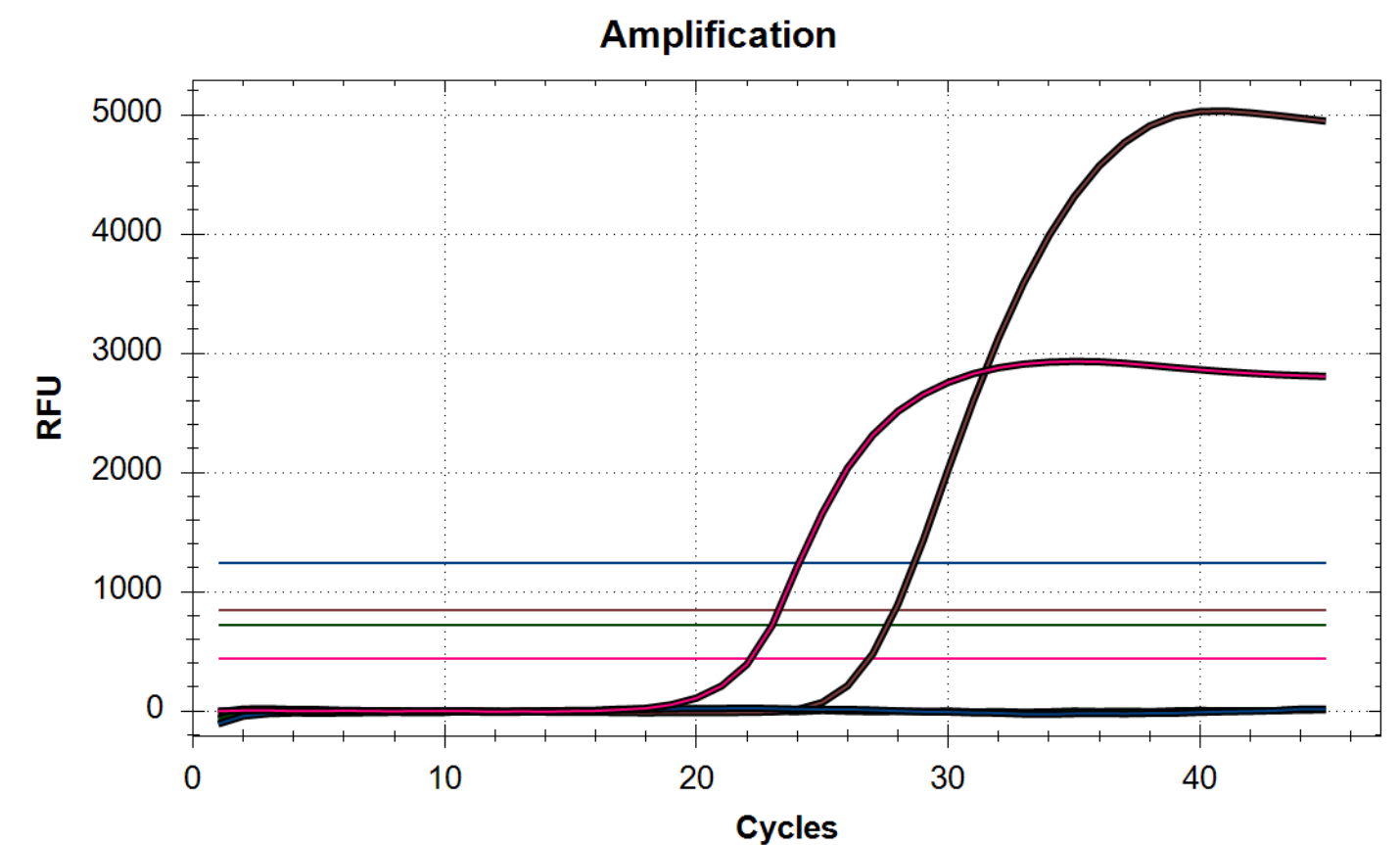


Figura 3 – Exemplo de um resultado positivo para o Vírus Sincicial Respiratório.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os nossos resultados são reportados ao Instituto Nacional de Saúde Pública (INSA), no âmbito do estudo epidemiológico da gripe e outros vírus respiratórios. A vigilância constante dos vírus respiratórios é de extrema importância, e este estudo é um contributo para o panorama epidemiológico em Portugal, entre 2022 e 2025. O estudo de amostras de cadáveres para a presença do vírus Influenza A, Influenza B e RSV permite um melhor rastreio da sua presença na população.

Referências:

- Alotaibi, B. S., Tantry, B. A., Bandy, A., Ahmad, R., Khursheed, S. Q., Ahmad, A., Hakami, M. A., & Shah, N. N. (2023). Simultaneous detection of influenza A/B, respiratory syncytial virus, and sars-cov-2 in nasopharyngeal swabs by one-tube multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(6), 326. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8060326>
- Akashi, Y., Suzuki, H., Ueda, A., Hirose, Y., Hayashi, D., Imai, H., & Ishikawa, H. (2019). Analytical and clinical evaluation of a point-of-care molecular diagnostic system and its influenza A/B assay for rapid molecular detection of the influenza virus. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(8), 578–583. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.02.022>
- Hu, A., Colella, M., Tam, J. S., Rappaport, R., & Cheng, S. M. (2003). Simultaneous detection, subgrouping, and quantitation of respiratory syncytial virus A and B by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(1), 149–154. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.1.149-154.2003>
- Mahony, J. B., Petrich, A., & Smieja, M. (2011). Molecular diagnosis of respiratory virus infections. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 48(5-6), 217–249. <https://doi.org/10.3109/10408363.2011.640976>
- Mahony, J. B. (2008). Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(4), 716–747. <https://doi.org/10.1128/cmr.00037-07>