

2014  
número

07

2ª série

Lisboa\_INSA, IP

publicação trimestral \_ janeiro - março

ISSN: 2183-8874 (em linha)

# Observações

Boletim Epidemiológico

editorial\_

## \_Toxinfecções alimentares, um problema de Saúde Pública

As doenças infecciosas de origem alimentar constituem uma importante causa de morbilidade e mortalidade em todo o mundo. A Organização Mundial de Saúde estima que morrem anualmente mais de dois milhões de pessoas por doenças diarreicas, muitas das quais resultantes do consumo de alimentos contaminados.

A natureza global da cadeia alimentar e a maior mobilidade das populações conduz a que o risco da produção e distribuição de alimentos não seguros possa transformar um problema de saúde pública local num incidente internacional, com consequências particularmente graves em grupos populacionais de risco. O Surto de *E. coli* O104:H4, que ocorreu na Alemanha em 2011 é um exemplo desta globalidade que abalou a economia, as importações e a confiança do consumidor, ocorrendo casos em vários países, dentro e fora da União Europeia.

É importante reforçar que a investigação de surtos de Toxinfecções Alimentares é uma tarefa multidisciplinar, liderada pela Autoridade de Saúde, requerendo competências nas áreas clínica, epidemiológica, laboratorial, alimentar, veterinária e ambiental, devendo daí resultar uma avaliação, comunicação e gestão do risco.

Muitos surtos de Toxinfecções Alimentares não são identificados como tal, não são reportados ou não são investigados, por falta de informação ou falta de treino dos diferentes intervenientes no terreno. → [continua](#)

nesto número\_

### Editorial

**Toxinfecções alimentares, um problema de Saúde Pública** p 01  
*Maria Antónia Calhau*

### Artigos Breves

#### \_Alimentação e Nutrição

**1\_ Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares, 2013** p 03  
*Silvia Viegas, Isabel Cunha, Cristina Correia, Anabela Coelho, Carla Maia, Cláudia Pena, Conceição Bonito, Isabel Sousa, M. Manuel Toscano, Rosália Furtado, Susana Santos, Teresa Lopes, Margarida Saraiva*

**2\_ Avaliação da atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonóides totais de quatro cultivares de anona da Madeira (*Annona cherimola*, Mill.)** p 07  
*Filipa Santos, Tânia Gonçalves Albuquerque, A. Sanches Silva, M. Beatriz Oliveira, Helena S. Costa*

#### \_Doenças Infecciosas

**3\_ *Aspergillus* em ambiente hospitalar: um risco para o desenvolvimento de infeções nosocomiais?** p 10  
*Raquel Sabino, Cristina Verissimo, Carla Viegas, João Brandão, Helena Parada, Carlos Martins, Cristina Furtado, Karl V. Clemons, David A. Stevens*

**4\_ A doença dos legionários em Portugal, 2010-2013: resultados da vigilância laboratorial no âmbito do Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários** p 14  
*Paulo Gonçalves, Paula Lavado, Célia Bettencourt, Maria João Simões*

**5\_ Casos de infeção pelo vírus da imunodeficiência humana diagnosticados em Portugal em jovens dos 15 aos 24 anos, 1983-2012** p 18  
*Helena Cortes Martins*

**6\_ Efetividade da vacina antigripal sazonal na época 2012/13: resultados do projeto EuroEVA 2012/13** p 22  
*Ausenda Machado, Patrícia Conde, Pedro Pechirra, Paula Cristóvão, Raquel Guiomar, Baltazar Nunes*

#### \_Saúde Ambiental

**7\_ Exposição profissional a seovflurano em ambiente hospitalar** p 25  
*Ana Nogueira, Aida Pais, Anabela Oliveira, Herminia Pinhal*

#### \_Doenças Não Transmissíveis

**8\_ Taxas de incidência de primeiros episódios de depressão nos cuidados de saúde primários em 2004 e 2012: dados da Rede Médicos-Sentinela** p 28  
*Ana Paula Rodrigues, Mafalda de Sousa Uva, Baltazar Nunes, Sara Marques, Liliana Antunes, Carlos Matias Dias*

**9\_ Incidência da deficiência da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia média (MCAD) em Portugal** p 30  
*Paulo Pinho e Costa, Laura Vilarinho*

**10\_ Estudo português de hipercolesterolemia familiar: 15 anos** p 32  
*Ana Catarina Alves, Ana Margarida Medeiros, Mafalda Bourbon, em nome dos investigadores do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar*

O esclarecimento dos surtos ou casos de Toxinfecção Alimentar requer evidência científica para o estabelecimento do nexo de causalidade e para a tomada de decisões apropriadas e medidas preventivas adequadas.

A evidência microbiológica que relaciona um alimento com uma Toxinfecção Alimentar só é possível pela deteção do agente causal, no alimento, seus componentes, na cadeia alimentar ou seu ambiente, combinada com a deteção do agente nos humanos, ou com evidência de sintomas clínicos e início da doença, compatíveis com o agente causal identificado nos géneros alimentícios ou seu ambiente (EFSA Journal. 2011;9(4):2101).

A existência de sistemas de informação e a partilha da informação é fundamental para uma correta avaliação do risco. A harmonização de metodologias de reporte e partilha de dados entre os países e as organizações Europeias como a European Food Safety Authority e European Centre for Disease Prevention and Control é indispensável para uma vigilância global e ação transnacional.

O Departamento de Alimentação e Nutrição em colaboração com os outros Departamentos do INSA, assegurando a função de laboratório de referência, reporta internacionalmente, desde 1993, os dados de Toxinfecções Alimentares portuguesas.

A gestão do risco da ocorrência destas infeções é complexa, baseando-se na eliminação ou no controlo do perigo pela implementação de sistemas de boas práticas agrícolas, boas práticas de fabrico e análise de perigos e pontos críticos de controlo (HACCP) que abrangem toda a cadeia de produção alimentar, assim como pela educação para a segurança alimentar dos operadores alimentares e do consumidor final.

Para a integração destas áreas complementares da segurança alimentar, é essencial um diálogo constante entre os diversos setores de atividade envolvidos com o objetivo de monitorizar doenças, avaliar tendências, detetar patogénicos emergentes e compreender as vias de transmissão, de modo a produzir evidência científica que suporte a gestão do risco.

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge ao divulgar os dados da investigação realizada no âmbito do esclarecimento de surtos de Toxinfecções Alimentares pretende contribuir para o conhecimento deste problema de saúde pública, ajudar a otimizar os sistemas de segurança alimentar implementados, assim como os programas de educação para a saúde, minimizando o impacto humano, económico e social destas doenças. Neste número do Boletim Epidemiológico Observações são apresentados os dados relativos a 2013.

**Maria Antónia Calhau**

(Coordenadora do Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA)

#### Bibliografia:

World Health Organization. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Geneva: WHO, 2008. [LINK](#)

World Health Organization. Global Foodborne Infections Network (GFN): strategic plan 2011-2015. Geneva: WHO, 2012. [LINK](#)

European Food Safety Authority. Updated technical specifications for harmonised reporting of foodborne outbreaks through the European Union reporting system in accordance with Directive 2003/99/EC1: scientific report. EFSA Journal. 2011;9(4):2101. [LINK](#)



## Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares, 2013

Silvia Viegas<sup>1</sup>, Isabel Cunha<sup>2</sup>, Cristina Correia<sup>2</sup>, Anabela Coelho<sup>2</sup>, Carla Maia<sup>2</sup>, Cláudia Pena<sup>2</sup>, Conceição Bonito<sup>2</sup>, Isabel Sousa<sup>2</sup>, M. Manuel Toscano<sup>2</sup>, Rosália Furtado<sup>2</sup>, Susana Santos<sup>2</sup>, Teresa Lopes<sup>2</sup>, Margarida Saraiva<sup>2</sup>

[silvia.viegas@insa.min-saude.pt](mailto:silvia.viegas@insa.min-saude.pt)

(1) Unidade de Observação e Vigilância. Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.  
(2) Laboratório de Microbiologia. Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

### Introdução

As doenças infecciosas de origem alimentar resultam da ingestão de alimentos contaminados por microrganismos, suas toxinas ou metabolitos. Para que possam ser evitadas, muitas destas infeções sendo zoonoses, necessitam de uma abordagem integrada de vigilância epidemiológica em saúde pública nas áreas humana e veterinária, incluindo todas as fases da cadeia alimentar.

A realização de uma análise de causas a nível epidemiológico e laboratorial de amostras de géneros alimentícios, ambientais e clínicas, em casos de suspeita de toxinfecção alimentar, pode esclarecer a etiologia dos surtos ajudando 1) a otimizar os sistemas segurança implementados na produção alimentar e os programas da educação para a saúde, 2) minimizar o impacto humano, económico e social destas doenças e 3) melhorar a confiança do consumidor, a sustentabilidade da cadeia de alimentos e a segurança alimentar, bem como diminuir o peso destas doenças nos serviços de saúde e veterinários.

A investigação de surtos de toxinfecções alimentares de acordo com as orientações da Organização Mundial da Saúde <sup>(1)</sup> incluem o estabelecimento da existência de um surto, verificar o diagnóstico, definição e contagem de casos, determinar a população em risco, descrever a epidemiologia, desenvolver hipóteses, avaliar as hipóteses, realizar estudos epidemiológicos, ambientais e laboratoriais adicionais, se necessário, implementar medidas de controlo e prevenção e comunicar os resultados.

### Objetivo

Compilação, análise e interpretação de dados de investigação epidemiológica de base laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares feita no INSA em 2013.

### Material e métodos

Compilação, análise e interpretação de dados de investigação de surtos de toxinfecção alimentar feitos no INSA em 2013. Foram analisados dados de 1) investigação epidemiológica 2) dados laboratoriais microbiológicos de amostras biológicas e/ou sintomas clínicos de doentes que consumiram o(s) alimento(s) suspeito(s), 3) dados laboratoriais microbiológicos de alimentos suspeitos consumidos e 4) dados de investigação ambiental complementados por dados laboratoriais:

1) A Investigação epidemiológica é baseada num questionário que é elaborado pelo INSA e recebido a acompanhar as amostras alimentares e ambientais para análise laboratorial, consistindo em 4 áreas diferentes: a) Informação sobre as pessoas afetadas (número de doentes, amostras biológicas colhidas para análise, sintomas, número de hospitalizações e mortes), b) Informação sobre os surtos (descrição, local do surto, alimento consumido, número de pessoas que consumiram o alimento), c) Informação sobre a amostra (tipo de amostra colhida, tipo de embalagem, local de colheita, ingredientes, método de confeção culinária, lugar onde o alimento foi comprado e preparado), d) Verificação das condições ambientais do local (experiência, estado de saúde e higiene dos manipuladores de alimentos, instalações, equipamentos, temperaturas, métodos de confeção e distribuição, boas práticas de higiene).

2) A Análise laboratorial de amostras biológicas de doentes que consumiram o(s) alimento(s) suspeito(s) foi feita em vários laboratórios de análises clínicas no País relacionados com o local onde os surtos ocorreram e a caracterização epidemiológica dos isolados microbianos foi feita nos laboratórios do INSA. Todos estes dados e informação epidemiológica foi enviada para o INSA através de um questionário de investigação epidemiológico laboratorial que acompanhou o alimento suspeito que foi analisado nos laboratórios do INSA.

3) A Investigação laboratorial de alimentos suspeitos consumidos e 4) a investigação ambiental complementados por dados laboratoriais (ingredientes, sobras alimentares, alimentos do menu que tenham sido epidemiologicamente implicados, alimentos com associação conhecida com o patogénico em questão, alimentos no ambiente que possam ter permitido a sobrevivência ou crescimento de microrganismos, amostras de manipuladores com suspeita de estarem infetados por microrganismos) foi feita nos laboratórios do INSA com métodos acreditados pela ISO/IEC 17025.

artigos breves\_ n. 1

Todos os dados foram identificados e categorizados usando o sistema de codificação da European Food Safety Authority (2).

**Resultados**

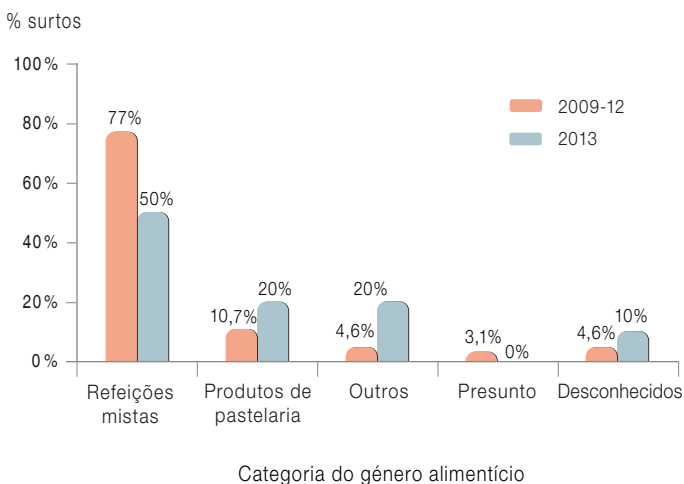
Em 2013 foi realizada a investigação laboratorial de 19 surtos. Em 10 surtos foi identificado o agente etiológico, nestes foram reportados 183 casos humanos e 17 hospitalizações (9.3%). Na **Tabela 1** pode observar-se o número de surtos e de casos humanos envolvidos (casos, hospitalizados e mortes) nos últimos 5 anos (2009-2013).

**Tabela 1:** Surto com agente etiológico identificado, 2009-2013.

Número	2009	2010	2011	2012	2013	Total
Surtos	11	4	8	7	10	40
Casos	251	56	101	135	183	726
Hospitalizados	90	0	1	1	17	109
Mortes	1	0		0		1

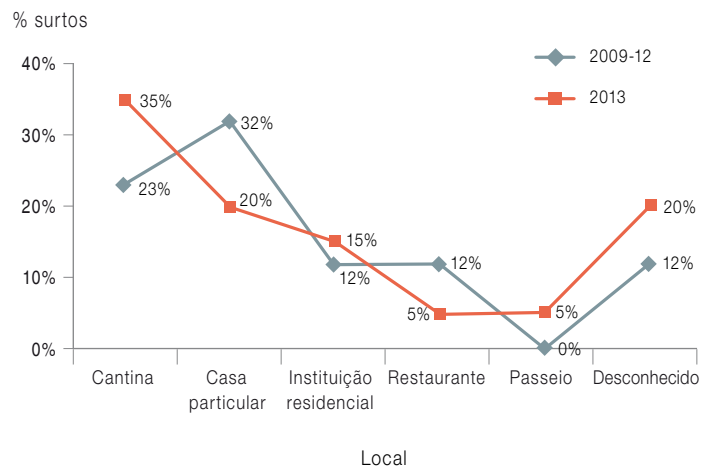
As refeições mistas e os produtos de pastelaria e bolos continuam a ser o tipo de género alimentício onde predominantemente é identificado o agente etiológico das toxinfecções alimentares. Continuam a existir situações em que a evidência microbiológica do alimento suspeito permanece desconhecida. (Gráfico 1).

**Gráfico 1:** Categoria de género alimentício onde se detetou o agente etiológico do surto, 2009-2012 e 2013.



No que se refere as locais onde o alimento esteve exposto, onde decorreram as fases finais de preparação ou onde foi consumido, foram reportadas casas particulares, cantinas de empresas, de escolas e de instituições residenciais bem como um restaurante e um piquenique (Gráfico 2).

**Gráfico 2:** Surto por locais onde ocorreu a exposição do alimento implicado, 2009-2012 e 2013.



Os fatores que mais têm contribuído para a ocorrência de toxinfecções alimentares têm sido contaminações cruzadas, procedimentos de manipulação incorretos, assim como abusos no binómio tempo/ temperatura de conservação de alimentos, estando estes fatores presentes simultaneamente em vários dos surtos. De assinalar a grande frequência de situações em que a análise de causas não nos foi comunicada nem a conseguimos determinar com os dados disponíveis.

A enterotoxina estafilocócica foi o agente etiológico identificado em 5 surtos. Houve 1 surto de cada um dos agentes *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* verotoxigénica (VTEC) não O157, e toxina botulínica. Foram estudados 2 surtos em que se identificou Norovírus nas fezes de doentes e em manipuladores, não se tendo obtido evidência microbiológica do alimento em causa (Tabela 2). No Gráfico 3 podemos ver os agentes causais dos 40 surtos ocorridos de 2009 a 2013 em que o agente causal foi identificado.

No Quadro 1 apresenta-se a descrição detalhada dos surtos ocorridos em 2013.

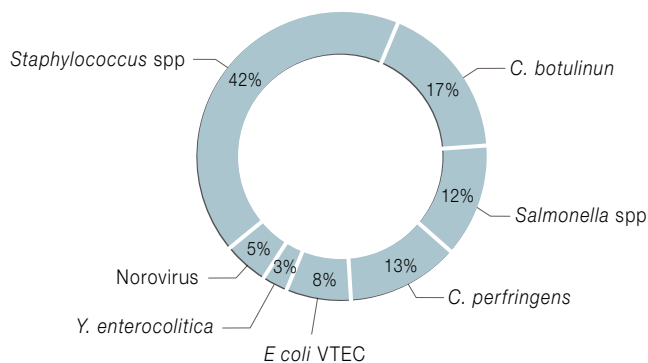


artigos breves\_ n. 1

Tabela 2: Surtos 2013: agente etiológico.

Agente etiológico	Surtos 2013 (N=10)
Enterotoxinas estafilocócicas e/ou estafilococos coagulase positiva	5
<i>Clostridium botulinum</i>	1
<i>Clostridium perfringens</i>	1
<i>E coli</i> (VTEC)	1
Norovirus GI1	2

Gráfico 3: Agentes causais de toxinfecções alimentares, 2009-2013.



A maioria das toxinfecções alimentares são caracterizadas como doença de manifestação suave e/ou autolimitada geralmente resolvidas em ambulatório. No entanto, a análise das causas/ números de internamento hospitalar, podem ser medidas indiretas importantes do peso de determinadas doenças na comunidade, possibilitando a sua vigilância/monitorização.

Neste sentido, analisámos os dados disponíveis de internamento hospitalar em Portugal para determinadas doenças/agentes que, em grande parte, são transmitidas por alimentos (Tabela 3). Estes, alertam-nos para a necessidade de melhorar a vigilância epidemiológica e laboratorial devendo esta ser obrigatória quando há doentes internados. Nestes casos a caracterização molecular das estirpes isoladas é um passo importante para verificar a identificação de surtos dispersos e determinar fontes de contaminação na cadeia de produção alimentar. Salientamos o elevado número de internamentos por diarreias víricas e por infeções intestinais (gastroenterites e diarreias) mal definidas.

Um melhor conhecimento das doenças transmitidas por alimentos ajuda a priorizar ações e a distribuir recursos na saúde e na segurança alimentar.

Tabela 3: Internamentos de episódios agudos e Doenças infecciosas e intestinais ICD9 (001-009).

	2009	2010	2011	2012	2013 (até Out)
Febre tifoide e paratifoide	26	17	19	12	10
Infeções por <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. Thyphimurium</i>	320	214	203	206	88
Disenteria bacilar	3	6	6	7	0
Doença intestinal protozoários	7	11	9	14	6
Brucelose	55	40	62	29	16
Listeriose	32	45	24	35	13
Toxoplasmose	34	36	34	44	10
Diarreia Enterovirus/Adenovirus	668	791	628	790	474
Outras diarreias víricas	483	348	314	281	111
Infeções intestinais mal definidas	2394	1967	2446	2609	1458

Fonte: GDH/ACSS

### Conclusões

O facto de que os veículos alimentares mais frequentemente associados aos surtos terem sido refeições mistas e produtos de pastelaria, o fator patogénico dos agentes causais mais prevalentes ter sido a produção de toxinas e os mais frequentes fatores contributivos terem favorecido a produção de toxinas, é indicação de que houve más práticas de segurança alimentar.

Embora este estudo represente uma fração do número real de toxinfecções alimentares ocorridas em Portugal, os nossos resultados indicam que para diminuir a incidência destes surtos, os inadequados tratamento térmico e binómio tempo/temperatura de conservação, muitas vezes ocorrendo simultaneamente com a contaminação cruzada e a presença de manipuladores infetados, têm de ser pontos críticos nos programas de educação para a segurança alimentar, visando a eliminação de comportamentos de risco.





Quadro 1: Descrição detalhada dos surtos de toxinfecções alimentares ocorridos em 2013.

#### 7 surtos – Evidência microbiológica do alimento: forte

Deteção de um agente causal em um veículo alimentar, combinada simultaneamente com deteção de casos humanos compatíveis com o agente causal identificado.

**SURTOS (5)- enterotoxina estafilocócica:** 30 casos conhecidos; 6 hospitalizados; 0 mortes.

- SURTOS (3): 8 casos conhecidos; 6 hospitalizados. 1º SURTO: Alimento: arroz de frango. Local: jardim de infância. Foi encontrada a enterotoxina tipo A no alimento e uma estirpe produtora do mesmo tipo de toxina isolada na rinofaringe do manipulador do estabelecimento que confeccionou a refeição; 2º SURTO: Alimento: arroz de pato. Local: casa particular. Detetou-se enterotoxina A no alimento; 3º SURTO: Alimento: rissóis. Local: passeio. Foram detetadas enterotoxinas A e D no alimento.

- SURTOS (2): 22 casos conhecidos; 0 hospitalizado. 1º SURTO: Alimento: bolo de pastelaria. Local: desconhecido. Foi encontrada enterotoxina A no bolo e uma estirpe produtora do mesmo tipo de toxina na faringe de funcionários da pastelaria; 2º SURTO: Alimento: bolo de aniversário de pastelaria. Local: instituição residencial. Foi encontrada estirpe de *Staphylococcus coagulase positiva* no alimento. Sintomatologia: náuseas / vômitos / cefaleias / dores abdominais.

Fatores contributivos nestes 5 surtos por enterotoxina estafilocócica: manipulador infetado, contaminação cruzada e tempo e temperatura de conservação inadequados.

**SURTO (1)- VTEC (stx2) não O157:** 50 casos conhecidos; 3 hospitalizados; 0 mortes. Alimento: salsa em natureza, utilizada sem tratamento térmico na preparação/ornamentação de refeição. Local: cantina de escola. Agente: estirpe VTEC não O157 no alimento. Sintomatologia: diarreia / febre / náuseas / vômitos / cefaleias / dores abdominais. Fatores contributivos: desconhecidos.

**SURTO (1)- *Clostridium perfringens*:** 7 casos conhecidos; 7 hospitalizados; 0 mortes. Alimento: polvo de fricassé. Local: cantina. Agentes: *Clostridium perfringens* 3,2X10<sup>7</sup>UFC/g; *Staphylococcus coagulase positiva* 6,4X10<sup>2</sup> UFC/g (estirpe produtora de Enterotoxina). Sintomatologia: diarreia / dores abdominais. Fatores contributivos: binómio tempo/temperatura de conservação inadequados.

#### 12 surtos – Evidência microbiológica do alimento: não conseguida

Em alguns casos a investigação laboratorial da área alimentar/ambiental não foi realizada ou não se realizou no alimento a pesquisa do agente que posteriormente se caracterizou como causador do surto.

**SURTO (1)- Norovírus GII:** 20 casos conhecidos; 0 hospitalizado; 0 mortes. Deteção laboratorial: fezes. Resultado: fezes - Norovírus GII.

**SURTO (1)- Norovírus GII:** 76 casos conhecidos; 0 hospitalizado; 0 mortes. Deteção laboratorial: fezes. Resultado: fezes - Norovírus GII.

**SURTO (1)- Toxina botulínica Positiva - tipo B:** 1 caso conhecido; 1 hospitalizado; 0 mortes. Alimento: alheira (com uma evidência epidemiológica fraca, não tendo sido o alimento analisado). Deteção laboratorial: soro; fezes. Sintomatologia: obstipação / visão turva / dores abdominais / diplopia / secura boca / dificuldade em engolir.

**SURTOS (9)- agente etiológico não identificado,** não houve evidência microbiológica do alimento em causa: 106 casos; 8 hospitalizados.

- SURTOS (6): 89 casos conhecidos; 1 hospitalizado. Locais: cantina de empresas; cantina de escolas; instituições residenciais.
- SURTO (1): 4 casos conhecidos; 2 hospitalizados. Alimento: lapas. Local: casa particular. Sintomatologia: náuseas / vômitos / diarreia aquosa / dores abdominais / febre / dores de cabeça / dormência (lábios, mãos) / afeções visuais.
- SURTOS (2): 13 casos conhecidos; 5 hospitalizados. Alimentos: 1 bolo de batizado; 1 bolo de aniversário. Local: casa particular; restaurante.

#### Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Geneva: WHO, 2008. [LINK](#)
- (2) European Food Safety Authority. Manual for Reporting on Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the framework of Directive 2003/99/EC and of some other pathogenic microbiological agents for information derived from the year 2011: technical report. Parma, EFSA, 2012. (Supporting publication 2012: EN-266). [LINK](#)



## Avaliação da atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonóides totais de quatro cultivares de anona da Madeira (*Annona cherimola*, Mill.)

Filipa Santos<sup>1</sup>, Tânia Gonçalves Albuquerque<sup>1,2</sup>,  
A. Sanches Silva<sup>1</sup>, M. Beatriz Oliveira<sup>2</sup>, Helena S. Costa<sup>1,2</sup>

helenacosta@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento, Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

(2) REQUIMTE/Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

### Introdução

A anona da Madeira é um dos frutos mais exportados em Portugal (1), depois da banana é, atualmente, o fruto mais exportado da Região Autónoma da Madeira.

A anona da Madeira possui, desde 2000, Denominação de Origem Protegida, sendo a primeira fruta a nível regional a receber este grau de proteção internacional (2).

Trata-se de um fruto muito apreciado, com características organolépticas e nutricionais distintas, mas ainda muito pouco estudado no que respeita ao seu valor nutricional e em compostos bioativos. Para além de avaliar a composição do alimento é, também, fundamental caracterizar os subprodutos que origina (casca e sementes) (3).

### Objetivos

Avaliar a atividade antioxidante da polpa, casca e sementes de quatro cultivares da anona da Madeira, utilizando os métodos do 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), de Folin Ciocalteu e dos flavonóides totais.

Para além disso, comparou-se a capacidade antioxidante dos extratos da anona com a de três antioxidantes sintéticos: o 2,6-di-terc-butil-4 metilfenol (BHT), o ácido gálico e o ácido ascórbico.

### Materiais e métodos

Foram utilizadas anonas de quatro cultivares, Funchal, Madeira, Mateus II e Perry Vidal. Os frutos selecionados de cada cultivar

foram colhidos manualmente e de forma aleatória, de acordo com o estado de maturação, a partir de diferentes árvores e diferentes partes de cada árvore, em janeiro de 2013.

Para a preparação dos extratos, pesaram-se 6 g de amostra, adicionaram-se 20 mL de etanol (90%, v/v) e colocou-se a agitar no ultra-turrax durante 10 min. Para o método do DPPH\*, seguiu-se a metodologia descrita por Julián-Loaeza *et al.* (2011) (4) com algumas modificações. A atividade antioxidante foi expressa em EC<sub>50</sub>, a concentração do extrato que leva à redução de 50% da absorvência do DPPH\*, sendo estes valores calculados por regressão linear.

Para a quantificação dos polifenóis totais utilizou-se um método baseado em Julián-Loaeza *et al.* (2011) (4). O padrão de ácido gálico foi utilizado para construir a reta de calibração e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de amostra.

No método para a determinação dos flavonóides totais seguiu-se a técnica descrita por Barreca *et al.* (2011) (5). O padrão de epicatequina foi utilizado para construir a reta de calibração e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de epicatequina (EEC) por 100 g de amostra.

### Resultados

Os resultados do ensaio do DPPH\* (Gráfico 1) indicam que a anona do cultivar Madeira apresentou os menores valores de EC<sub>50</sub>, para todas as partes do fruto (0,18 ± 0,00 mg/mL, 3,19 ± 0,08 mg/mL, 0,97 ± 0,01 mg/mL para a casca, sementes e polpa, respetivamente), obtendo-se para este cultivar a maior atividade antioxidante.

O teor em compostos fenólicos foi bastante similar entre todos os cultivares, apesar de existirem diferenças consideráveis ao nível das diferentes partes do fruto. A casca apresentou o maior teor em compostos fenólicos, que variaram entre 17,0 ± 0,12 e 19,6 ± 0,15 mg de EAG/100 g de amostra, para os cultivares Perry Vidal e Mateus II, respetivamente (Gráfico 2).

artigos breves\_ n. 2

Gráfico 1:  $EC_{50}$  (mg/mL) das diferentes partes do fruto da *Annona cherimola* Mill. dos quatro cultivares analisados.

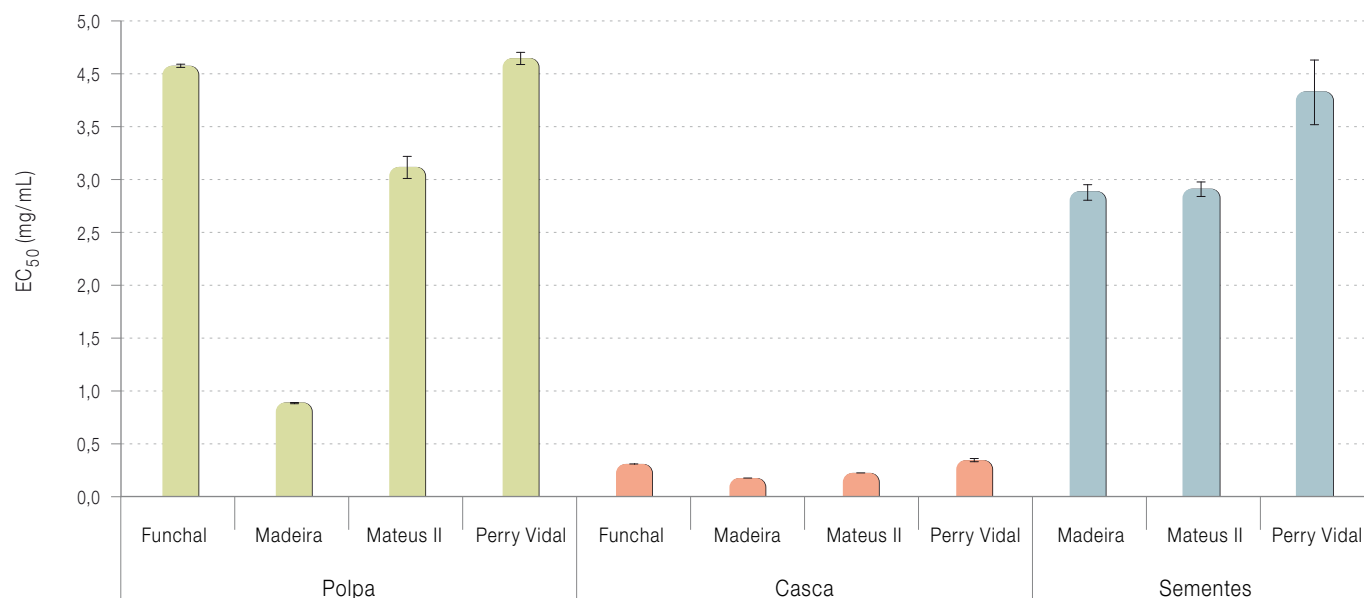
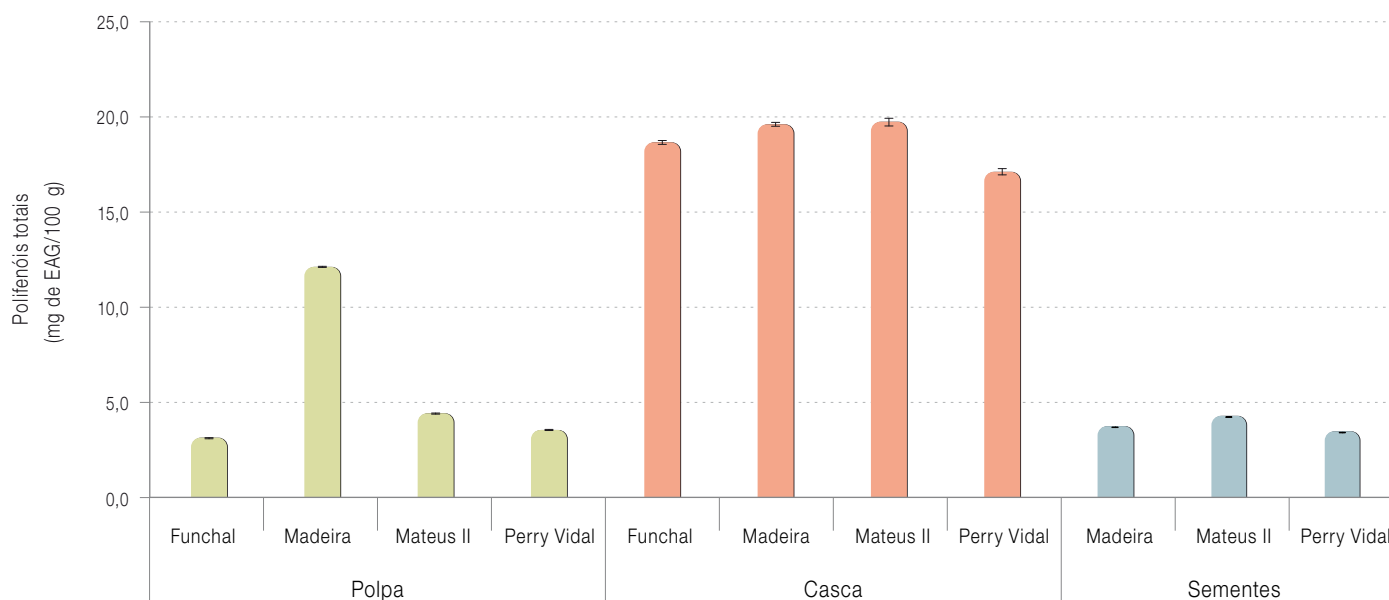


Gráfico 2: Teor de polifenóis totais (mg de EAG/100 g de amostra) das diferentes partes do fruto da *Annona cherimola* Mill. dos quatro cultivares analisados.

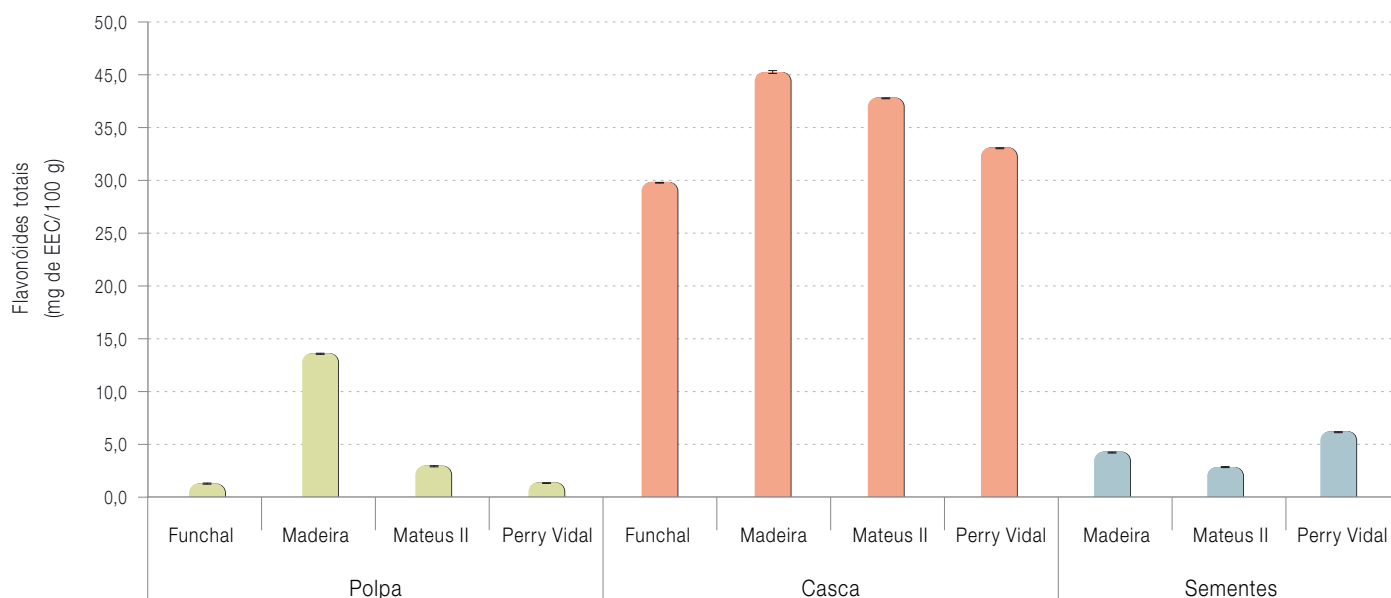


No que diz respeito aos teores dos flavonóides totais (Gráfico 3), a polpa do cultivar Funchal, apresentou o menor valor ( $1,31 \pm 0,02$  mg de EEC/100 g de amostra) e o valor mais elevado foi encontrado na casca do cultivar Madeira ( $44,7 \pm 0,1$  mg de EEC/100 g de amostra).

A polpa do cultivar Madeira foi a que apresentou um maior teor destes compostos ( $12,0 \pm 0,04$  mg EAG/100 g e  $15,0 \pm 0,01$  mg de EEC/100 g de amostra) quando comparada com as polpas dos outros cultivares analisados.



Gráfico 3: Teor de flavonóides totais (mg de EEC/100 g de amostra) das diferentes partes do fruto da *Annona cherimola* Mill. dos quatro cultivares analisados.



## Conclusões

Pelos resultados aqui apresentados, podemos concluir que dos quatro cultivares analisados, a casca de *Annona cherimola* Mill. apresentou teores superiores de polifenóis e flavonóides totais. Estes resultados estão de acordo com os obtidos pelo método do radical DPPH que indicam que a casca da anona tem maior capacidade antioxidante que a polpa ou sementes, sendo os resultados muito semelhantes entre os cultivares analisados.

De facto, há um padrão semelhante entre os diferentes cultivares no que respeita à parte do fruto analisada, com exceção do cultivar Madeira, que revelou uma atividade antioxidante e teores de polifenóis e flavonóides totais muito superiores aos restantes.

Os subprodutos representam cada vez mais um interesse acrescido do ponto de vista ambiental e, principalmente, económico. A valorização de subprodutos é uma questão de grande relevo no cenário actual, dado que cada vez mais se desperdiça e não se aproveita a presença de compostos bioactivos naturais de elevado valor e com grande potencial para a indústria alimentar, farmacêutica e/ou cosmética.

## Referências bibliográficas:

- (1) Arun JB, Venkatesh K, Chakrapani P. et al. Phytochemical and Pharmacological potential of *Annona cherimola* – A Review. *Int J Phytomed.* 2011;3(4):439-447.
- (2) Clube dos Produtores. Revista O melhor de Portugal. 2011 jul; 2. [LINK](#)
- (3) Ayala-Zavala J, Rosas-Dominguez C, Vega-Vega V. et al. Antioxidant Enrichment and Antimicrobial Protection of Fresh – Cut Fruits Using Their Own Byproducts: looking for Integral Exploitation. *J Food Sci.* 2010;25(8):175-181.
- (4) Julian-Loaeza AP, Santos-Sanchez NF, Valadez-Blanco R, et al. Chemical composition, color, and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. *Ind Crop Prod.* 2011; 34(2):1262-68.
- (5) Barreca D, Laganà G, Ficarra S, et al. Evaluation of the antioxidant and cytoprotective proprieties of the exotic fruit *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). *Food Res Int.* 2011; 44(7):2302-10.



## **Aspergillus em ambiente hospitalar: um risco para o desenvolvimento de infeções nosocomiais?**

Raquel Sabino<sup>1</sup>, Cristina Veríssimo<sup>1</sup>, Carla Viegas<sup>2</sup>, João Brandão<sup>1</sup>, Helena Parada<sup>1</sup>, Carlos Martins<sup>3</sup>, Cristina Furtado<sup>1</sup>, Karl V Clemons<sup>4,5,6</sup>, David A Stevens<sup>4,5,6</sup>

raquel.sabino@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Área Científica de Saúde Ambiental. Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa.

(3) Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE.

(4) California Institute for Medical Research.

(5) Department of Medicine. Division of Infectious Diseases, Santa Clara Valley Medical Center.

(6) Department of Medicine. Division of Infectious Diseases and Geographic Medicine, Stanford University.

### **Introdução**

As infeções fúngicas invasivas dependem da interação entre a suscetibilidade do hospedeiro, a exposição ambiental e o microorganismo (1). Os indivíduos imunocomprometidos são mais suscetíveis a adquirir infeções nosocomiais provocadas por fungos isolados a partir do meio ambiente, como são exemplo os fungos do género *Aspergillus*.

A aspergilose invasiva é uma infeção fúngica por *Aspergillus* spp. que afeta sobretudo os doentes oncológicos transplantados, causando infeções graves em doentes altamente imunocomprometidos, e apresenta com uma taxa de letalidade que pode atingir os 85% (2). O género *Aspergillus* é ubíquo e composto por várias centenas de espécies: *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus* são as mais frequentemente associadas a infeções.

No meio ambiente hospitalar, os fungos são frequentemente detetados no ar não filtrado, nos sistemas de ventilação, em poeira, água, alimentos e plantas ornamentais (3). Os conídios de *Aspergillus* são pequenos e facilmente inalados, podendo colonizar as vias aéreas superiores e inferiores (4). De acordo com estudos internacionais, estima-se que os custos hospitalares relacionados com a aspergilose invasiva sejam 27880€-44890€ mais elevados do que os valores gastos no internamento de doentes sem infeção por *Aspergillus* (5). Em 2009 o custo estimado nos E.U.A para tratamento da aspergilose invasiva foi de 69.797,16 EUR por doente.

Diferentes espécies de *Aspergillus* apresentam diferentes padrões de suscetibilidade aos antifúngicos (6), pelo que o conhecimento das espécies existentes em ambiente hospitalar é determinante para uma decisão terapêutica mais rápida e adequada no tratamento das infeções fúngicas nosocomiais.

### **Objetivo**

Este estudo teve como objetivo caracterizar a distribuição do género *Aspergillus* no meio ambiente de três unidades hospitalares de um Hospital Central que apresentam um risco acrescido de aquisição de infeção fúngica invasiva (Unidades de Transplante Medular, Hemato-Oncologia e Cuidados Intensivos).

### **Metodologia**

Durante o ano de 2013, efetuaram-se quatro amostragens do ambiente hospitalar uma em cada estação do ano, nas Unidades de Hematologia, de Oncologia e Unidade de Cuidados Intensivos (UCI) de um Hospital Central Português. No total, foram colhidas 101 amostras de ar e 99 amostras de superfícies, nomeadamente em puxadores, torneiras, janelas, grelhas de ar condicionado e mesas-de-cabeceira.

As colheitas de ar e das superfícies foram realizadas de acordo com normas internacionais (7); A inoculação das amostras foi realizada de acordo com a metodologia seguida por Samson *et al* (8). A colheita do ar (500 m3) foi efetuada com um amostrador de ar M AIRT-Millipore através do método impactação do ar em placas de malte agar com cloranfenicol, utilizando um caudal de 140L/minuto, a um metro de altura. A concentração fúngica total foi calculada em unidades formadoras de colónias (UFC) por metro cúbico de ar. As placas resultantes da colheita ambiental foram incubadas a 25±2°C durante 5-7 dias e as culturas obtidas, analisadas através de características morfológicas (macro e microscópicas), de crescimento e termotolerância.

Os isolados de *Aspergillus*, foram identificados recorrendo a uma abordagem molecular. O DNA fúngico de cada uma das culturas de *Aspergillus* foi amplificado utilizando os primers ITS (Internal Transcribed Spacers) das regiões conservadas do DNA ribossomal 18s (ITS1) e 28s (ITS4) (9). Ambas as cadeias dos produtos amplificados foram sequenciadas com BigDye Terminator (Applied Biosystems).

As sequências resultantes foram alinhadas usando os programas Cromas v.2.33 e Clustal X2 e comparadas com bases de dados disponíveis em websites (NCBI Blast e CBS Database). Utilizou-se como critério para aceitação das sequências a homologia superior a 98%. A análise estatística foi efetuada com programa SPSS v21.0 para Windows.

## Resultados e discussão

Em 200 amostras de ar e superfícies colhidas obtiveram-se 548 isolados fúngicos. Destes, *Aspergillus* foi o género fúngico mais frequentemente isolado (19.7%), seguido dos géneros *Cladosporium* (18.6%) e *Penicillium* (17.3%) (Gráfico 1).

No total, foram identificados 80 isolados de *Aspergillus* durante os quatro períodos sazonais de colheita. Vinte e três (28.8%) destes isolados foram colhidos durante a primavera, 18 (22.5%) no verão, 23 (28.8%) no outono e 16 (20.0%) no inverno (Tabela 1). Verificou-se

uma associação significativa entre a estação do ano e os complexos de espécies isolados, sendo o inverno a estação do ano onde se detetou o menor número de complexos de espécies de *Aspergillus* ( $p = 0.001$ ).

As espécies de *Aspergillus* pertencentes ao complexo *Versicolores* foram as únicas isoladas nas quatro estações do ano, tendo sido detetadas desde 2 a 28 UFC/m<sup>3</sup> de ar. Já as espécies pertencentes aos complexos *Candidi* e *Usti* foram detetadas apenas no inverno e no verão. Estas variações sugerem que podem existir diferenças nas necessidades hídricas e nutricionais de cada espécie de *Aspergillus*, pelo que a sua distribuição difere em função das estações do ano.

Nas unidades de doentes hematológicos (unidade de transplantes de medula e unidade de hemato-oncologia) foram identificados 35 isolados de *Aspergillus* das 86 amostras colhidas (Gráfico 2).

Gráfico 1: ↓ Géneros fúngicos identificados nas amostras colhidas no ambiente hospitalar (ar e superfícies) de um Hospital Central Português.

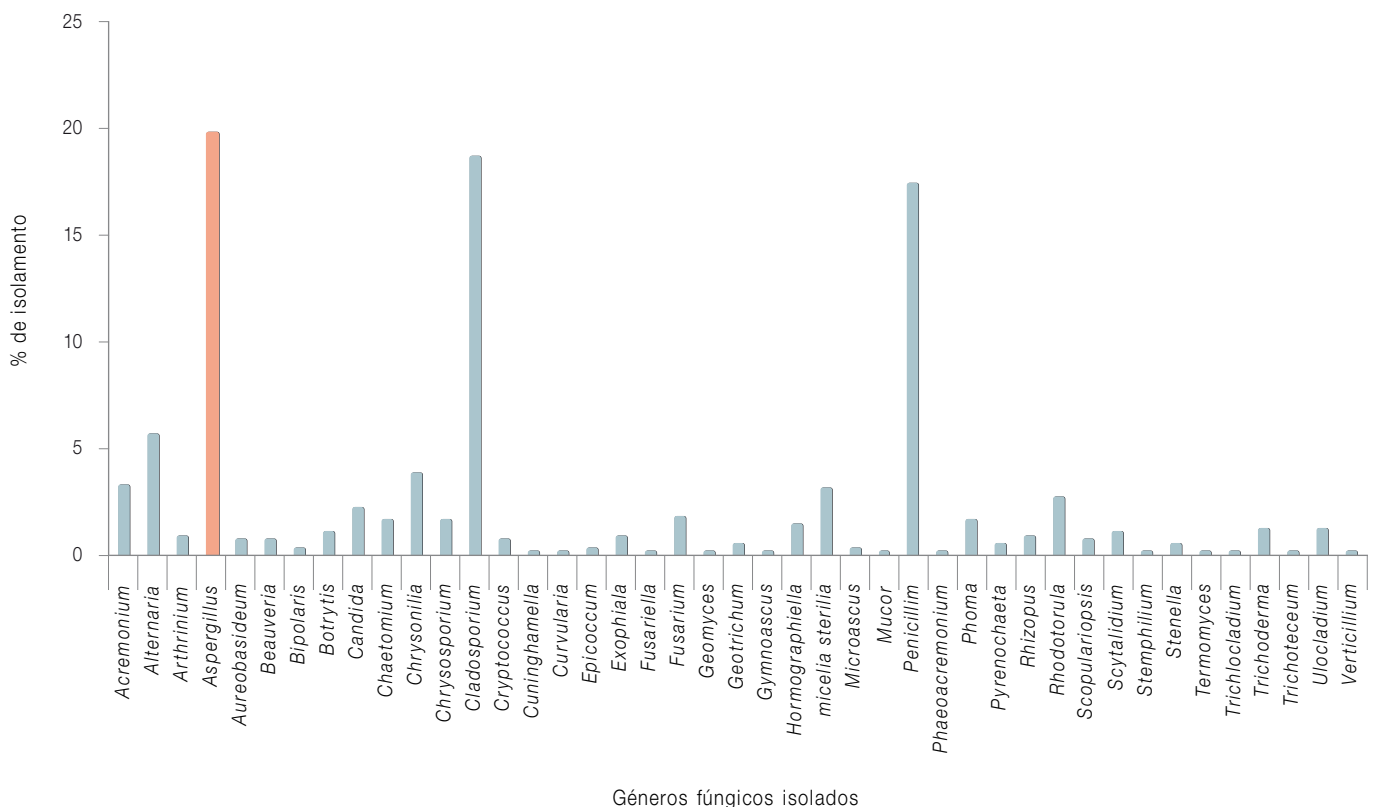
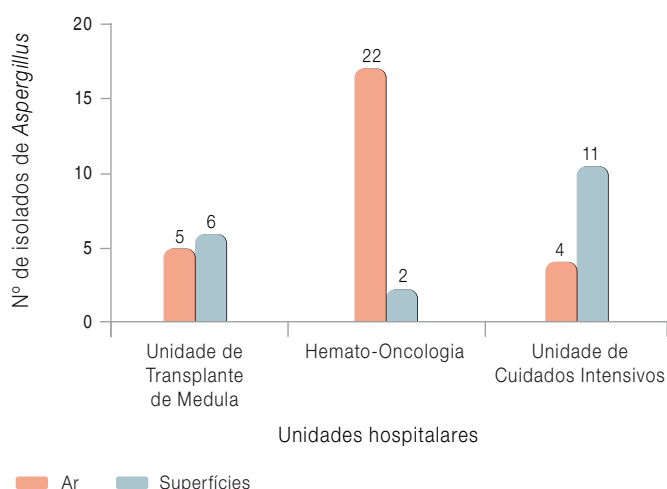


Tabela 1: Distribuição dos diferentes complexos de espécies de *Aspergillus* ao longo dos diferentes períodos de colheita.

Complexo de espécies de <i>Aspergillus</i>	Primavera (23 isolados)	Verão (18 isolados)	Outono (23 isolados)	Inverno (16 isolados)	Total
<i>Aspergilli</i>	1	0	0	4	5
<i>Candidi</i>	0	0	0	2	2
<i>Circumdati</i>	5	1	0	0	6
<i>Flavi</i>	5	1	5	0	11
<i>Fumigati</i>	0	3	3	1	7
<i>Nidulantes</i>	1	2	1	0	4
<i>Nigri</i>	4	6	0	1	11
<i>Terrei</i>	1	0	3	0	4
<i>Usti</i>	0	4	0	0	4
<i>Versicolores</i>	6	1	11	8	26

Gráfico 2: Número isolados de *Aspergillus* recolhidos nas diferentes unidades de um Hospital Central Português.



Na unidade de transplante de medula óssea, cujos quartos individuais são protegidos por filtros HEPA, foram detetados e identificados cinco isolados de *Aspergillus* (complexos *Fumigati*, *Terrei* e *Versicolores*), provenientes do ar e quatro deles colhidos durante o outono. A importância da utilização de filtros HEPA na contenção da contaminação por *Aspergillus* na unidade de transplante medular pode ser confirmada pela diferença significativa obtida ( $p = 0.0058$ ) quando se compara o número de isolados de *Aspergillus* detetados das diferentes unidades hospitalares estudadas (com e sem filtros HEPA).

No que respeita à unidade de cuidados intensivos, foram identificados 15 isolados de *Aspergillus*, onze dos quais obtidos a partir de colheitas às superfícies (Gráfico 2). Nestes casos, observou-se a predominância de isolados pertencentes ao complexo *Flavi*, muitos deles isolados a partir das frestas da janela, o que sugere a existência de uma contaminação de origem externa.

Em todas as unidades hospitalares estudadas foram obtidas 27 amostras contaminadas por mais de uma espécie de *Aspergillus* (em 21 amostras de ar e em seis amostras de superfície), o que evidencia a importância de uma correta identificação das diferentes espécies, dado que diferentes espécies apresentam diferentes susceptibilidades aos antifúngicos.

### \_Conclusões

Neste estudo *Aspergillus* foi o género fúngico mais frequentemente isolado. A maior frequência observada no período de outono poder-se-á dever à existência de obras no hospital, nas proximidades das unidades estudadas nesta estação do ano. Os trabalhos de construção em ambiente hospitalar são conhecidos por serem uma das causas do aumento dos casos de aspergilose invasiva, uma vez que com o levantamento de poeiras são também transportados conídios de *Aspergillus* que rapidamente se disseminam.



## artigos breves\_ n. 3

Apesar dos dados apresentados serem meramente indicativos, esta realidade reforça a importância de uma vigilância contínua da presença de *Aspergillus* em ambiente hospitalar, sobretudo nas unidades onde a população de doentes apresenta maior predisposição para adquirir infeções fúngicas, quer seja por deficiência imunitária, nomeadamente doentes transplantados ou sob terapia citotóxica, quer seja por quebra da proteção natural como é o caso dos doentes com queimaduras extensas.

A vigilância activa e o conhecimento atempado da presença e distribuição de fungos ambientais nos hospitais leva ao estabelecimento precoce de medidas preventivas e/ou corretivas adequadas, de forma a diminuir o número de infeções fúngicas nosocomiais. Acresce que, a adoção de boas práticas diárias no controlo ambiental é fundamental para prevenir ou controlar um surto de aspergilose nosocomial. Por outro lado, compreender a biodiversidade de espécies fúngicas em ambiente hospitalar é determinante para a instituição de uma terapêutica mais rápida e adequada, uma vez que a susceptibilidade aos antifúngicos varia consoante as espécies.

**Referências bibliográficas:**

- (1) Eduard W. Fungal spores: a critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(10):799-864.
- (2) Lin S-J, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 2001;32(3):358-66. [LINK](#)
- (3) Klich MA. Health effects of *Aspergillus* in food and air. *Toxicol Ind Health.* 2009;25(9-10):657-67.
- (4) Ben-Ami R, Lewis R, Kontoyiannis DP. Enemy of the (immunosuppressed) state: an update on the pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* infection. *Br J Haematol.* 2010;150(4):406-17.
- (5) Krueger K, Nelson A. Economic considerations in the treatment of invasive aspergillosis: a review of voriconazole pharmaco-economic studies. *Clinicoecon Outcomes Res.* 2009;1:35-43. [LINK](#)
- (6) Van Der Linden JW, Warris A, Verweij PE. *Aspergillus* species intrinsically resistant to antifungal agents. *Med Mycol.* 2011;49(Suppl1):S82-9.
- (7) ISO 14698-1:2003 (E) Cleanrooms and associated controlled environments – Biocontamination control – Part 1: General principles and methods. Geneva: International Organization for Standardization; Brussels: European Committee for Standardization, sep 2003.
- (8) Samson R, Hoekstra E, Frisvad J, et al. *Introduction to Food and Airborne Fungi.* 6th ed. Utrecht, The Netherlands, ASM Press/Centralalbureau Voor Schimmelcultures, 2000.
- (9) White TJ, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, et al. (eds.). *PCR Protocols: a guide to methods and applications.* New York: Academic Press, Inc, 1990: 315-322.





## A doença dos legionários em Portugal, 2010-2013: resultados da vigilância laboratorial no âmbito do Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários

Paulo Gonçalves, Paula Lavado, Célia Bettencourt, Maria João Simões

paulo.goncalves@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infecções Respiratórias.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

A Doença dos Legionários (DL), descrita pela primeira vez por Fraser e colegas em 1977 na sequência de um surto de pneumonia severa que ocorreu em 1976 entre participantes na Convenção da Legião Americana em Philadelphia (Estados Unidos da América) (1), resulta da infeção por bactérias do género *Legionella*. A DL caracteriza-se por uma pneumonia com um quadro clínico inespecífico de febre alta, mal-estar geral, letargia, astenia, mialgia e cefaleia (2). Os sintomas respiratórios incluem dispneia, tosse seca (não produtiva, embora metade dos doentes desenvolvam expectorações purulentas e um terço desenvolvam hemoptise) e dor torácica proeminente (pleurítica ou não). Os sintomas gastrointestinais são também proeminentes e cerca de metade dos doentes apresenta manifestações do sistema nervoso central durante a primeira semana do início de sintomas (2). Na ausência de tratamento a doença evolui desfavoravelmente ao longo da primeira semana e pode ser fatal. A taxa de letalidade é elevada (10-30%), particularmente em doentes hospitalizados (40-80%) (2).

Em Portugal, a DL é uma Doença de Declaração Obrigatória (DDO) desde 1999 (3). De acordo com a informação disponível, o número de casos em Portugal, em linha com o que acontece na Europa, tem vindo a aumentar nos últimos anos (4-6). Adicionalmente, pensa-se que a doença em Portugal seja subnotificada e subdiagnosticada (4), o que requer não só uma cuidada interpretação dos dados conhecidos mas, principalmente, a implementação de estratégias de vigilância ativa e de intervenção atempada para minorar estes efeitos.

Neste contexto, a Direção-Geral da Saúde (DGS) coordena, desde 2004, o Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários, que contempla a notificação clínica dos casos através do sistema DDO, a notificação laboratorial através do VigLab-Doença dos Legionários e a investigação epidemiológica e ambiental da responsabilidade das Autoridades de Saúde (4,7,8). Para além da DGS e das Autoridades de Saúde locais, participam também neste Programa todos os serviços de patologia clínica da rede hospitalar pública e privada, o Laboratório de Referência (LR) de *Legionella* do Departamento de Doenças Infecciosas e o Laboratório de Microbiologia do Departamento de Saúde Ambiental do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), o Laboratório de Microbiologia do Hospital de Santa Cruz e o Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

Neste trabalho são apresentados os dados recolhidos e analisados no LR de *Legionella* no INSA entre 2010 e 2013, ao abrigo da componente laboratorial do Programa de Vigilância, com o objetivo de melhor contribuir para o conhecimento da doença e também de identificar pontos fracos e oportunidades de melhoria do próprio sistema laboratorial VigLab-Doença dos Legionários.

### Métodos

#### Classificação de caso de DL

A classificação de caso de DL utilizada neste trabalho é a definida na Circular Normativa N.º 5/DEP de 2004 da DGS (4) e atualizada na Decisão 2012/506/EU da Comissão Europeia de agosto de 2012 (9). Assim, um caso confirmado é definido como qualquer indivíduo que apresente um quadro clínico de pneumonia e, pelo menos, 1 de 3 critérios laboratoriais seguintes: o isolamento de *Legionella* nas secreções respiratórias ou de um local normalmente estéril, a deteção do antigénio de *Legionella pneumophila* na urina, ou o aumento significativo no título de anticorpos específicos para *Legionella pneumophila* serogrupo 1 em duas amostras de soro sequenciais.

#### Notificação laboratorial de caso de DL

Para efeitos de análise, foram consideradas todas as notificações de casos com diagnóstico laboratorial de DL confirmado que foram enviadas ao INSA no âmbito do sistema laboratorial VigLab-Doença

artigos breves\_ n. 4

dos Legionários do Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada. A notificação laboratorial foi efetuada através do preenchimento e envio da Requisição/Notificação Laboratorial de DL anexa à Circular Normativa N.º 5/DEP de 2004 da DGS. Os dados recolhidos incluem data de início de sintomas, dados demográficos (idade, género, local de residência), localização possível da fonte de infeção e dados laboratoriais (produtos biológicos analisados, metodologias aplicadas e resultados do diagnóstico laboratorial). Os dados codificados e não nominais foram introduzidos numa base de dados desenhada para o efeito e gerida pelo INSA.

**Diagnóstico laboratorial**

Os métodos laboratoriais foram os definidos na Circular Normativa N.º 5/DEP de 2004 da DGS (4,10). Para a caracterização das estirpes de *Legionella* foram utilizados os métodos recomendados pelo *European Working Group for Legionella Infections* disponíveis no sítio da internet [www.ewgli.org](http://www.ewgli.org).

**\_Resultados**

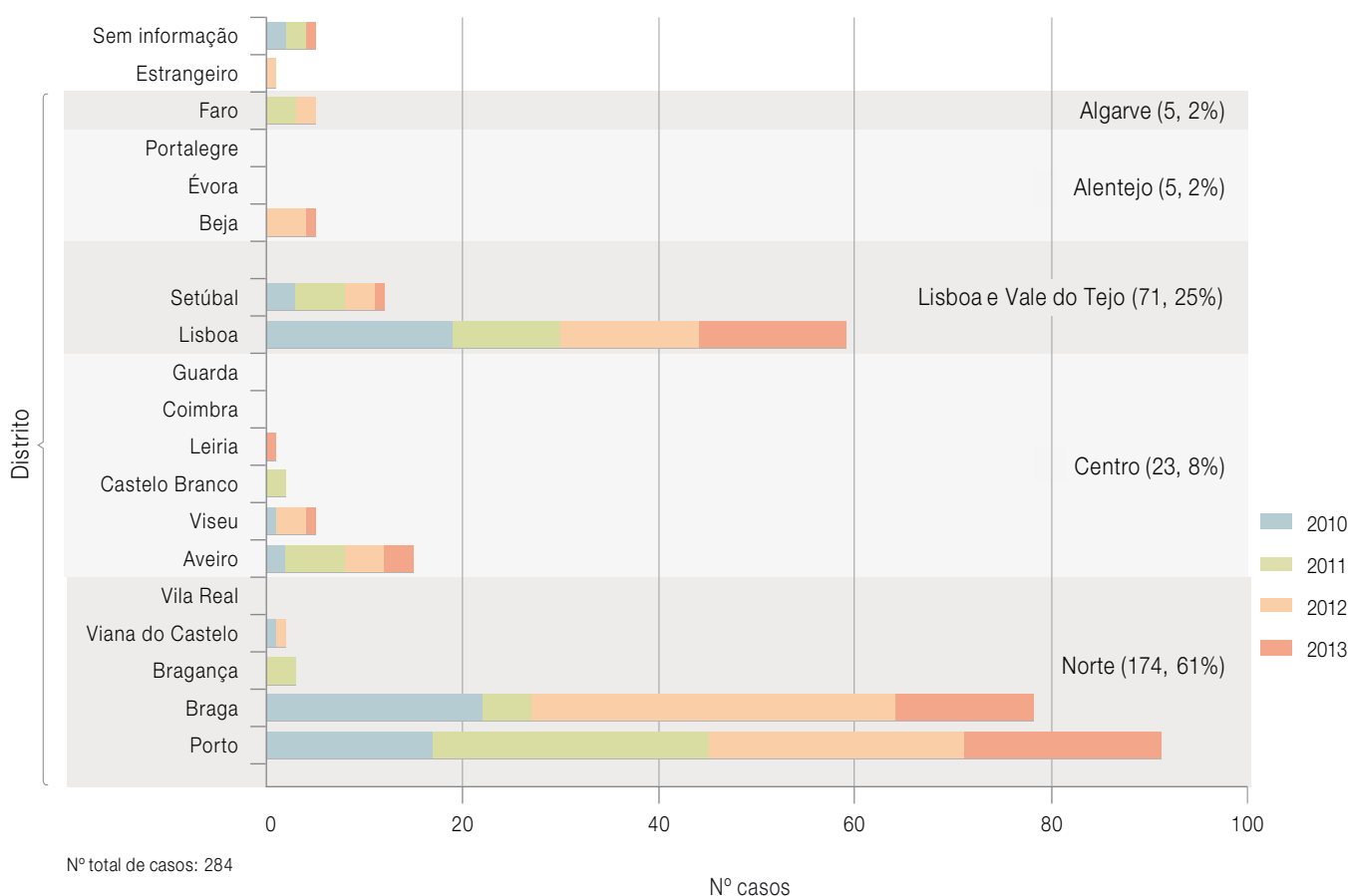
**Sazonalidade**

Entre 2010 e 2013 foram notificados ao sistema laboratorial VigLab-Doença dos Legionários 284 casos de DL com confirmação laboratorial. O período de inverno e início da primavera foi o período em que se observou o menor número de casos, correspondendo à distribuição sazonal esperada da DL.

**Distribuição geográfica**

A maioria dos casos notificados (174/284, 61%) eram residentes na região Norte do país, com destaque para os distritos do Porto (91/174) e Braga (78/174) (*Gráfico 1*). Na região de Lisboa e Vale do Tejo ocorreram 71 casos (25%), particularmente nos distritos de Lisboa (59/71) e Setúbal (12/71). Aveiro foi o distrito mais afetado na região Centro com 15 casos de DL declarados.

Gráfico 1: Distribuição geográfica dos casos de DL notificados ao Sistema VigLab-Doença dos Legionários entre 2010 e 2013.



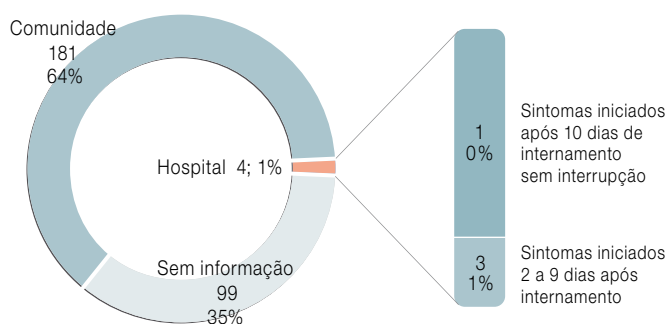


artigos breves\_ n. 4

### Localização possível da fonte ambiental da infeção

O local possível da fonte de infeção foi conhecido em 65% dos casos (185/284) de DL notificados, verificando-se que a maioria teve origem na comunidade (**Gráfico 2**). Contudo, em 4 situações, a infeção poderá ter ocorrido em ambiente hospitalar.

**Gráfico 2:** Localização possível da fonte de infeção nos casos de DL notificados ao Sistema VigLab-Doença dos Legionários entre 2010 e 2013.



n=284

### Distribuição por género e grupo etário

Dos 284 casos notificados, 79% (224/284) eram do género masculino. Durante os quatro anos estudados não foram declarados ao VigLab-Doença dos Legionários casos de DL em crianças com idade inferior a 9 anos (**Gráfico 3**). Observou-se que em 98% (279/284) dos casos a idade foi igual ou superior a 30 anos, sendo o grupo etário dos 50-59 anos o mais frequente.

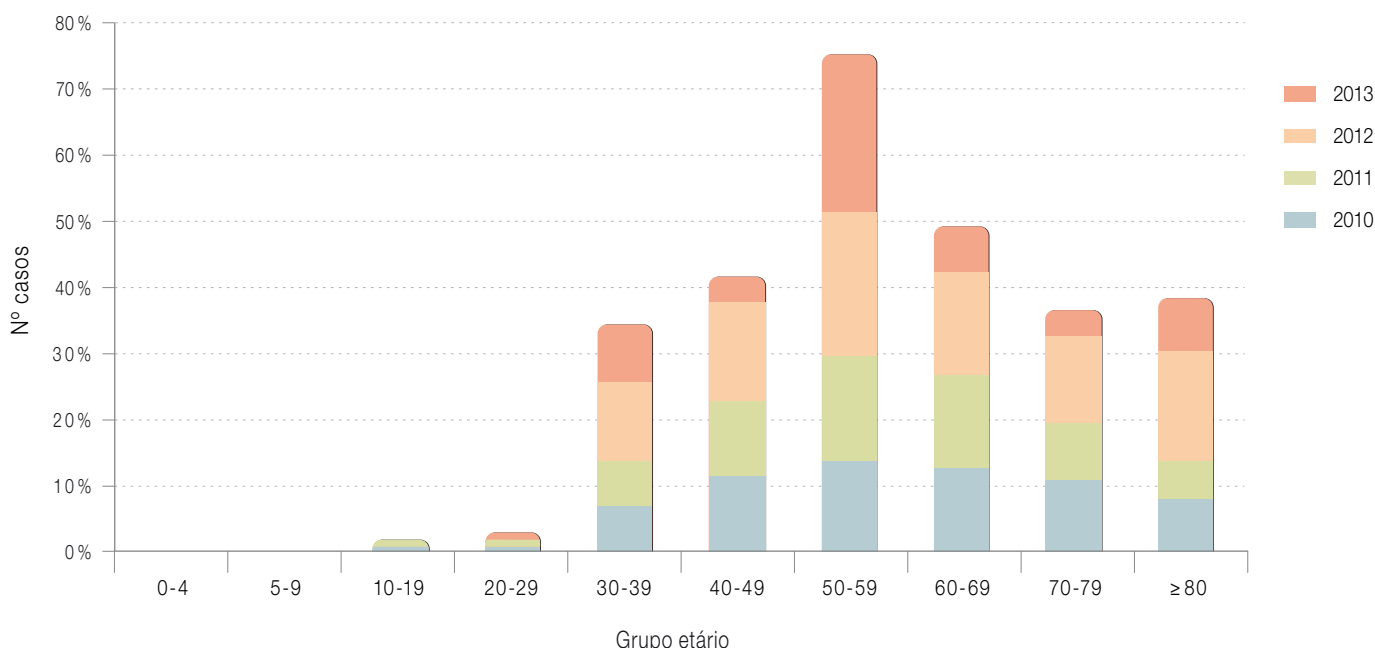
### Diagnóstico laboratorial

A pesquisa de antigénio de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 na urina por métodos imunocromatográficos ou imunoenzimáticos foi o método mais utilizado (90% dos casos) no diagnóstico laboratorial da DL.

A cultura orientada para o isolamento e identificação de *Legionella*, método de referência e essencial para a caracterização fenotípica e molecular das estirpes em circulação, foi a metodologia usada em 6% (17/284) dos casos.

A espécie *L. pneumophila* serogrupo 1 foi identificada nos 274 casos em que a metodologia de diagnóstico permitiu identificar a espécie e o serogrupo.

**Gráfico 3:** Distribuição por grupo etário dos casos de DL notificados ao Sistema VigLab-Doença dos Legionários entre 2010 e 2013.



Nº total de casos: 284



## \_Discussão e conclusões

A sazonalidade esperada, e observada em Portugal no período em estudo, justifica-se pelas exigências de temperatura e humidade para a multiplicação de *Legionella*.

A análise dos dados no período considerado permite concluir que a maioria dos casos notificados ao VigLab-Doença dos Legionários no âmbito do Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários ocorreu na população masculina adulta e com idade superior a 30 anos. Verificou-se a inexistência de casos em crianças com idade inferior a 9 anos. Os distritos do Porto, Braga e Lisboa foram os que apresentaram o mais elevado número de casos ao longo dos quatro anos estudados. Este facto, alerta por si só para a importância de se fazer uma vigilância e uma investigação epidemiológica ativas que permitam a rápida identificação e controle das fontes ambientais da infeção.

A pesquisa de antigénio na urina continua a ser a metodologia mais utilizada no diagnóstico da DL, pela facilidade da colheita do produto biológico, pela rapidez da obtenção do resultado (cerca de 15 minutos), pela elevada sensibilidade e especificidade, pelo baixo custo e facilidade de execução (11). A presença do antigénio na urina pode ser detetável entre 1-3 dias após o início dos sintomas e permanecer detetável até 2 meses. Esta metodologia apresenta, contudo, dois problemas fundamentais: 1) a maior parte dos reagentes comerciais disponíveis permite apenas a deteção de *L. pneumophila* serogrupo 1, com o potencial para a produção de diagnósticos falsos-negativos na infeção com outras espécies/serogrupos e 2) não permite a caracterização completa fenotípica nem a caracterização molecular das estirpes.

A caracterização fenotípica e genotípica das estirpes responsáveis por infeção humana é fundamental para poder encontrar-se semelhanças com estirpes ambientais e assim estabelecer, eventualmente, uma relação entre a infeção humana e a fonte ambiental da infeção. Para que isto seja possível, e apesar das dificuldades inerentes à colheita de amostras do trato respiratório em doentes com diagnóstico clínico de Doença dos Legionários, a amostra respiratória é necessária para o isolamento da estirpe em cultura, método de referência para deteção e identificação de *Legionella*, ou para a pesquisa e caracterização molecular do agente diretamente a partir da amostra clínica.

Em conclusão, este trabalho por si só reforça a importância da vigilância integrada da DL, por forma a assegurar a identificação do caso clínico, a sua confirmação laboratorial e melhor caracterização, bem como garantir uma investigação epidemiológica orientada na procura de outros casos relacionados e possíveis fontes ambientais da infeção.

## \_Agradecimentos

Agradece-se aos Serviços de Patologia Clínica da Rede Hospitalar Nacional, ao Laboratório de Microbiologia do Hospital de Santa Cruz, ao Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Saúde Ambiental do INSA e à Direção-Geral da Saúde. Agradece-se também à Doutora Cristina Furtado do Departamento de Doenças Infecciosas do INSA pela colaboração na revisão do manuscrito.

## Referências bibliográficas:

- (1) Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med.* 1977;297(22):1189-97.
- (2) World Health Organization. Legionella and the prevention of legionellosis. Geneva: WHO, 2007. [LINK](#)
- (3) Portaria 1071/98, de 31 de dezembro. DR, 1ª Série B, nº 301: 7381-82. Tabela de doenças de declaração obrigatória. [LINK](#)
- (4) Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa N.º 5/DEP de 22/04/04: Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários: Notificação Clínica e Laboratorial de Casos. Lisboa: DGS, 2004. [LINK](#)
- (5) Dobrev D. Outbreak investigation of eight Legionnaires' disease cases in a small area of the North Region, Portugal, November-December 2009. Oral communication. ESCAIDE 2010, Lisbon, Portugal. [LINK](#)
- (6) European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires disease in Europe, 2010. Stockholm: ECDC, 2012. [LINK](#)
- (7) Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa N.º 6/DT de 22/04/2004: Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários: Investigação Epidemiológica. Lisboa: DGS, 2004. [LINK](#)
- (8) Marques T. A propósito do lançamento do Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários. *Rev Port Doenc Resp.* 2005;1:28-32.
- (9) Comissão Europeia. Decision 2012/506/EU of 8 August 2012: amending Decision 2002/253/EC laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council. *OJ L 262/1; 27.9.2012.* [LINK](#)
- (10) Marques MT, Froes F, Brum G, et al. Doença dos Legionários: Protocolo de diagnóstico. Lisboa: Centro Regional de Saúde Pública de Lisboa e Vale do Tejo, 2003. [LINK](#)
- (11) Garcia-Vidal C, Carratalà J. Current clinical management of Legionnaires' Disease. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2006;4(6):995-1004.



## Casos de infeção pelo vírus da imunodeficiência humana diagnosticados em Portugal em jovens dos 15 aos 24 anos, 1983-2012

Helena Cortes Martins

helen.a.cortes-martins@insa.min-saude.pt

Núcleo de Vigilância Laboratorial de Doenças Infecciosas. Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

No contexto da vigilância epidemiológica da infeção por vírus da imunodeficiência humana (VIH) e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), a monitorização da prevalência da infeção nos jovens dos 15 aos 24 anos é usada como abordagem para identificação das tendências da incidência. Este pressuposto assenta na assunção de que, nestes indivíduos, a aquisição da infeção teve lugar recentemente, pelo que as características dos novos casos refletem as tendências recentes de transmissão <sup>(1)</sup>.

### Objetivo

Este trabalho tem como objetivo caracterizar a evolução da epidemia VIH/SIDA, entre 1983 e 2012, nos jovens portugueses do grupo etário entre os 15 e os 24 anos e identificar tendências recentes de transmissão da infeção.

### Tipo de estudo e fonte de dados

Foi efetuado um estudo transversal, procedendo-se à análise descritiva dos casos de infeção VIH/SIDA diagnosticados em Portugal entre 1983 e 2012 e notificados ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) até 31 de março de 2013, através do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica da infeção VIH/SIDA.

Ressalva-se que os números apresentados, particularmente os relativos aos três últimos anos, poderão vir a sofrer alterações devido ao atraso habitualmente verificado no envio das notificações.

### Resultados

Em Portugal, até 31 de março de 2013 foram notificados 42995 casos de infeção VIH/SIDA, cujo diagnóstico ocorreu entre 1983 e final de 2012. Do total de casos, 5507 (12,8%) registaram-se em indivíduos com idades entre 15 e 24 anos.

### Caraterísticas dos casos acumulados

A análise das características do total acumulado dos casos notificados no escalão etário em estudo revela que a maioria registou-se em indivíduos do sexo masculino (65,7%; 3617) e que Lisboa é o distrito que contabiliza maior número de casos de infeção (2119; 38,5%), seguido dos distritos do Porto (1156; 21,0%) e de Setúbal (697; 12,7%). O vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (VIH-1) é o responsável por 98,1% dos 5372 casos em que o tipo de vírus é conhecido e a maioria dos indivíduos encontravam-se assintomáticos à data do diagnóstico (3550; 64,4%).

A distribuição dos casos pelas diferentes categorias de transmissão é conhecida para 5414 casos e verifica-se que a toxicod dependência é o comportamento associado ao maior número de casos acumulados (2832; 52,3%), seguido da transmissão sexual (2469; 45,6%). Nesta última, a transmissão heterossexual é indicada em 67,4% dos casos (n=1663) e a transmissão homo/bissexual em 28,5% dos casos (n=806).

### Distribuição temporal

A análise da distribuição temporal dos casos de infeção permite identificar tendências e, conseqüentemente, melhor conhecer a dinâmica da infeção. A **Tabela 1** resume a informação relativa à distribuição temporal dos casos de infeção VIH/SIDA, de acordo com o ano de diagnóstico, tanto do número total de casos notificados, como dos casos referentes ao grupo etário dos 15 aos 24 anos e sua estratificação por género.





artigos breves\_ n. 5

**Tabela 1:** ↓ Casos de infeção VIH/SIDA dos 15 aos 24 anos em Portugal: distribuição por ano de diagnóstico e género.

Ano de diagnóstico	Total casos N	Casos 15-24 anos		Género			
		n	%	Masculino		Feminino	
				n	%	n	%
1983	3	1	33,3	0	0,0	1	100,0
1984	6	1	16,7	1	100,0	0	0,0
1985	42	8	19,0	7	87,5	1	12,5
1986	78	17	21,8	12	70,6	5	29,4
1987	158	27	17,1	20	74,1	7	25,9
1988	260	41	15,8	29	70,7	12	29,3
1989	370	40	10,8	35	87,5	5	12,5
1990	523	76	14,5	60	78,9	16	21,1
1991	660	118	17,9	94	79,7	24	20,3
1992	943	199	21,1	160	80,4	39	19,6
1993	1049	215	20,5	157	73,0	58	27,0
1994	1310	264	20,2	193	73,1	71	26,9
1995	1646	370	22,5	258	69,7	112	30,3
1996	2129	402	18,9	281	69,9	121	30,1
1997	2434	439	18,0	314	71,5	125	28,5
1998	2648	452	17,1	318	70,4	134	29,6
1999	2791	443	15,9	294	66,4	149	33,6
2000	2797	351	12,5	234	66,7	117	33,3
2001	2479	273	11,0	137	50,2	136	49,8
2002	2393	237	9,9	117	49,4	119	50,2
2003	2225	205	9,2	94	45,9	111	54,1
2004	2151	170	7,9	79	46,5	91	53,5
2005	2003	164	8,2	79	48,2	85	51,8
2006	2053	164	8,0	93	56,7	71	43,3
2007	1984	165	8,3	103	62,4	62	37,6
2008	2005	167	8,3	102	61,1	65	38,9
2009	1810	156	8,6	112	71,8	44	28,2
2010	1636	129	7,9	84	65,1	45	34,9
2011	1360	120	8,8	78	65,0	42	35,0
2012	1049	93	8,9	72	77,4	21	22,6
<b>Total</b>	<b>42995</b>	<b>5507*</b>	<b>12,8</b>	<b>3617</b>	<b>65,7</b>	<b>1889</b>	<b>34,3</b>

\* 1 caso de sexo desconhecido.

Podemos verificar que 1998 foi o ano com maior número de casos diagnosticados em jovens das idades em estudo e que desde então se observa uma tendência decrescente que, no entanto, se revela

menos acentuada a partir de 2005. A análise comparativa entre o número de casos diagnosticados no ano 2000 e no ano 2005 revela um decréscimo de 114,0%, valor que desce para 27,0% quando analisamos a diferença registada entre os casos referentes aos anos 2005 e 2010. Constata-se ainda uma redução na proporção que os casos notificados neste grupo etário representam relativamente ao total dos casos. Para os casos diagnosticados em 2012 esta proporção (8,9%) situa-se abaixo das médias apurada pelo European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), tanto para os países da União Europeia (11,0%), como para os países da Europa ocidental (9,8%) (2).

Da análise da distribuição temporal estratificada por género destaca-se o aumento recente no número de casos diagnosticados em homens, verificando-se em 2009 um número de casos 29,0% superior ao registado em 2005.

No estudo das tendências temporais para as diferentes categorias de transmissão analisa-se em particular a transmissão heterossexual (Hetero), a transmissão associada ao consumo de drogas (Toxico) e a transmissão entre homens que têm relações sexuais com outros homens (HSH) (Gráfico 1) por, no seu total, registarem 96,2% dos casos em estudo. Assim, é possível observar que na década de 90 os casos diagnosticados em jovens, particularmente do sexo masculino, estavam maioritariamente relacionados com o consumo de drogas. Contudo, em consequência de diferentes programas e intervenções de combate à toxicod dependência e redução dos riscos associados, o número de casos de infeção VIH diagnosticados anualmente em jovens toxicod dependentes diminuiu de modo acentuado e, nos anos mais recentes, representam uma percentagem muito reduzida dos novos casos notificados. Tendência inversa é observada, a partir de 2005, nos casos registados em HSH, com um aumento de casos, tanto percentual como em número absoluto (Gráfico 1 e 2). Em 2009, para o escalão etário em estudo, foi esta a categoria de transmissão que registou maior número de casos notificados. Ainda, desde 2007 que os casos associados à transmissão através de sexo entre homens correspondem a mais de 60% dos casos diagnosticados anualmente em jovens do género masculino com idades entre os 15 e os 24 anos.

artigos breves\_ n. 5

Gráfico 1: ▾ Casos de infeção VIH/SIDA dos 15 aos 24 anos em Portugal: distribuição por ano de diagnóstico de acordo com categoria de transmissão e género (1990-2012).

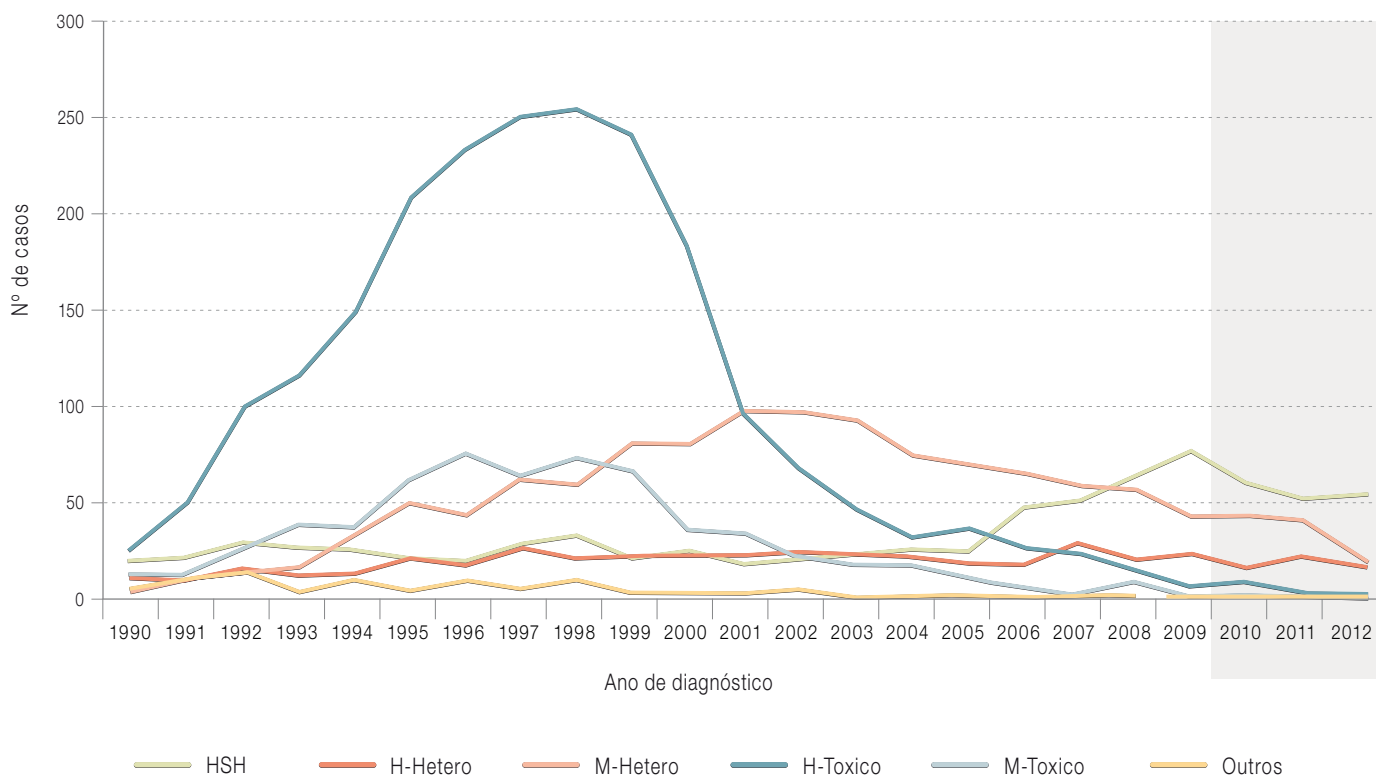
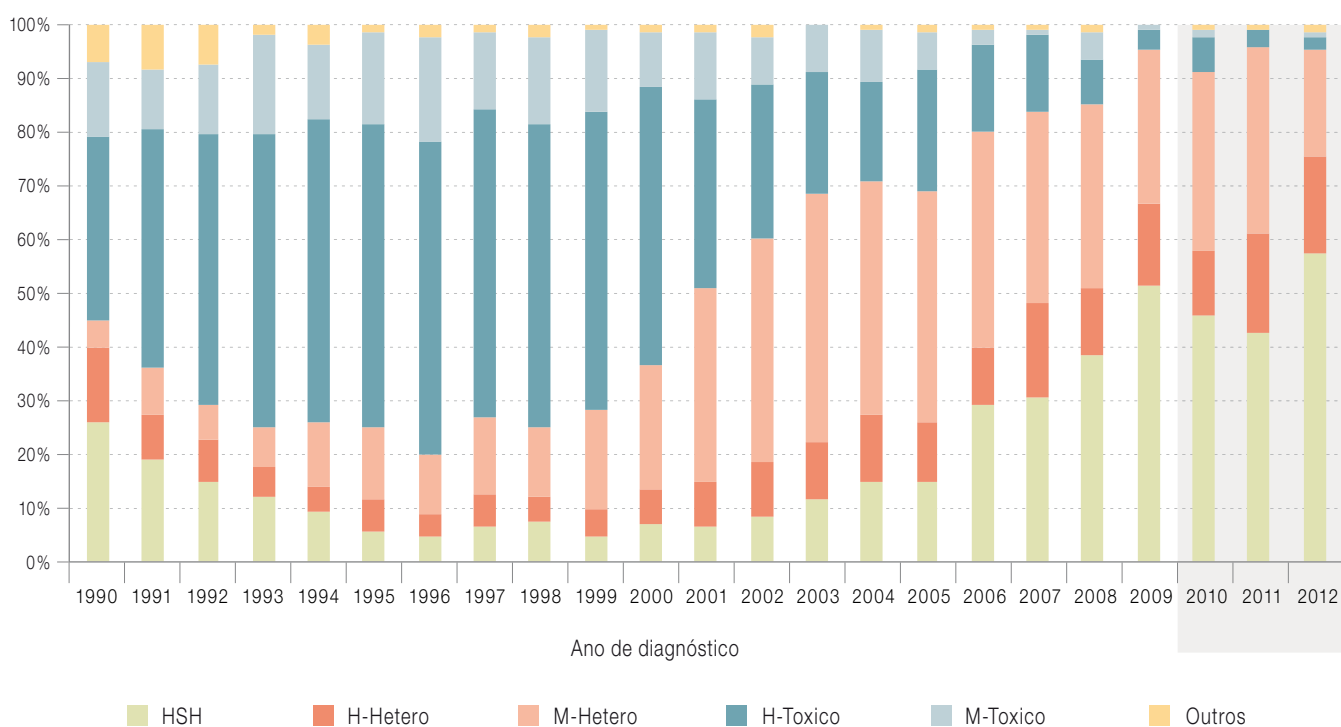


Gráfico 2: ▾ Casos de infeção VIH/SIDA dos 15 aos 24 anos em Portugal: distribuição percentual por ano de diagnóstico de acordo com categoria de transmissão e género (1990-2012).





artigos breves\_ n. 5

A transmissão heterossexual é indiscutivelmente o motor da epidemia nas mulheres das idades em estudo. A análise das tendências para os diferentes tipos de transmissão e os casos estratificados por género revela que, entre 2001 e 2007, o número anual de casos de transmissão heterossexual diagnosticados em mulheres (M-Hetero) foi superior ao contabilizado em qualquer das outras categorias de transmissão, para qualquer dos géneros. Para o grupo etário em análise, nos últimos dez anos o número de casos de transmissão heterossexual observado anualmente nos jovens do sexo masculino (H-Hetero) é sempre inferior ao registado em jovens do sexo feminino. Essa diferença tem valores percentuais que variam entre 46,3% e 77,35%.

### \_Considerações finais

Pela análise realizada é possível afirmar que em Portugal o número anual de novos diagnósticos de infeção VIH/SIDA em indivíduos com idades entre os 15 e 24 anos apresenta um decréscimo face a décadas e anos anteriores. Igualmente, constata-se que a proporção anual de casos neste grupo etário, em relação ao total de casos notificados, é inferior à observada na região europeia e que a transmissão através do consumo de drogas foi controlada com sucesso.

Contudo, revela-se preocupante o aumento recente verificado no nosso país da transmissão entre jovens homo/bissexuais, cujos determinantes urge conhecer. Esta realidade é também evidenciada internacionalmente, como demonstram os dados emanados pelos vários sistemas de vigilância epidemiológica da infeção VIH/SIDA (2,3,4,5). Acresce ainda o facto de que o maior número de casos de transmissão heterossexual nas mulheres entre os 15 e os 24 anos, relativamente aos homens do mesmo grupo etário, pode indiciar padrões ou oportunidades distintas no recurso ao teste de diagnóstico entre os jovens dos dois géneros e/ou uma maior vulnerabilidade das mulheres jovens à infeção VIH/SIDA, hipóteses que importa investigar.

Em conclusão, a sensibilização e educação contínua das gerações jovens para a adoção de práticas seguras, bem como a possibilidade de acesso fácil ao diagnóstico precoce, mostram-se essenciais para uma redução sustentada da incidência da infeção VIH/SIDA nesta faixa etária da população.

### Referências bibliográficas:

- (1) European Centre for Disease Prevention and Control. Monitoring recently acquired HIV infections in the European context. Stockholm: ECDC, 2013. [LINK](#)
- (2) European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2012. Stockholm: ECDC, 2013. [LINK](#)
- (3) European Centre for Disease Prevention and Control. STI and HIV prevention in men who have sex with men in Europe. Stockholm: ECDC, 2013. [LINK](#)
- (4) Departamento de Doenças Infeciosas. Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica. Núcleo de Vigilância Laboratorial de Doenças Infeciosas; Programa Nacional para a Infeção VIH/SIDA (colab). Infeção VIH/SIDA em Portugal: situação a 31 de dezembro de 2012. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2013. (Documento VIH/SIDA; 144). [LINK](#)
- (5) Janiec J, Haar K, Spiteri G, et al. Surveillance of human immunodeficiency virus suggests that younger men who have sex with men are at higher risk of infection, European Union, 2003 to 2012. Euro Surveill. 2013;18(48):pii=20644. [LINK](#)



## Efetividade da vacina antigripal sazonal na época 2012/13: resultados do projeto EuroEVA 2012/13

Ausenda Machado<sup>1</sup>, Patrícia Conde<sup>2</sup>, Pedro Pechirra<sup>2</sup>, Paula Cristovão<sup>2</sup>, Raquel Guiomar<sup>2</sup>, Baltazar Nunes<sup>1</sup>

baltazar.nunes@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Epidemiologia, INSA.

(2) Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe, Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

Anualmente o vírus da gripe é responsável por epidemias que afetam as populações humanas, originando infeções respiratórias normalmente benignas mas que podem ter repercussões elevadas na saúde dos indivíduos. Em particular, os indivíduos com maiores limitações na resposta imunitária a uma infeção (incluindo-se neste grupo os doentes crónicos e os idosos) encontram-se em maior risco de poderem sofrer várias complicações, ao serem infetados pelo vírus da gripe (1).

De uma forma geral, e em particular para os indivíduos em risco, a medida de prevenção da gripe é a vacinação (2). O conhecimento da efetividade da vacina antigripal (EVA) é importante na aferição do seu valor como medida de mitigação da doença. Contudo, devido às modificações contínuas do vírus influenza é necessária a reformulação da composição da vacina antigripal sazonal todas as épocas e como tal, as estimativas de EVA de anos anteriores não podem ser consideradas em anos subsequentes, sendo necessário verificar a efetividade para cada vacina sazonal.

Desde 2008, o projeto EuroEVA (3), componente portuguesa do estudo europeu multicêntrico I-MOVE (4, 5), tem estimado a efetividade da vacina (EV) sazonal (ou pandémica) em cada época de gripe, através da implementação de um protocolo comum com delineamento caso-controlo.

Na época 2012-2013, o EuroEVA teve como objetivo estimar a EV contra a gripe sazonal, em indivíduos de todas as idades e nos

indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos. Os resultados apresentados correspondem à implementação do estudo na época 2012-2013 e contemplam estimativas da EV na população geral e no grupo alvo da vacinação (doentes crónicos, indivíduos com 65 ou mais anos de idade, grávidas no 2º ou 3º trimestre, profissionais de saúde e cuidadores).

### Materiais e métodos

Foi utilizado um delineamento caso-controlo, onde doentes com síndrome gripal (SG), cujo resultado laboratorial foi positivo para a gripe (SG+) são comparados com controlos, casos SG com resultado laboratorial negativo para gripe (SG-). Os doentes de SG são selecionados de entre aqueles com sinais e sintomas de SG, critério EU (6) numa consulta com um médico de família (MF).

Foram incluídos no estudo todos os SG com 60 ou mais anos, e apenas 2 casos por semana de utentes com menos de 60 anos (cada MF tem um dia da semana para recrutar casos, selecionando no dia estabelecido os 2 primeiros casos que acorram à sua consulta).

A informação relevante incluindo sociodemográfica, características clínicas do SG, estado vacinal e potenciais fatores de confundimento (história tabágica, presença de doenças crónicas, estado funcional, nível educacional, número de consultas de MF nos últimos 12 meses) foi obtida através de um questionário. Foram considerados como vacinados os casos SG que receberam uma dose da vacina trivalente 2012-13, pelo menos 14 dias antes do início dos sintomas. A efetividade da vacina (EV) foi estimada através de  $EV=1-OR$  sendo OR o odds ratio de estar vacinado nos casos vs controlos.

### Resultados

A recolha de casos iniciou-se na semana 46/2012 e terminou na semana 18/2013 (Gráfico 1).

No total foram recolhidos 392 SG. Após exclusão de 25 (Figura 1), foram incluídos na análise 335 SG (152 Casos e 183 Controlos). De entre os Casos, 42,1% eram do tipo B/Yamagata e 52,6% do subtipo A(H1N1)pdm09. No âmbito do EuroEVA foram ainda detetados esporadicamente casos de A(H3) e B/ Victoria.

artigos breves\_ n. 6

Gráfico 1: Distribuição de casos e controlos por semana.

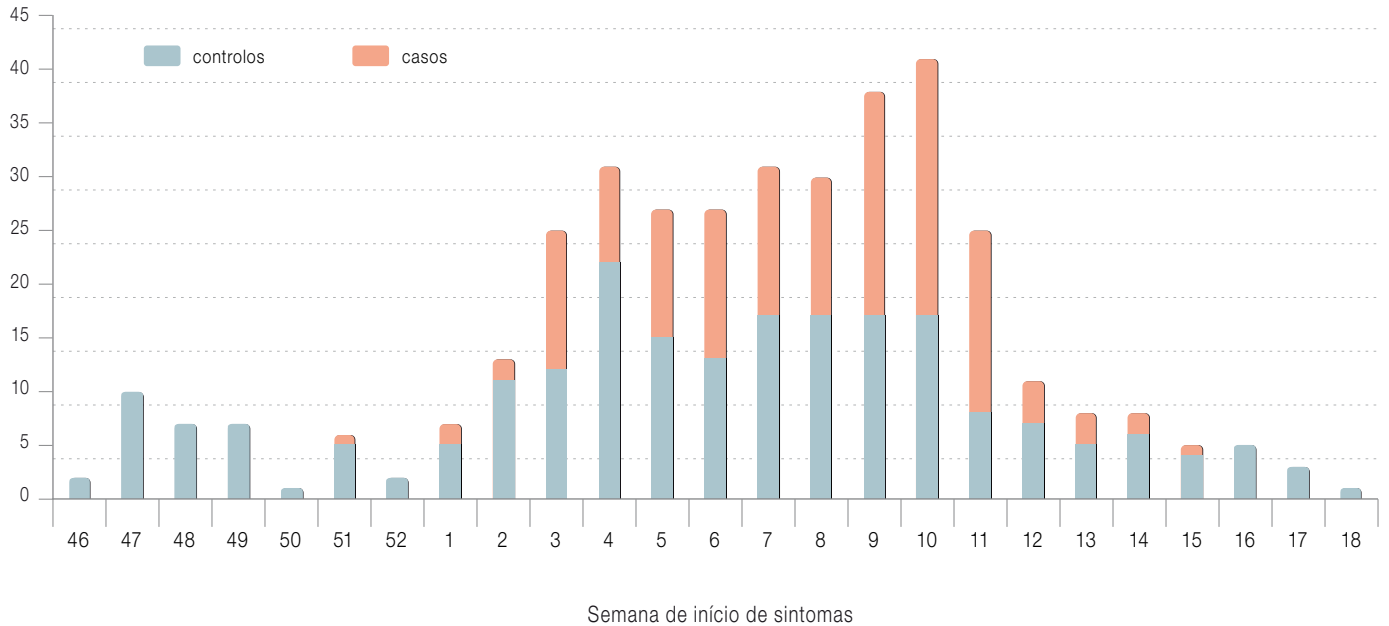
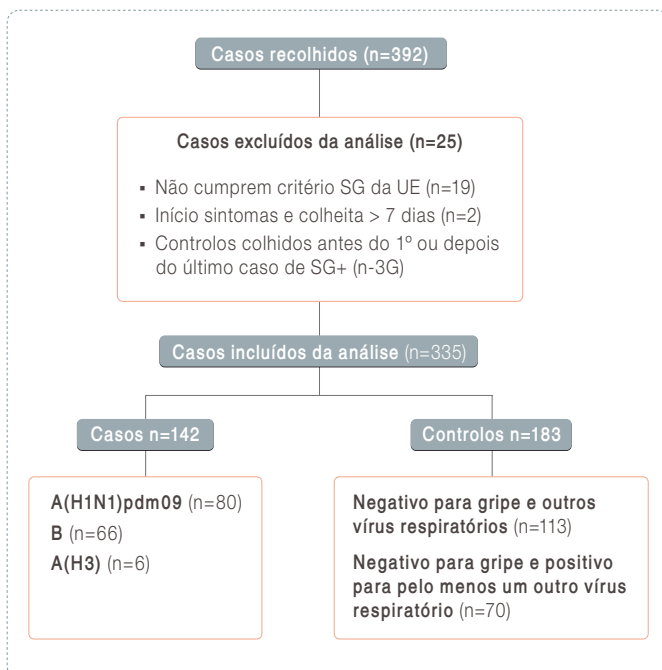


Figura 1: Fluxograma de recrutamento e análise.



A cobertura da vacina (CV) nos controlos foi de 20,8% e estatisticamente diferente da CV nos casos Influenza (5,3%), nos casos do tipo B/Yam (1,6%) e A(H1N1)pdm09 (8,8%). Resultados semelhantes foram obtidos no grupo alvo da vacinação, (CV casos Influenza=13,7%; CV B/Yam = 5,3% e CV A(H1N1)pdm09= 20,0%) (Gráfico 2).

A estimativa ajustada, para efeito de confundimento, da efetividade da vacina (EV) foi de 68,8% na população geral e de 73,2% no grupo alvo da vacinação, ambas com significado estatístico (Tabela 1). Mais especificamente, a EV ajustada contra o vírus do tipo B, linhagem Yamagata, foi muito elevada, tanto na população como no grupo alvo (Tabela 1). Menor efeito protetor foi observado contra o vírus A(H1N1)pdm09 (43% na população geral e 57,4% no grupo alvo da vacina, valores sem significado estatístico).

**\_Conclusão**

As estimativas ajustadas da EV sazonal 2012-13 variaram entre 44%, para o vírus A(H1N1)pdm09 e 93%, para o vírus B, linhagem Yamagata. No grupo alvo da vacina, a EV foi superior para o vírus influenza (tipo A e B) (73%) e para o tipo B linhagem Yamagata (92,9%). Os principais fatores de confundimento foram a idade, número de co-habitantes e doença crónica (fatores de confundimento positivos).



artigos breves\_ n. 6

Gráfico 2: Cobertura da vacina sazonal antigripal nos SG+, na população geral e no grupo alvo da vacinação.

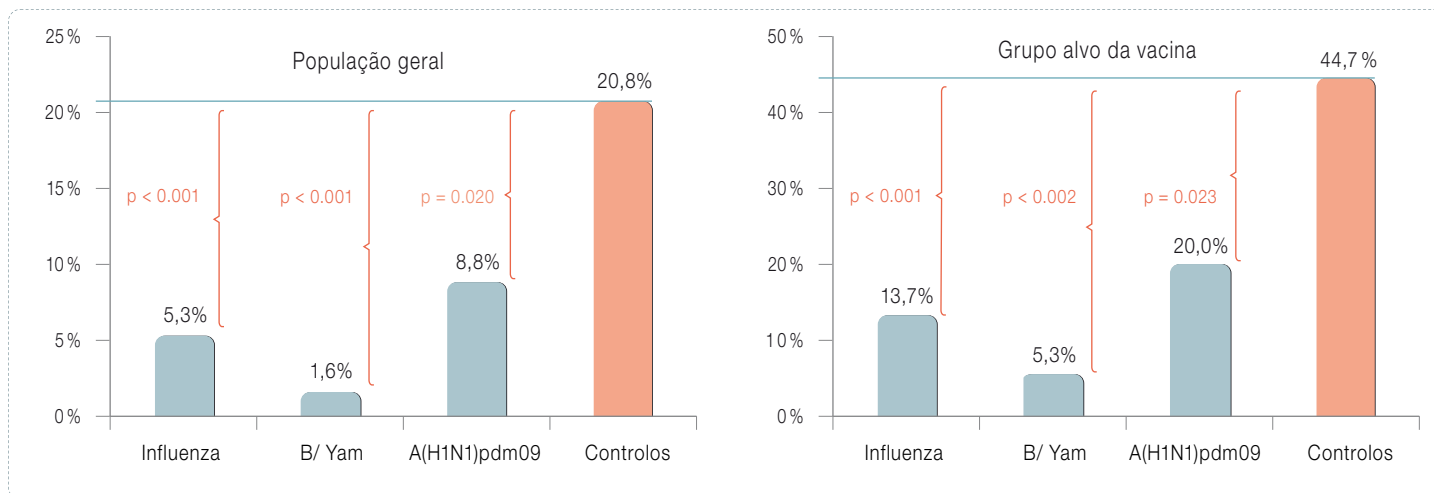


Tabela 1: Efetividade da vacina antigripal sazonal 2012-13 contra casos SG+ (Influenza), casos B/Yamagata e A(H1N1)pdm09 (estimativa bruta e ajustada).

	Bruta		Ajustada*	
	EV	IC95%	EV	IC95%
<b>Todos</b>				
Influenza**	78,8%	(51,6; 91,7)	68,8%	(23,9; 87,2)
B/ Yam	94,1%	(63,2; 99,9)	92,5%	(39,2; 99,1)
A(H1N1)pdm09	62,7%	(9,2; 86,6)	43,7%	(-51,6; 79,1)
<b>Grupo alvo</b>				
Influenza	80,3%	(47,9; 93,3)	73,2%	(24,7; 90,5)
B/ Yam	92,8%	(49; 99,8)	92,9%	(30,6; 99,3)
A(H1N1)pdm09	68,0%	(6; 90,4)	57,4%	(-37,3; 86,8)

\* Foram incluídas as variáveis de confundimento que alteraram o OR bruto em mais de 10% no ajustamento Mantel-Haenszel.

Variáveis de confundimento incluídas: **Influenza**: Grupo etário, doença crónica, nº coabitantes e mês início sintomas; **B/ Yam**: Doença crónica, nº coabitantes, nível de educação, visitas ao MGF e mês início de sintomas; **A(H1N1)pdm09**: Grupo etário, doença crónica, nº coabitantes, nível de educação e mês início sintomas.

\*\* Casos positivos para influenza do tipo A ou tipo B.

Referências bibliográficas:

- (1) Vaccines against influenza WHO position paper - November 2012. Wkly Epidemiol Rec. 2012;87(47):461-76.
- (2) Direção-Geral da Saúde. Vacinação contra a gripe com a vacina trivalente na época 2011/2012 - Alargamento dos grupos de risco para vacinação gratuita. Lisboa: DGS: 2011.
- (3) Nunes B, Machado A, Pechirra P, et al. Efectividade da vacina antigripal na época 2010-2011 em Portugal: resultados do projeto EuroEVA. Rev Port Med Geral Fam. 2012;28(4):271-84.
- (4) I-MOVE. Influenza - Monitoring Vaccine Effectiveness [Em linha]. [LINK](#)
- (5) Valenciano M, Ciancio B. I-MOVE: a European network to measure the effectiveness of influenza vaccines. Euro Surveill. 2012;17(39). pii: 20281.
- (6) European Centre for Disease Prevention and Control. Influenza case definitions. Estocolmo: ECDC, 2010. [LINK](#)



## Exposição profissional a sevoflurano em ambiente hospitalar

Ana Nogueira<sup>1</sup>, Aida Pais<sup>1</sup>, Anabela Oliveira<sup>2</sup>,  
Hermínia Pinhal<sup>2</sup>

ana.nogueira@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório de Saúde Ocupacional. Departamento de Saúde Ambiental, INSA.

(2) Laboratório de Toxicologia Ambiental e Ocupacional. Departamento de Saúde Ambiental, INSA.

### Introdução

Os agentes anestésicos inalatórios são substâncias voláteis empregues em procedimentos cirúrgicos, quer em seres humanos, quer em animais, com o objetivo de aumentar o limiar de sensibilidade à dor e eliminar o estado de vigília (1).

A primeira cirurgia com recurso a um anestésico inalatório teve lugar em 1842, nos Estados Unidos da América, com a utilização de éter dietílico (2).

O primeiro anestésico inalatório halogenado, fluoreno, foi introduzido em 1954. Seguiram-se os halotano (1956), enflurano (1974), isoflurano (1980), desflurano (1988) e, por último, em 1990, o sevoflurano (2). Utilizado pela primeira vez no Japão, este anestésico é considerado dos mais próximos do “anestésico ideal”, sendo bem-sucedido por ter odor agradável e não ser irritante para as vias respiratórias, o que facilita a indução, mesmo em crianças, ter baixo coeficiente de solubilidade no sangue, facilitando a indução anestésica e a manutenção do efeito e ainda, por ter reduzidos efeitos hemodinâmicos e não ser nefrotóxico.

Em meio hospitalar os profissionais mais expostos são os Anestestistas e os Médicos que realizam intervenções cirúrgicas, os Enfermeiros dos Blocos Operatórios e de Partos, assim como o pessoal auxiliar. A exposição ocorre essencialmente nas salas de cirurgia e de parto e nas salas de recobro. Nas primeiras devido a falhas nos sistemas de anestesia e nos procedimentos de anestesia, nas segundas devido a deficientes ou inexistentes sistemas de ventilação mecânica (2,3).

A via inalatória é a mais relevante para exposição profissional a sevoflurano, pelo que, para o controlo da exposição é recomendada a determinação da concentração ambiental.

Em 1977 o NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) recomendou como valor limite de exposição horária aos anestésicos halogenados fluoreno, metoxiflurano, halotano e enflurano, em utilização à época, o valor de 2 ppm (4).

A introdução do sevoflurano na prática cirúrgica levou à realização de vários estudos relativos à sua toxicidade, concretamente, aos efeitos na saúde decorrentes da exposição profissional. À exposição aguda a este anestésico estão associadas vertigens, náuseas, sonolência e confusão. Associados à exposição crónica estão descritos efeitos sobre o sistema nervoso central, perturbações de perceção, cognitivas e motoras, não tendo sido encontradas evidências de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade ou efeitos sobre a reprodução (3).

Porém, até à data, os efeitos na saúde decorrentes da exposição a sevoflurano não são consensuais, sendo necessários mais estudos, pelo que não está definido um valor limite de exposição específico. Por esta razão, e apesar de outros organismos não subscreverem esta recomendação, o NIOSH mantém a referência de 2 ppm na avaliação da exposição ambiental a qualquer anestésico halogenado.

O presente estudo tem como objetivo caracterizar a exposição profissional a sevoflurano nos hospitais portugueses no decurso dos últimos 10 anos.

### Materiais e métodos

Entre 2003 e 2013 a Unidade do Ar e Saúde Ocupacional do INSA efetuou determinações da concentração ambiental de sevoflurano em 17 hospitais, tendo em vista a avaliação da exposição profissional a este anestésico.

Na determinação da concentração ambiental seguiram-se procedimentos baseados no método MTA/MA-046/A00 – Determinación de gases anestésicos (desflurano, sevoflurano, isoflurano, halotano) en aire (5).



artigos breves\_ n. 7

Realizaram-se amostragens de ar, com duração de uma hora, em tubos contendo carvão ativo, recorrendo a bombas de amostragem pessoal colocadas nas proximidades dos profissionais expostos. Em laboratório as amostras foram desadsorvidas com tolueno e analisadas por cromatografia gasosa.

A acompanhar as amostragens de ar recolheram-se dados relativos ao tipo de cirurgia em curso, existência de ventilação mecânica, existência de sistemas de captação de ar expirado pelos doentes e condições de funcionamento dos mesmos, e outros considerados relevantes para a caracterização dos locais/ atividades em avaliação.

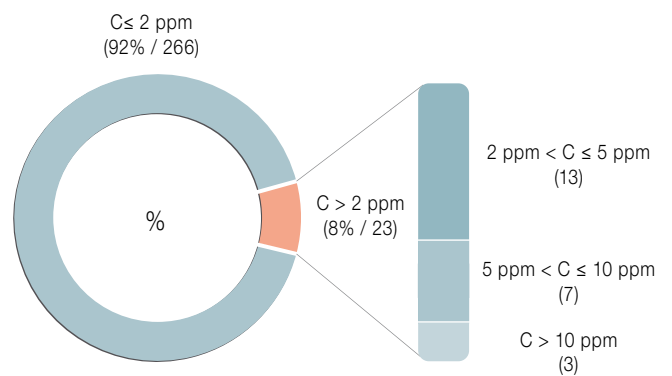
Os resultados das determinações realizadas, bem como as condições em que foram efetuadas as amostragens, foram analisados por forma a obter uma caracterização da exposição a sevoflurano nos hospitais portugueses.

**\_Resultados**

Entre 2003 e 2013 estudaram-se cinquenta e nove salas de cirurgia, todas com ventilação mecânica e sistema de captação de gases expirados pelos doentes, doze salas de recobro, duas das quais sem ventilação mecânica, e três salas de apoio à cirurgia, com ventilação mecânica, mas sem extração localizada para manipulação de produtos voláteis.

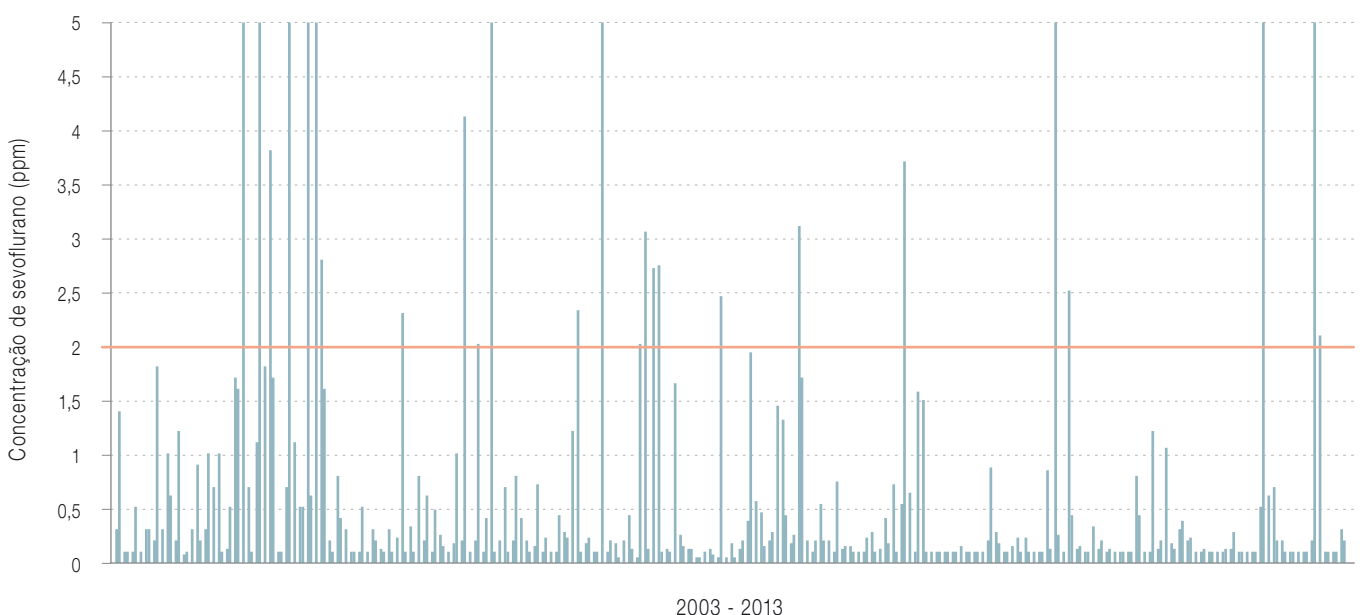
Realizaram-se um total de 289 avaliações, distribuídas por cirurgias a adultos (222), cirurgias a crianças (17), recobro (44) e atividades de apoio à cirurgia (6). Verifica-se que em 92 % das avaliações a concentração determinada não excedeu o valor limite de exposição horária recomendado de 2 ppm (*Gráfico 1*).

**Gráfico 1:** Resultados da avaliação da concentração de sevoflurano no ar.



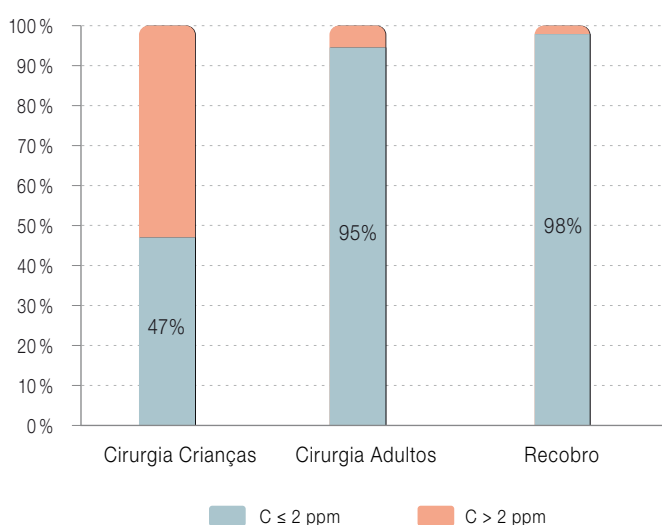
Observada a distribuição temporal dos resultados, verifica-se que a ocorrência de concentrações superiores ao valor recomendado se mantém (*Gráfico 2*).

**Gráfico 2:** Resultados da avaliação da concentração de sevoflurano no ar entre 2003 e 2013.



A análise de resultados por tipo de atividade revela que nas intervenções cirúrgicas em crianças a concentração de sevoflurano nas proximidades do anestesista excedeu 2 ppm em 53% das avaliações. Nas intervenções cirúrgicas em adultos e nas salas de recobro esta percentagem desce consideravelmente, para 5% e 2%, respetivamente (Gráfico 3).

Gráfico 3: Resultados da avaliação da concentração de sevoflurano no ar por tipo de atividade.



Nas intervenções em adultos a ultrapassagem do valor recomendado esteve, em regra, associada a falhas no sistema de anestesia – fugas nas tubagens de admissão do gás ou nas tubagens de aspiração de gases expirados. Nas intervenções em crianças não se verifica esta associação, observando-se, mais comumente, a falta de ajuste entre a máscara de anestesia e a face da criança.

### Discussão e conclusões

De acordo com os resultados obtidos, ao longo dos últimos dez anos a concentração ambiental de sevoflurano medida nas proximidades de Anestesistas e Enfermeiros envolvidos em intervenções cirúrgicas ou no apoio a doentes pós-cirurgia em hospitais nacionais esteve na generalidade (92%) abaixo do valor recomendado de 2 ppm.

A instalação e adequada manutenção de equipamento de anestesia com sistema de captação de gases expirados pelos doentes, bem como de sistemas de ventilação mecânica (insuflação e extração) quer nas salas de cirurgia, quer nas salas de recobro, contribuiu

decisivamente para esta realidade. De facto, ao analisar os dados recolhidos na caracterização dos locais estudados, verifica-se que nas cirurgias em adultos é a falha no funcionamento destes sistemas que conduz a concentrações ambientais acima do recomendado.

No que respeita às cirurgias em crianças os resultados apontam para uma realidade distinta. Apesar do seu reduzido impacto na percentagem global de incumprimento, devido ao número reduzido de situações avaliadas, em mais de 50% as concentrações ambientais de sevoflurano excederam o valor recomendado, sem que para tal tenham contribuído falhas nos sistemas de ventilação e/ou no equipamento de anestesia. Nestas intervenções cirúrgicas a prática do Anestesista durante a indução é alterada de modo a tranquilizar as crianças, observando-se, não raras vezes, o ajuste da máscara de anestesia apenas após o adormecimento. Além disso, o facto de ser utilizada máscara, não recorrendo ao entubamento, conduz a uma maior libertação do anestésico para o ambiente, já que o ajuste à face não é perfeito.

Identificada a cirurgia em crianças como a situação mais crítica do ponto de vista da exposição profissional a sevoflurano, será recomendável a monitorização da concentração ambiental nestas circunstâncias.

### Referências bibliográficas:

- (1) Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Comisión de Salud Pública. Protocolos de Vigilancia Sanitaria Específica – Agentes Anestésicos Inhalatorios. Diciembre 2001. Mérida: Junta de Extremadura, 2002. [LINK](#)
- (2) Occupational Safety & Health Administration. Directorate of Technical Support and Emergency Management. Anesthetic Gases: Guidelines for Workplace Exposures. July 20, 1999. Revised May 18, 2000 [Em linha]. [LINK](#)
- (3) Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. National Institute for Occupational Safety and Health. Waste Anesthetic Gases – Occupational Hazards in Hospitals. Atlanta, GA: NIOSH, 2007. [LINK](#)
- (4) Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. National Institute for Occupational Safety and Health. Criteria for a recommended standard: occupational exposure to waste anesthetic gases and vapors. Atlanta, GA: NIOSH, 1977. [LINK](#)
- (5) Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Determinación de gases anestésicos (desflurano, sevoflurano, isoflurano, halotano) en aire - Método de adsorción en carbón/ Cromatografía de gases. MTA/MA-046/A00. Madrid: INSHT, 2008. [LINK](#)



## Taxas de incidência de primeiros episódios de depressão nos cuidados de saúde primários em 2004 e 2012: dados da Rede Médicos-Sentinela

Ana Paula Rodrigues, Mafalda de Sousa Uva, Baltazar Nunes, Sara Marques, Liliana Antunes, Carlos Matias Dias

ana.rodrigues@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, INSA.

### Introdução

A Organização Mundial de Saúde considera a depressão a principal causa de incapacidade, com elevado peso na carga global de doença (1).

Os determinantes sociais, económicos e ambientais desde há alguns anos são reconhecidos como determinantes da saúde mental, e existe evidência que as alterações socioeconómicas vivenciadas na última década, consequentes da crise económica e social, estão associadas ao aumento do risco de diversos problemas de saúde mental (2,3).

O presente estudo visa comparar as taxas de incidência anuais de depressão estimadas em 2004 e 2012 com base nos dados obtidos pela Rede Médicos-Sentinela.

### Metodologia

A Rede Médicos-Sentinela é um instrumento de observação em saúde, de participação voluntária, constituído por especialistas em medicina geral e familiar que exercem funções nos centros de saúde de Portugal.

Em 2004 e 2012 foram notificadas, de acordo com o melhor julgamento clínico, todas as consultas relacionadas com depressão realizadas pelos médicos participantes na rede, diferenciando-se as consultas de diagnóstico (primeiro episódio na vida do utente ou recidiva) das consultas de seguimento.

No presente estudo, estimou-se o número de consultas relacionadas com os primeiros episódios de depressão (por  $10^5$  utentes) e procedeu-se ao cálculo das taxas de incidência anual de depressão, estratificadas por sexo e grupo etário. Para comparação dessas estimativas foi calculada a razão de taxas e respetivo intervalo de confiança a 95%, usando como referência o ano de 2004.

### Resultados

No sexo feminino, a taxa de incidência de depressão em 2004 foi de 881,7 por  $10^5$  e em 2012 de 991,9 por  $10^5$ . Nos mesmo anos, a taxa de incidência de depressão no sexo masculino, foi de 289,6 por  $10^5$  e 347,2 por  $10^5$ .

Considerando apenas os casos ocorridos em utentes com idade superior ou igual a 15 anos (o número de casos antes desta idade foi muito reduzido) não foi evidente uma variação das taxas de incidência anuais de depressão [RT no sexo feminino foi de 1,2 ( $p=0,3$ ); RT no sexo masculino foi de 1,1 ( $p=0,3$ )]. No entanto, ao proceder à estratificação das taxas de incidência por sexo e grupo etário, evidenciaram-se variações significativas em grupos etários específicos. Nomeadamente, no sexo feminino observou-se uma diminuição da taxa de incidência anual de depressão entre os 15 e os 24 anos de idade [RT: 0,5 (0,2-0,9)] e aumento entre os 45 e os 54 anos de idade [RT: 1,8 (1,2-2,6)] e após os 75 anos [RT: 1,9 (1,0-3,6)] (Gráfico 1). No sexo masculino, observou-se um aumento apenas no grupo etário dos 55 aos 64 anos de idade [RT: 3,1 (1,4-6,6)] (Gráfico 2).

### Discussão

As taxas de incidência de depressão observadas em 2004 e 2012 foram superiores no sexo feminino, o que se encontra descrito na literatura (4).

Os resultados obtidos sugerem um aumento da taxa de incidência de primeiros episódios de depressão nas mulheres após os 45 anos e, um aumento mais assinalado nos homens no grupo etário do 55 aos 64 anos. O aumento da frequência de depressão entre 2006 e 2010 foi também observado em Espanha (5), existindo evidência que em contexto de crise os homens estão em maior risco de desenvolver doenças mentais (6).

artigos breves\_ n. 8

Gráfico 1: ↓ Estimativas das taxas de incidência anuais de primeiros episódios de depressão no sexo feminino na rede Médicos-Sentinela em 2004 e 2012, desagregadas por grupo etário.

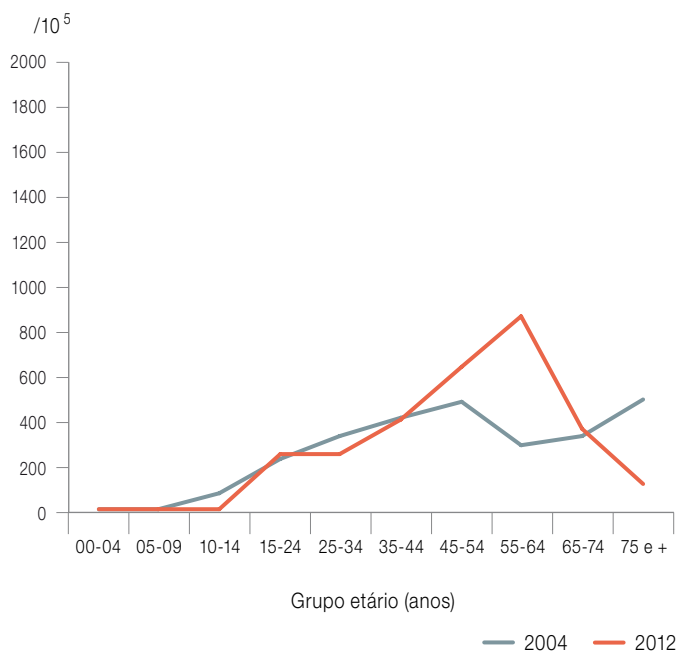
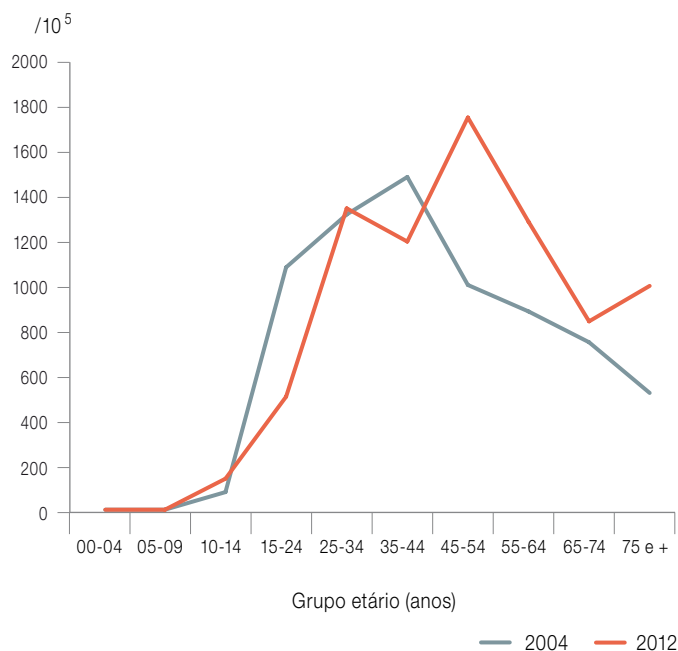


Gráfico 2: ↓ Estimativas das taxas de incidência anuais de primeiros episódios de depressão no sexo masculino na rede Médicos-Sentinela em 2004 e 2012, desagregadas por grupo etário.



A redução da população sob observação da rede Médico-Sentinela ocorrida entre 2004 e 2012, pode ter condicionado um viés de seleção uma vez que, os médicos que mantiveram a sua participação na rede, poderão ter sido aqueles com uma participação mais ativa nesta. Ao mesmo tempo, a definição de caso de primeiro episódio de depressão neste estudo é lata e assente em critérios exclusivamente clínicos, pelo que a seleção dos casos poderá ter sido influenciada por eventuais alterações no padrão de diagnóstico de depressão que possam ter ocorrido neste intervalo de tempo.

### Conclusões

Apesar das limitações referidas, verifica-se uma coincidência temporal entre o aumento da taxa de incidência anual estimada de primeiros episódios de depressão nos cuidados de saúde primários e o agravamento das condições sociais e económicas em Portugal. Tal sugere a necessidade de monitorização da evolução da depressão e estudo dos seus determinantes em Portugal.

### Agradecimentos

Agradece-se a todos os Médicos-Sentinela pela recolha sistemática dos dados.

#### Referências bibliográficas:

- (1) WHO Regional Office for Europe. Impact of economic crises on mental health. Copenhagen: WHO, 2011. [LINK](#)
- (2) Ifanti AA, Argyriou AA, Kalofonou FH, et al. Financial crisis and austerity measures in Greece: their impact on health promotion policies and public health care. Health Policy. 2013;113(1-2):8-12.
- (3) Quaglio G, Karapiperis T, Van Woensel L, et al. Austerity and health in Europe. Health Policy. 2013;113(1-2):13-9.
- (4) Baxter AJ, Scott KM, Ferrari AJ, et al. Challenging the Myth of an "epidemic" of common mental disorders: trends in the global prevalence of anxiety and depression between 1990 and 2010. *Depress Anxiety*. 2014 jan 21. doi: 10.1002/da.22230. [Epub ahead of print]
- (5) Gili M, Roca M, Basu S, et al. The mental health risks of economic crisis in Spain: evidence from primary care centres, 2006 and 2010. *Eur J Public Health*. 2013;23(1):103-8. [LINK](#)
- (6) Artazcoz L, Benach J, Borrell C, et al. Unemployment and mental health: understanding the Interactions Among Gender, Family Roles, and Social Class. *Am J Public Health*. 2004;94(1):82-8. [LINK](#)





## Incidência da deficiência da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia média (MCAD) em Portugal

Paulo Pinho e Costa, Laura Vilarinho

paulo.costa@insa.min-saude.pt

Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética. Departamento de Genética Humana, INSA.

A deficiência da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia média (medium-chain acyl-CoA dehydrogenase – MCAD; EC 1.3.8.7; gene: ACADM; deficiência: MCADD, OMIM #201450) é a causa mais comum de doença da beta-oxidação mitocondrial dos ácidos gordos. Manifesta-se, tipicamente, nos primeiros anos de vida, por crises de descompensação metabólica que podem deixar sequelas neurológicas ou ser mesmo fatais. Tendo em conta as características clínicas da doença e a existência de medidas preventivas de eficácia comprovada, tem sido uma das primeiras doenças incorporadas em programas de rastreio neonatal, com bons resultados (1).

A incidência de MCADD é mais elevada nas populações caucasianas, situando-se os valores reportados, em regra, no intervalo 1:10,000 - 1:20,000 (caso por nados vivos). A incidência em Portugal é ligeiramente superior (1:8,804), com a particularidade de, entre nós, 3 em cada 4 doentes ser de etnia cigana (2), como de resto parece ser o caso noutros países do sul da Europa. Curiosamente, a mutação identificada na grande maioria dos nossos doentes é a transição c.985A>G (G985) que é também responsável pela maioria dos casos a norte da Europa, tendo sido identificado um haplótipo fundador presumivelmente originário do Cáucaso (3).

A que se deve a elevada incidência de MCADD em Portugal? Para enquadrar a questão, fizemos um levantamento da variação regional da incidência de MCADD, e tentamos equacionar a relação da incidência com a dispersão geográfica da etnia Cigana. Foi efetuado um estudo retrospectivo, referente aos casos de MCADD identificados

no rastreio neonatal do Programa Nacional de Diagnóstico Precoce ou em Centro de Tratamento no período 2004-2013. A distribuição geográfica teve como base a morada da mãe constante da ficha de colheita ou do processo clínico. Os restantes dados demográficos foram retirados do website do Instituto Nacional de Estatística.

Foram identificados 95 casos desde que foi dado início ao programa de rastreio neonatal da MCADD. A distribuição geográfica por distrito está representada na **Figura 1**. É notória a assimetria da distribuição regional, que se acentua quando são tidas em conta as diferenças de natalidade. A incidência de MCADD por região NUT II revela, com efeito, grandes disparidades, sendo a incidência na região Norte de 1:17,000, um valor praticamente idêntico ao da vizinha Galiza (4), e de 1:2,070 no Alentejo, ou seja, uma incidência mais de 8 vezes superior (**Tabela 1**).

Figura 1: Distribuição por distrito dos casos de MCADD identificados entre 2004 e 2013.

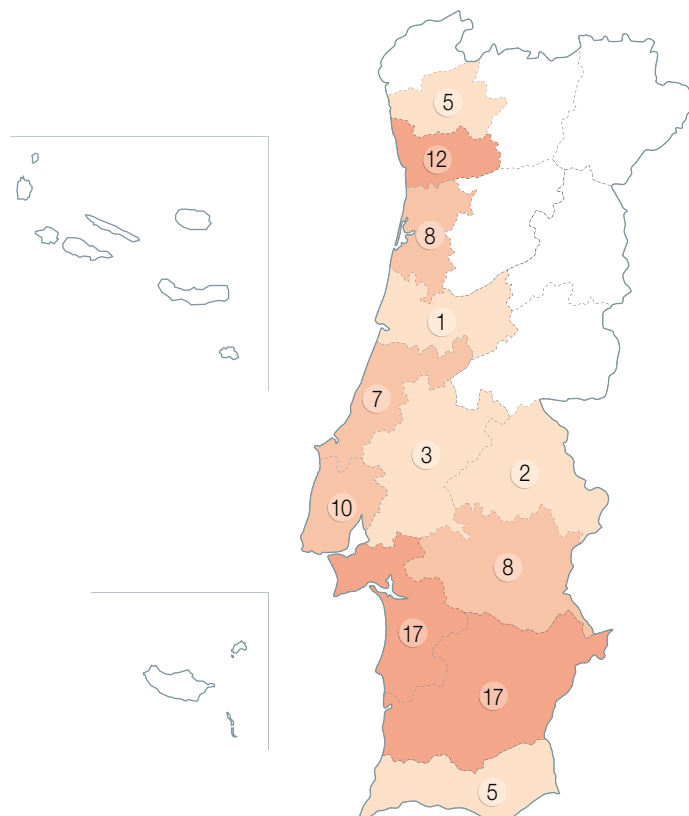




Tabela 1: ↓ Incidência de MCADD em nados vivos entre 2004 e 2013.

Região NUT II	MCADD	Incidência	Nados vivos de etnia cigana (estimativa)
Norte	18	1 : 17,000	3260
Centro	17	1 : 10,475	2165
Lisboa	27	1 : 10,560	6348
Alentejo	28	1 : 2,070	1740
Algarve	5	1 : 8,550	807

Não existem dados estatísticos fiáveis sobre a comunidade cigana em Portugal (5). Os elementos habitualmente reportados têm origem no Ministério da Educação, e referem-se ao número de inscritos em cada grau de ensino, por região NUT II. Os dados mais recentes são do ano escolar 2003/2004. Como é óbvio, não existe uma correspondência direta entre os números de estudantes inscritos no primeiro ciclo do ensino básico, e a natalidade nos anos posteriores. No entanto, a razão entre estes dois números situa-se numa banda relativamente estreita (1,6-2,3) para as diferentes regiões, pelo que, de uma forma heurística, a utilizamos para estimar o número de nados vivos de etnia cigana em 2004-2013, por região NUT II (Tabela 1). A distribuição encontrada é semelhante à da população nacional, ou seja, é aparente o peso dos grandes centros urbanos, grande Lisboa e litoral Norte, não existindo uma concentração populacional correspondente ao foco da doença no Alentejo. É provável, consequentemente, que a elevada incidência de MCADD na etnia cigana em Portugal não reflita uma dispersão uniforme do respetivo gene por todo o grupo populacional, resultando outrossim de um efeito fundador, afetando essencialmente algumas famílias.

Têm sido defendidos e implementados programas de rastreio e prevenção de doenças genéticas direcionados para grupos populacionais ou etnias particulares, por exemplo o programa Cipriota de erradicação da talassemia (6), ou de controlo de múltiplas doenças genéticas na comunidade judaica ultra-ortodoxa (7), ações de “genética comunitária” não isentas de controvérsia (8). Seria um programa dessa natureza dirigido à etnia cigana justificável no plano meramente técnico, para lá de outras considerações? Os

dados encontrados, apesar das fragilidades apontadas, sugerem que não. Esperaríamos uma maior eficácia, no sentido de melhor custo/benefício, de ações de sensibilização dirigidas às famílias afetadas, no âmbito de um aconselhamento genético “tradicional”, tanto mais estando a MCADD já integrada no nosso Programa Nacional de Diagnóstico Precoce.

#### Referências bibliográficas:

- (1) Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a global perspective. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(2-3):370-7.
- (2) Ventura F, Leandro P, Luz A, et al. Retrospective study of the medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Portugal. *Clin Genet.* 2013 jul 6. doi: 10.1111/cge.12227. [Epub ahead of print]
- (3) Tanaka K, Gregersen N, Ribes A, et al. A survey of the newborn populations in Belgium, Germany, Poland, Czech Republic, Hungary, Bulgaria, Spain, Turkey, and Japan for the G985 variant allele with haplotype analysis at the medium chain Acyl-CoA dehydrogenase gene locus: clinical and evolutionary consideration. *Pediatr Res.* 1997;41(2):201-9.
- (4) Couce ML, Sánchez-Pintos P, Diogo L, et al. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: regional experience and high incidence of carnitine deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:102.
- (5) Assembleia da República. Comissão de Ética, Sociedade e Cultura - Subcomissão de igualdade de Oportunidades e Família. Relatório das audições efetuadas sobre Portugueses Ciganos no âmbito do Ano Europeu para o Diálogo Intercultural Relatório Parlamentar sobre a Etnia Cigana. Lisboa, 2009. [LINK](#)
- (6) Angastiniotis MA, Kyriakidou S, Hadjiminis M. How thalassaemia was controlled in Cyprus. *World Health Forum.* 1986;7:291-7.
- (7) Bach G, Zeigler M, Zlotogora J. Prevention of lysosomal storage disorders in Israel. *Mol Genet Metab.* 2007;90(4):353-7.
- (8) Raz AE, Vizner Y. Carrier matching and collective socialization in community genetics: Dor Yeshorim and the reinforcement of stigma. *Soc Sci Med.* 2008;67(9):1361-9.



## Estudo português de hipercolesterolemia familiar: 15 anos

Ana Catarina Alves, Ana Margarida Medeiros, Mafalda Bourbon, em nome dos investigadores do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar

mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, INSA.

### Introdução

A hipercolesterolemia familiar (FH) é uma das patologias monogénicas mais comuns associada ao aumento do risco cardiovascular, tendo sido a primeira patologia genética do metabolismo lipídico a ser caracterizada molecularmente (1). A FH tem uma frequência de 1/500 na maioria das populações europeias (1, 2). Em Portugal estima-se que existam cerca de 20.000 casos de FH.

A FH é caracterizada clinicamente por um aumento dos níveis de colesterol no plasma, conduzindo à sua acumulação principalmente nos tendões (xantomas tendinosos) e nas artérias (ateromas) (3). Devido à acumulação de lípidos nas artérias estes indivíduos desenvolvem aterosclerose muito cedo, tendo eventos cardiovasculares prematuramente (3). Geneticamente esta patologia caracteriza-se por mutações em três genes: gene do recetor das lipoproteínas de baixa densidade (LDLR), gene da apolipoproteína B (APOB) e gene da pró-proteína convertase subtilisina/ kexina tipo 9 (PCSK9). Embora seja possível identificar os doentes com FH clinicamente o diagnóstico correto só pode ser obtido através do estudo molecular (4, 5). Sabe-se que a identificação precoce da FH leva à implementação atempada de aconselhamento e tratamento adequado, minimizando o risco de eventos cardiovasculares, podendo mesmo levar à regressão da placa aterosclerótica (6). O diagnóstico molecular da FH permite a correta identificação da patologia e fundamenta a instituição de terapêutica farmacológica mais agressiva e/ou precoce, com a consequente redução do risco cardiovascular nos indivíduos afetados.

### Objetivos

O Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar (EPHF) tem como objetivo principal a realização de um estudo epidemiológico para a determinação da prevalência e distribuição da Hipercolesterolemia Familiar em Portugal, tendo implementado o estudo molecular desta patologia; pretende também contribuir para a melhor compreensão da fisiopatologia da doença cardiovascular nestes indivíduos, com o intuito de melhorar o seu prognóstico (7).

### Material e métodos

Em 1999, quando o EPHF deu os seus primeiros passos, muito pouco ou nada se sabia sobre a Hipercolesterolemia Familiar em Portugal. Desde então o EPHF recebeu para a realização do estudo molecular da FH, 702 casos índice e mais de 1000 familiares, recrutados por 64 médicos de Portugal continental e ilhas (Figura 1).

O estudo molecular é realizado em 3 fases. Fase I: Identificação de mutações no gene LDLR e em 2 fragmentos contendo parte dos exões 26 e 29 do gene APOB. Fase II: Pesquisa de grandes rearranjos no gene LDLR por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Fase III: Pesquisa de mutações no gene PCSK9. A pesquisa de mutações nestes genes é realizada através das metodologias de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) e sequenciação automática das regiões amplificadas.

### Resultados

O estudo molecular identificou até à data 253 famílias com FH representando um total de 640 indivíduos com FH, que se encontram de momento a receber aconselhamento e tratamento de acordo com a sua condição (8).

No EPHF foram identificadas 133 alterações diferentes nos três genes associados à FH, encontrando-se as 10 mutações mais comuns representadas no Gráfico 1. Em 47% dos casos estudados foi encontrada uma destas 10 mutações e 25% dos doentes estudados apresentam uma mutação única. Esta grande heterogeneidade de mutações dificulta o teste molecular mas este já é possível e as novas tecnologias de sequenciação irão facilitar a sua implementação em larga escala.

Figura 1: Mapa de Portugal com a localização geográfica dos diferentes centros colaboradores do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar (atualizado em 2012).

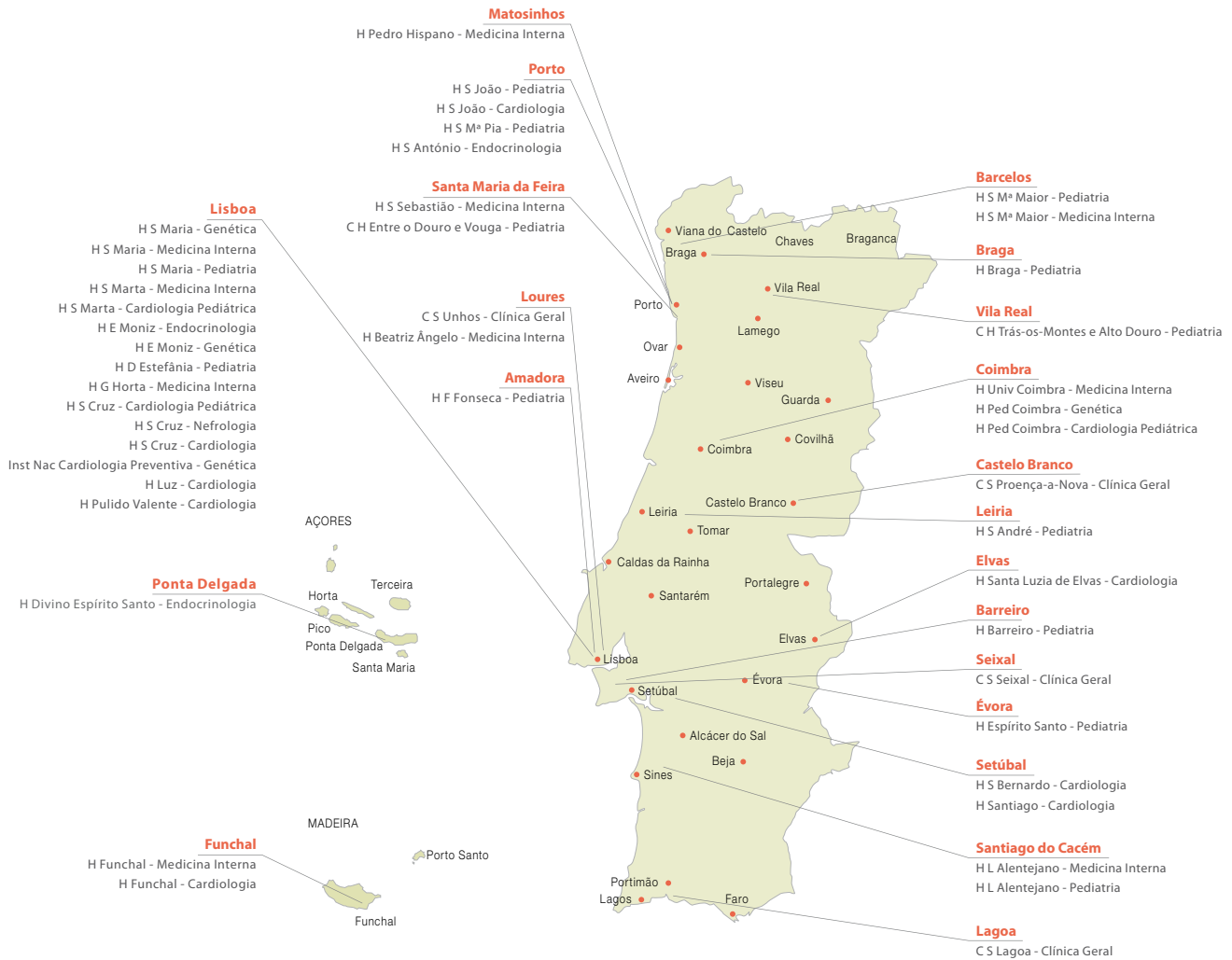


Gráfico 1: Mutações mais comuns na população portuguesa associadas à FH.

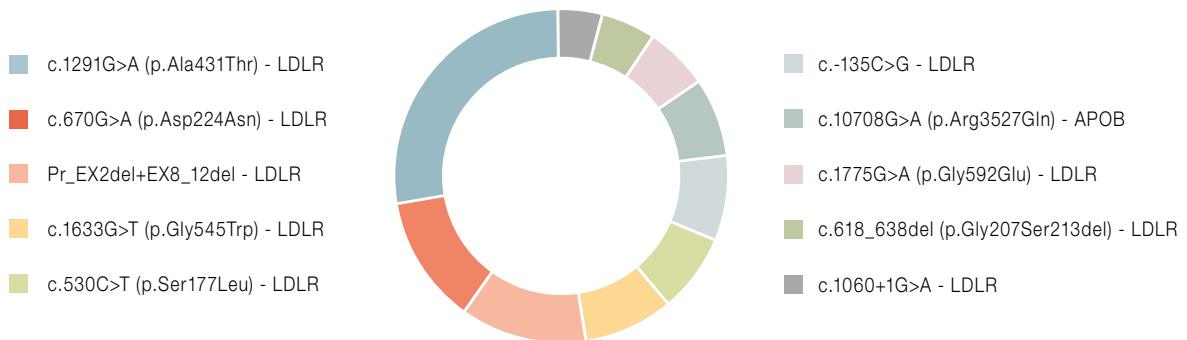
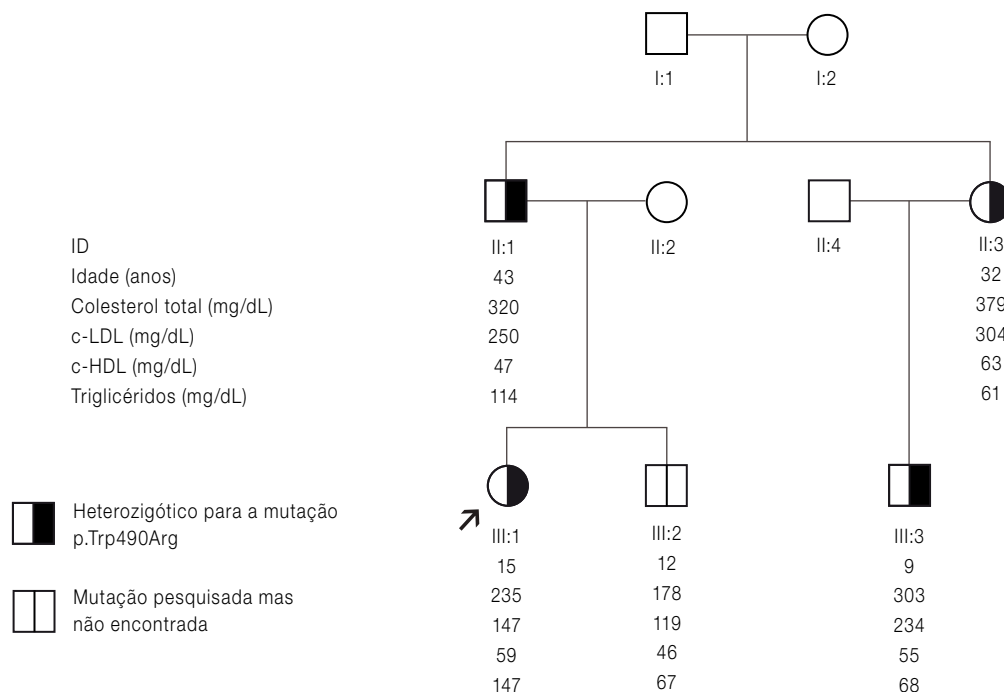


Figura 2: ↓ Árvore genológica de uma família com uma mutação no gene LDLR.



Os **círculos** representam indivíduos do sexo feminino e os **quadrados** do sexo masculino. A **seta** indica o caso index. A idade em anos, os valores de colesterol total, c-LDL, c-HDL e triglicéridos em mg/dL estão apresentados **por baixo dos símbolos**.

Na **Figura 2** ilustra-se uma família onde foi identificada a mutação p.Trp490Arg. Esta mutação foi caracterizada funcionalmente o que revelou que, em indivíduos com esta alteração, os recetores das LDL têm só 5% de atividade, sendo desta forma esta mutação a causa da hipercolesterolemia apresentada por esta família.

### \_Conclusões

Apesar de todos os esforços desenvolvidos nos últimos 15 anos, o EPHF só conseguiu identificar até à data 3,2% dos 20.000 portugueses que se calcula terem Hipercolesterolemia Familiar encontrando-se esta sub-diagnosticada no nosso País, existindo ainda um longo percurso a percorrer.

O diagnóstico correto da FH é possível e existe tratamento eficaz, reduzindo desta forma o risco cardiovascular destes indivíduos. Identificar e tratar precocemente estas pessoas representa salvar vidas. É necessário o envolvimento de todos os profissionais de saúde para a deteção precoce destes indivíduos para podermos contribuir para a redução da mortalidade por doença cardiovascular no nosso País.

### Referências bibliográficas:

- (1) Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232(4746):34-47.
- (2) Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013;34(45):3478-90a. [LINK](#)
- (3) Marks D, Thorogood M, Neil HA, et al. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 2003;168(1):1-14. Review.
- (4) Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4(4):214-25. Review.
- (5) Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(4):431-8.
- (6) Bourbon M, Rato Q; Investigadores do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar. *Rev Port Cardiol*. 2006;25(11):999-1013. [LINK](#)
- (7) National Collaborating Centre for Primary Care. Identification and Management of Familial Hypercholesterolaemia (FH). London: National Institute for Health and Clinical Excellence, 2008. (NICE Clinical Guidelines, 71). [LINK](#)
- (8) European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, et al.; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*. 2011 Jul;32(14):1769-818. [LINK](#)



## ficha técnica

**\_Título:** Boletim Epidemiológico Observações

**\_Periodicidade:** Trimestral

**\_ISSN:** 2182-8873 (em linha)

**\_ISSN:** 0874-2928

**\_Numeração:** 2ª série

Volume 3, número 7

Janeiro-março 2014

**\_Diretor**

José Pereira Miguel, Presidente do INSA

**\_Editores**

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

**\_Conselho Editorial Científico**

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Manuela Cano, Departamento de Saúde Ambiental

Jorge Machado, Departamento de Doenças Infecciosas

Manuela Caniça, Conselho Científico do INSA

Peter Jordan, Departamento de Genética Humana

Silvia Viegas, Departamento de Alimentação e Nutrição

Natércia Miranda, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis

Layout - Nuno Almodovar Design, Lda | Composição e paginação - Francisco Tellechea

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2014.

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

Isento de Registo na ERC ao abrigo do Decreto-Regulamento 8/99 de 9 de junho artº 12º nº1 a).

**Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge**  
Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

Tel.: (+351) 217 519 200

Fax: (+351) 217 529 400

E-mail: info@insa.min-saude.pt

www.insa.pt