

Rastreio neonatal da drepanocitose em Portugal: resultados do estudo-piloto em 100.000 RN

Neonatal screening for sickle cell disease in Portugal: results of a pilot study in 100,000 newborns

Diogo Rodrigues, Ana Marcão, Lurdes Lopes, Laura Vilarinho

laura.vilarinho@insa.min-saude.pt

Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal

_Resumo

O Programa Nacional do Rastreio Neonatal é um programa de saúde pública que realiza testes de rastreio neonatal de doenças raras em todos os recém-nascidos em Portugal.

No âmbito deste programa nacional, e por se tratar de uma doença cada vez mais disseminada à escala global, em 2021, iniciou-se o estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose (anemia de células falciformes). Numa primeira fase foram rastreados apenas os recém-nascidos dos distritos de Lisboa e Setúbal, por se tratar da região do país que ao longo das últimas décadas esteve mais sujeita ao fluxo migratório proveniente de zonas de alto risco para esta patologia, nomeadamente da África subsaariana. Em 2022, o estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose foi alargado a todos os recém-nascidos em Portugal, já que no restante território nacional se tem vindo a verificar uma maior fixação de imigrantes, inclusive provenientes das zonas consideradas de risco.

Durante este estudo-piloto foram rastreados 100.000 recém-nascidos, dos quais foram referenciados para Centros de Tratamento 61 casos positivos, com alterações nos perfis de hemoglobina, para avaliação clínica, confirmação do resultado do rastreio neonatal e respetivo tratamento. Diagnosticaram-se 59 casos de drepanocitose e 2 casos homozigóticos para hemoglobina E.

Os resultados do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose traduzem-se numa prevalência ao nascimento da drepanocitose em Portugal de 1:2.299 recém-nascidos, para a qual contribuem significativamente os distritos de Lisboa e Setúbal, onde obtivemos uma prevalência ao nascimento de 1:978 recém-nascidos.

Com estes resultados podemos concluir que a drepanocitose está cada vez mais disseminada em Portugal, tal como a nível europeu. Esta doença já é considerada um problema de saúde pública e fica assim comprovada a importância da integração do rastreio neonatal da drepanocitose no painel de doenças rastreadas no âmbito do Programa Nacional do Rastreio Neonatal, para que seja possível adotar medidas preventivas o mais precocemente possível.

_Abstract

The Portuguese Neonatal Screening Program is a national public health program that includes 27 rare diseases, and is performed on all newborns in Portugal.

In 2021, a pilot study for sickle cell anemia (SCA) neonatal screening was started. Initially, only newborns from the districts of Lisbon and Setúbal were screened, since this is the region of the country that, over the last

few decades, has been more affected by the influx of migrants from high-risk areas for this pathology. In 2022, this pilot study was extended to all regions in Portugal, because other areas of the country are also experiencing a high influx of immigrants considered to be at risk for SCA. During this pilot study, a total number of 100,000 newborns were screened and 61 positive cases were identified with abnormal hemoglobin profiles: fifty-nine cases confirmed positive for SCA and two revealed to be homozygous for E hemoglobin. All these newborns were referred to Treatment Centers for clinical evaluation, confirmation of the neonatal screening result and follow-up.

These results indicate a global birth prevalence of 1:2,299 newborns for SCA in Portugal, with the districts of Lisbon and Setúbal presenting a birth prevalence of 1:978 newborns, and thus contributing significantly to this number. SCA seems to be increasingly widespread in Portugal, as it is in Europe, where it is already considered a public health problem, and the results of this study support its inclusion in the Portuguese Neonatal Screening Program, thus allowing early therapeutic measures and contributing to a significant improve in the quality of life of SCA patients.

_Introdução

Em Portugal, o Programa Nacional do Rastreio Neonatal (PNRN) é um programa de saúde pública que realiza, desde 1979, testes de rastreio de doenças raras em todos os recém-nascidos (RN). O conhecido “teste do pezinho” é composto por um painel de 27 patologias: hipotireoidismo congénito, 24 doenças hereditárias do metabolismo, fibrose quística e drepanocitose. Atualmente está também a decorrer o estudo-piloto do rastreio neonatal da atrofia muscular espinal ([tabela 1](#)).

Todas as análises laboratoriais do PNRN são efetuadas no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), mais concretamente na Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética, do Departamento de Genética Humana, no Porto.

Tabela 1:  Painel das doenças rastreadas no Programa Nacional do Rastreio Neonatal, 2022.

Hipotiroidismo Congénito – Doenças Hereditárias do Metabolismo	
Aminoacidopatias	Fenilcetonúria / Hiperfenilalaninémias Tirosinemia tipo I Tirosinemia tipo II/III Leucínose (MSUD) Homocistinúria clássica Hipermetioninemia (déf. MAT1/III)
Doenças do Ciclo da Ureia	Citrulinemia tipo I Acidúria Arginino-succínica Hiperargininemia
Acidúrias Orgânicas	Acidúria Propiónica (PA) Acidúria Metilmalónica (déf. em metilmalonil CoA mutase/cobalaminas) Acidúria Isovalérica (IVA) Acidúria 3-Hidroxi-3-Metilglutárica (3-HMG) Acidúria Glutárica tipo I (GA I) 3-Metilcrotonilgluticínúria (déf. 3-MCC) Acidúria Malónica
Doenças da β-Oxidação Mitocondrial dos Ácidos Gordos	Déf. da desidrogenase de 3-hidroxi-acil CoA de cadeia curta (SCHAD) Déf. da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia média (MCAD) Déf. da desidrogenase de 3-hidroxi-acil CoA de cadeia longa (LCHAD)/TFP Déf. da desidrogenase dos ácidos gordos de cadeia muito longa (VLCAD) Déf. da carnitina-palmitoil transferase I (CPT I) Déf. da carnitina-palmitoil transferase II (CPT II) / CACT Déf. múltiplo das desidrogenases dos ácidos gordos (MADD) / Acidúria glutárica tipo II) Déf. primário em carnitina (CUD)
Fibrose Quística	
Drepanocitose	
Atrofia Muscular Espinal – Estudo-piloto	

Após o parecer favorável da Comissão de Ética para a Saúde do INSA, iniciou-se o estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose em maio de 2021.

A drepanocitose ou doença de células falciforme é uma das mais comuns e graves patologias monogénicas no mundo. É uma doença hereditária com transmissão autossómica recessiva. Nasceram mais de 300.000 bebés por ano com a doença, e esse número pode aumentar para 400.000 até 2050. O facto do traço falciforme se apresentar como uma proteção contra a malária está diretamente relacionado com a grande prevalência da doença em grandes áreas da África subsaariana, na bacia do Mediterrâneo, no Médio Oriente e na Índia. A drepanocitose tornou-se um problema de saúde pública na Europa devido aos fluxos migratórios provenientes dessas regiões (1-5).

Trata-se de uma hemoglobinopatia qualitativa uma vez que os doentes apresentam uma variante estrutural de hemoglobina, neste caso designada como hemoglobina S (5,6). Esta variante, quando sujeita a condições de hipoxia, origina eritrócitos em forma de “foice”, com menor resistência à hemólise devido ao facto desta hemoglobina se precipitar e se ligar à membrana dos eritrócitos, conferindo-lhes maior rigidez comparativamente com os eritrócitos normais. A hemoglobina S resulta de uma mutação no gene *HBB* (c.20 A>T), que origina a substituição de um ácido glutâmico por uma valina na posição 6 da β -globina (Glu6Val, β S). A forma homozigótica (HbSS) apresenta-se como a mais grave, embora existam outras formas associadas à heterozigotia para a hemoglobina S e para outras hemoglobinas, nomeadamente HbSC, HbSD e HbS/ β talassémia (2,7).

artigos breves_ n. 4

Clinicamente, a forma HbSS, caracteriza-se por apresentar um quadro clínico de anemia e hemólises crónicas, com agudizações como por exemplo, crises vasclusivas e/ou anemia aguda bem como um aumento da suscetibilidade a infeções sistémicas. O quadro inicial da doença pode ser fatal, como consequência de acidente cerebrovascular, sequestro esplénico ou sepsis (8,9).

A administração profilática de penicilina oral, a vacinação antipneumocócica, a prevenção de alterações neurológicas e a terapia atempada com hidroxí-ureia (hidroxicarbamida), e até a educação dos pais relativamente às complicações associadas à patologia têm contribuído significativamente para a melhoria da qualidade e esperança média de vida dos doentes (2,10).

Assim sendo, o rastreio neonatal da drepanocitose desempenha um papel importante para a diminuição da morbilidade e mortalidade associadas a esta doença, através da adoção de medidas preventivas (2,8,9), o mais precocemente possível.

Estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose no PNRN

O PNRN deu início ao estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose em maio de 2021. Numa primeira fase rastrearam-se apenas os recém-nascidos nos distritos de Lisboa e Setúbal, onde se previa que a prevalência ao nascimento da doença fosse mais acentuada, tendo em conta as características sociodemográficas desses distritos, nomeadamente pela elevada percentagem de famílias oriundas de zonas de risco. Em fevereiro de 2022 estavam reunidas todas as condições para que o estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose fosse realizado em grande escala pelo que nessa altura foi alargado a todos os recém-nascidos em Portugal.

Até dezembro de 2022 rastrearam-se 100.000 RN e os principais objetivos deste estudo-piloto foram: 1) determinar a prevalência ao nascimento da drepanocitose em Portugal; 2) avaliar a estratégia para integrar o rastreio neonatal da drepanocitose no painel de doenças sistematicamente rastreadas do PNRN, com a metodologia adequada, testada e adaptada à realidade portuguesa.

Tal como acontece para as restantes patologias do PNRN, o rastreio neonatal da drepanocitose exige a existência no Serviço Nacional de Saúde de Centros de Tratamento com consulta especializada, neste caso de Hematologia-Pediátrica. Assim, ao longo deste estudo foram selecionados sete Centros de Tratamento que cumpriam essa exigência, nomeadamente, o Hospital Professor Doutor Fernando da Fonseca, o Centro Hospitalar Universitário Lisboa-Norte, o Centro Hospitalar Universitário Lisboa-Central, o Hospital Garcia de Orta, o Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, o Centro Hospitalar Universitário de Santo António e o Centro Hospitalar Universitário de São João. Também foi selecionado um Centro de Tratamento afiliado, nomeadamente o Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho.

_Objetivo

Com este trabalho pretende-se apresentar os resultados de 100.000 RN do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose, assim como a prevalência ao nascimento desta doença em Portugal.

_Material e métodos

A partir das amostras de sangue seco em cartão de Guthrie, colhidas entre o 3.º e o 6.º dia de vida do RN, cuja finalidade era a realização do rastreio neonatal das doenças incluídas no painel de doenças rastreadas, foram estudados 100.000 RN para a drepanocitose. Entre maio de 2021 até final de janeiro de 2022 foram estudados 24.130 RN exclusivamente nos distritos de Lisboa e Setúbal. Em fevereiro de 2022 o estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose foi alargado a todo o território português e desde então foram estudados mais 75.870 RN até final de dezembro de 2022.

Selecionou-se a eletroforese capilar – *Sebia Capillarys® neonat fast automated system* – por se tratar de uma metodologia validada internacionalmente para a realização deste rastreio. Trata-se de um método que permite identificar hemoglobina S, bem como outras formas de hemoglobinas associadas a síndromes drepanocíticas graves e que, de acordo com as recomendações internacionais, deverão

artigos breves_ n. 4

também ser identificadas no rastreio neonatal. São exemplos concretos as hemoglobinas C e D, prevalentes em populações do norte de África e da região mediterrânica, com estreitas relações com a população portuguesa.

Esta técnica já era utilizada na URN desde 2014, com bons resultados, no âmbito da prestação de serviços que o INSA está a disponibilizar a vários países africanos. Já no decorrer do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose foi lançado o *Capillary 3 DBS*, que permite trabalhar com placas de 96 poços, realizando de forma totalmente automatizada várias eletroforeses em simultâneo a partir de amostras de sangue seco colhido em cartão de *Guthrie*.

_Resultados

Com o decorrer do estudo-piloto do rastreio da drepanocitose, entre maio de 2021 e dezembro de 2022, foram rastreados 100.000 RN e foram diagnosticados 59 casos de drepanocitose – 55 homozigóticos (HbSS) e 4 compostos heterozigóticos (HbSC).

No entanto, numa primeira fase que decorreu entre maio 2021 e janeiro 2022, foram rastreados 24.130 RN exclusivamente nos distritos de Lisboa e Setúbal. Dessa amostragem foram diagnosticados e reportados 26 casos de drepanocitose – 24 HbSS e 2 HbSC. Posteriormente, até final de dezembro de 2022, foram rastreados em todo o país mais 75.870 RN dos quais 28.705 RN eram oriundos dos distritos de Lisboa e Setúbal e 47.165 RN do restante território português. Dessa amostragem foram diagnosticados e reportados mais 33 casos de drepanocitose – 31 HbSS; 2 HbSC ([tabela 2](#)).

Apesar de não ser do âmbito do rastreio da drepanocitose, foram também diagnosticados e reportados dois casos com alteração de hemoglobina, nomeadamente homozigóticos para hemoglobina E (HbEE) para avaliação.

Para determinar a prevalência ao nascimento da drepanocitose em Portugal, tivemos em consideração os resultados do rastreio neonatal realizados nos 75.870 RN que foram rastreados após o alargamento do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose a todo o território português. Nessa amostragem foram diagnosticados 33 casos de drepanocitose, o que resulta numa prevalência ao nascimento de 1:2.299 RN no nosso país ([tabela 2](#)).

Ao longo do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose, os casos positivos foram devidamente reportados a um dos Centros de Tratamento definidos para avaliação clínica, confirmação do resultado do rastreio e acompanhamento do respetivo doente ([tabela 3](#)).

Sob o ponto de vista epidemiológico foram detetados, mas não reportados, 1.923 portadores de hemoglobinas estruturalmente alteradas, sendo todos heterozigóticos com hemoglobina A. Desses, 1.646 casos apresentaram perfis de HbAS (traço-falci-forme), 121 de HbAC, 55 de HbAE e 101 de HbAD/G/K.

Nos casos em que se obteve um perfil de hemoglobinas alterado como consequência de transfusão de sangue realizada antes da colheita para o rastreio neonatal, os pais foram notificados para efetuar nova colheita 4 meses após a data da última transfusão de sangue, já que o ciclo médio de vida dos eritrócitos é de cerca de 120 dias.

Tabela 2:  Distribuição dos 59 casos de drepanocitose em 100.000 RN e respetiva prevalência ao nascimento no decorrer do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose.

Amostragem	Período	RN	HbSS	HbSC	Prevalência ao nascimento (n)
Lisboa e Setúbal	05/2021 a 12/2022	52.835*	51	3	1:978 (54)
Restantes distritos	02/2022 a 12/2022	47.165	4	1	1:9.433 (5)
Nacional	02/2022 a 12/2022	75.870	31	2	1:2.299 (33)
Total	05/2021 a 12/2022	100.000	55	4	-

* 24.130RN (05/2021 a 01/2022) e 28.705RN (02/2022 a 12/2022)

Tabela 3:  Distribuição de casos positivos reportados por Centro de Tratamento ao longo do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose.

Centro de Tratamento	Casos reportados
Hospital Professor Doutor Fernando da Fonseca	22 (21HbSS; 1HbSC)
Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte	15 (11HbSS; 2HbSC; 2HbEE)
Centro Hospitalar Universitário Lisboa Central	10 (HbSS)
Hospital Garcia de Orta	9 (HbSS)
Centro Hospitalar Universitário de Coimbra	2 (HbSS)
Centro Hospitalar Universitário de São João	2 (HbSS)
Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia/Espinho	1 (HbSC)

_Discussão

A drepanocitose tem vindo a tornar-se um problema de saúde pública e um desafio para os sistemas de saúde europeus já que a sua incidência tem aumentado devido aos movimentos populacionais provenientes de regiões onde a doença é muito frequente.

Apesar do rastreio neonatal da drepanocitose ter um carácter mais regional em países como Alemanha, Bélgica e Itália, ou direcionado, por exemplo em França, já faz parte do painel de doenças rastreadas a nível nacional no Reino Unido, Malta, Espanha e Países Baixos (3,4).

Em Portugal, tal como no resto da Europa, o fluxo migratório fez com que o peso da doença tenha vindo a aumentar, e além dos imigrantes provenientes de África e América Latina, também o Sudoeste Asiático tem contribuído para o aumento de imigrantes em Portugal e consequentemente para a disseminação de hemoglobinopatias, incluindo a drepanocitose.

Como consequência da implementação do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose, 61 RN foram precocemente diagnosticados e estão a ser devidamente acompanhadas por médicos especialistas de Hematologia nos respetivos Centros de Tratamento. Desses 59 RN são doentes com drepanocitose (55HbSS; 4HbSC) e fora do âmbito deste rastreio foram identificados e comunicados dois casos HbEE (tabela 3). Foi possível detetar 1.923 casos, não reportados, de portadores de hemoglobinas alteradas, dos quais

1.646 casos eram portadores de hemoglobina S apresentando assim traço falciforme. A comunicação desta informação às famílias não é consensual. Em Portugal, considera-se que a identificação de portadores não é objetivo do rastreio neonatal e que estes casos não devem ser reportados, à semelhança do que acontece para outras patologias.

No que se refere à prevalência ao nascimento de drepanocitose em Portugal, temos que ter em consideração que numa fase inicial foram rastreados 24.130 RN exclusivamente nos distritos de Lisboa e Setúbal pelo que, para que a prevalência ao nascimento da doença seja efetivamente representativa da realidade portuguesa, consideramos apenas os 75.870 RN rastreados após o alargamento do estudo-piloto a todo o território nacional. Assim sendo, para essa amostragem foram identificados 33 casos de drepanocitose (31HbSS e 2HbSC) o que resulta numa prevalência de 1:2.299 RN. No entanto, é importante destacar a influência dos distritos de Lisboa e Setúbal, onde a prevalência da doença é bastante elevada comparativamente com o resto do país, tal como já tínhamos constatado com a publicação dos resultados preliminares do estudo-piloto de rastreio em 24.130 RN, nesses distritos (11). Contabilizando todos os RN em Lisboa e Setúbal, entre maio de 2021 e dezembro de 2022 (52.835 RN), obtivemos uma prevalência ao nascimento de 1:978 RN nesses distritos, o que se traduz numa prevalência bastante elevada comparativamente com o restante território português onde obtivemos uma prevalência de 1:9.433 RN.

artigos breves_ n. 4

Esta diferença de prevalências ao nascimento entre os distritos de Lisboa e Setúbal e o restante território nacional, enquadra-se nas diferenças demográficas que ao longo de décadas tem afetado estes dois distritos em particular. Concretamente, na região de Lisboa e Setúbal encontramos uma população que ao longo dos anos tem estado sujeita a um aumento cada vez mais significativo de imigrantes. Consequentemente surgiram grandes comunidades, em que a reprodução entre indivíduos que as compõem são bastante comuns e, como tal, a probabilidade de surgirem casos positivos de drepanocitose é bastante mais significativa que no resto do território nacional, onde a fixação de imigrantes é uma realidade bem mais recente.

Conclusões

O PNRN iniciou em maio de 2021 o estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose nos distritos de Lisboa e Setúbal e foi alargado a todos os recém-nascidos em Portugal a partir de fevereiro de 2022, tendo-se estudado 100.000 RN até dezembro de 2022.

Os resultados decorrentes do progresso deste estudo-piloto demonstram uma grande prevalência ao nascimento desta doença. Em Portugal a prevalência ao nascimento da drepanocitose é de 1:2.299 RN, considerando 75.870 RN rastreados após o alargamento do estudo-piloto do rastreio neonatal da drepanocitose a todo o território nacional. No entanto concluímos que a influência dos distritos de Lisboa e Setúbal, por onde se iniciou este estudo, é significativa já que nesses dois distritos temos uma a prevalência ao nascimento de 1:978 RN, considerando todos os RN que nasceram nesses dois distritos durante a realização do estudo-piloto do rastreio da drepanocitose.

Estes dados vêm comprovar que a drepanocitose, que já se considera ser um problema de saúde pública a nível europeu, também tem vindo ganhar cada mais significado em Portugal. Assim comprova-se a importância da integração do rastreio neonatal da drepanocitose no painel de doenças rastreadas

no âmbito do PNRN, sendo que o principal objetivo deste rastreio é reduzir a morbilidade e mortalidade associadas à doença, proporcionando às crianças com a patologia uma melhor qualidade e esperança média de vida.

Referências bibliográficas:

- (1) Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. N Engl J Med. 2017 Apr 20;376(16):1561-73. <https://doi.org/10.1056/NEJMrat1510865>
- (2) Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010 Dec 11;376(9757):2018-31. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61029-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X)
- (3) Lobitz S, Telfer P, Cela E, et al.; with the endorsement of EuroBloodNet, the European Reference Network in Rare Haematological Diseases. Newborn screening for sickle cell disease in Europe: recommendations from a Pan-European Consensus Conference. Br J Haematol. 2018 Nov;183(4):648-60. <https://doi.org/10.1111/bjh.15600>
- (4) Daniel Y, Elion J, Allaf B, et al. Newborn Screening for Sickle Cell Disease in Europe. Int J Neonatal Screen. 2019 Feb 12;5(1):15. <https://doi.org/10.3390/ijns5010015>
- (5) Teixeira AT, Garcia C, Ferreira T, et al. Rastreio Neonatal de Hemoglobinopatias: a experiência de um Hospital de Nível II na Área Metropolitana de Lisboa. Acta Pediatr Port. 2018; 49(3):228-34. <https://actapediatrica.spp.pt/article/view/11781>
- (6) Miranda A, Costa S, Seuanes F, et al. Estudo Bioquímico de portadores de hemoglobinopatias. Boletim Epidemiológico Observações. 2013; 2(6):16-18. <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1745>
- (7) Martínez E, Conde J. Drepanocitosis. IN: Sanjurjo P, Baldellou A (eds). Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditárias. 2.ª ed. Madrid: Ergón, 2006, pp. 845-59.
- (8) Costa SN, Madeira S, Sobral MA, et al. Hemoglobinopatias em Portugal e a intervenção do médico de família. Rev Port Med Geral Fam. 2016; 32(6):416-24. <https://doi.org/10.32385/rpmgf.v32i6.11963>
- (9) Sánchez JM, Magdaleno MS, Prieto AG, et al. Cribado neonatal de drepanocitosis en Castilla y León: Estudio descriptivo. Bol. Pediatría 2021;61(257):160-65. https://sccalp.org/uploads/bulletin_article/pdf_version/1637/BolPediatr2021_61_160-165.pdf
- (10) Peres MJ, Carreiro MH, Machado MC, et al. Rastreio neonatal de hemoglobinopatias numa população residente em Portugal. Acta Med Port. 1996; (4-6):135-9. <https://doi.org/10.20344/amp.2569>
- (11) Rodrigues D, Marcão A, Lopes L, et al. Prevalência ao nascimento da drepanocitose nos distritos de Lisboa e Setúbal: resultados preliminares do estudo-piloto de rastreio a 24.130 recém-nascidos. Boletim Epidemiológico Observações. 2022; 32(4):25-31. <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/8266>