



Observações

— Boletim Epidemiológico

editorial_

Epidemiologia de campo ou de intervenção

Field (intervention) Epidemiology

A epidemiologia é considerada a ciência básica da Saúde Pública; é uma disciplina quantitativa construída sobre conhecimentos práticos de probabilidades, estatística e métodos de investigação sólidos; um método de raciocínio causal baseado na formulação e teste de hipóteses relativos à ocorrência e prevenção da mortalidade e morbidade; uma ferramenta para a ação em Saúde Pública visando a promoção e proteção da saúde de base científica, raciocínio causal e uma dose de bom senso prático. Tem por finalidade gerar evidência para políticas e tomadas de decisão para a melhoria da saúde das populações.

Os métodos científicos exigem tempo que se traduz na conceção e aplicação de protocolos com o objetivo de obter determinados resultados em data pré-estabelecida; assim pode acontecer na geração de evidência para suporte de políticas ou programas de saúde. Contudo, nem sempre a urgência da tomada de decisão pode esperar pelo tempo ideal de investigação, como por exemplo no caso dos surtos.

Desta necessidade, de produzir a melhor evidência em tempo útil para a tomada de decisão urgente, nasceu um ramo da epidemiologia, chamada de campo ou de intervenção que teve origem nos *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta através do seu programa de internato de pós-graduação em Saúde Pública, levado à prática pelo *Epidemic Intelligence Service* (EIS) em 1951.

Mais recentemente (1995) teve início o *European Programme for Intervention Epidemiology Training* (EPIET), sedado no *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) com a duração de 2 anos de tempo completo.

A epidemiologia de intervenção tem por finalidade a aplicação dos métodos científicos no trabalho quotidiano da Saúde Pública.

Assim, o objetivo primário destes cursos é o de fornecer o estado da arte em epidemiologia de intervenção, habilitando os formandos na aplicação dos métodos epidemiológicos sob o lema “aprender fazendo”.

Só a atualização de conhecimentos e o treino continuado da sua aplicação em serviços acreditados permitem adquirir e manter a destreza necessária para vencer o desafio da justa combinação de ciência e arte na aplicação dos métodos epidemiológicos ideais em situações reais adversas.

Os conhecimentos de estatística e o uso intensivo de ferramentas informáticas a que faz apelo o método epidemiológico têm uma utilidade transversal estruturante cujo benefício para as outras áreas da Saúde Pública: planeamento, gestão, avaliação e controle de programas e projetos é difícil negar.

Aos profissionais no exercício de funções de Saúde Pública que demonstrem uma apetência vincada pela epidemiologia deveria ser facilitada a formação e o treino em ações e projetos de intervenção, habilitando-os a contribuir para a melhor operacionalização dos programas nacionais de saúde, pois estes não funcionam por decisão legal, sem profissionais treinados para os melhor gerirem e avaliarem.

Não basta porém adquirir competências em epidemiologia de intervenção, é preciso também criar condições para o seu

exercício. É até contraproducente gastar recursos na formação de especialistas cujos conhecimentos estiolam por deficiências estruturais e organizativas dos serviços para o seu acolhimento.

Medir e avaliar e assim contribuir para a melhoria do controlo dos determinantes e da prevenção secundária das doenças crónico-degenerativas a par com o controlo das epidemias clássicas ou emergentes deveriam atualmente constituir preocupação incontornável da epidemiologia de intervenção nos serviços de Saúde Pública.

As funções de vigilância e investigação epidemiológica urgentes complementadas pela comunicação, formação, avaliação, vigilância e investigação programadas dão corpo à epidemiologia operacional.

Os serviços de Saúde Pública, na medida da sua diferenciação deveriam funcionar como centros de treino por excelência baseado na sua prática diária de atuação.

Contribuir, pela prática diária e não só pela teoria, para que os serviços de Saúde Pública ocupem o merecido lugar de ribalta no universo da saúde é o desafio que deixo à consideração de todos.

Eugénio Cordeiro

Médico de Saúde Pública,

Coordenador da Unidade de Investigação e Planeamento do Departamento de Saúde Pública
Administração Regional de Saúde do Centro, IP

Bibliografia:

Morabia A (ed). A history of epidemiologic methods and concepts. Boston: Birkhäuser Verlag, 2004.

White ME, McDonnell SM, Werker DH, et al. Partnerships in international applied epidemiology training and service, 1975-2001. Am J Epidemiol. 2001;154(11):993-9. <http://aje.oxfordjournals.org/content/154/11/993.long>

Moren A, Drucker J, Rowland M, et al. [European Programme for Intervention Epidemiology Training (EPIET): a training epidemiologic intervention in Europe]. Rev Epidemiol Sante Publique, 1998,46(6):533-4

Greg MB (ed). Field Epidemiology. New York: Oxford University Press, 1996.

University of Alabama at Birmingham. School of Public Health. Epidemiology Student Handbook - What is Epidemiology? [Em linha]. (consult. 20/10/2016). www.soph.uab.edu/epi/academics/studenthandbook/what

neste número_

Editorial

Epidemiologia de campo ou de intervenção p 01
Field (intervention) Epidemiology
Eugénio Cordeiro

Artigos Breves

Alimentação e Nutrição

1_ Influência da cozedura e da maltagem no conteúdo de folatos em quinoa p 03
(Chenopodium quinoa)

Influence of cooking and malting on content of folates in quinoa (Chenopodium quinoa)

Carla Mota, Inês Delgado, Mariana Santos, Ana Sofia Matos, Duarte Torres, Maria V. Chandra-Hioe, Isabel Castanheira

2_ Produtos agrícolas e/ou géneros alimentícios com denominação p 06
registada: panorama europeu

Agricultural products and foodstuffs with registered name: European overview

Edite Sousa, Tânia Gonçalves Albuquerque, Helena Soares Costa

3_ Ocorrência de níquel em alimentos consumidos em Portugal: resultados p 10
preliminares do projeto-piloto Total Diet Study

Nickel occurrence in food consumed in Portugal: preliminary results of TDS project pilot

Marta Ventura, Sandra Gueifão, Rita Silva, Inês Delgado, Inês Coelho, Isabel Castanheira

Saúde Ambiental

4_ Avaliação da qualidade do ar interior em lares de idosos, 2013-2014: p 14
projeto GERIA

Assessment of indoor air quality in elderly care centers, 2013-2014: GERIA project

Manuela Cano, Susana Nogueira, Marta Alves, Ana Luísa Papoila, Fátima Aguiar, Nuno Rosa, Maria Clementina Brás, Maria do Carmo Quintas, Herminia Pinhal, Ana Nogueira, Carmo Proença, João Paulo Teixeira

Doenças Infecciosas

5_ Caracterização molecular e suscetibilidade aos antimicrobianos de p 19
isolados clínicos de *Listeria monocytogenes* na região de Lisboa e Vale do Tejo em 2015

Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Listeria monocytogenes in the Lisbon and Tagus Valley Region in 2015

Leonor Silveira, Ângela Pista, Carla Maia, Maria João Barreira, João Rodrigues, Lúcia Reis, Jorge Machado

6_ Análise antigénica e genética dos vírus da gripe: inverno 2015/2016 p 23

Antigenic and genetic analysis of influenza virus: 2015/2016 winter

Pedro Pechirra, Inês Costa, Patrícia Conde, Paula Cristóvão, Raquel Guiomar

Avaliação Externa da Qualidade

7_ AEQ na quantificação da hemoglobina: desempenho analítico a longo p 29
prazo de trinta laboratórios portugueses

EQA total haemoglobine quantification: long-term analytical performance for thirty Portuguese laboratories

Armandina Miranda, Helena Correia, Ana Cardoso, Cristina Brito, Vera Clemente, Susana Silva, Piet Meijer, Ana Faria

Determinantes de Saúde

8_ Influência dos fatores socioeconómicos no excesso de peso e obesidade p 32
na população portuguesa em 2014

Influence of socioeconomic factors in overweight and obesity in the Portuguese population in 2014

Joana Santos, Irina Kislaya, Vânia Gaio

9_ Avaliação do nível de literacia para a saúde numa amostra portuguesa p 38

Health literacy assessment in a Portuguese sample

Joana Santos, Irina Kislaya, Vânia Gaio

10_ Causas metabólicas de rhabdomiólise associadas a mutações no p 44
gene LPIN1

Metabolic causes of rhabdomyolysis associated with LPIN1 mutations

Célia Nogueira, Diana Nunes, Altina Lopes, Laura Vilarinho

Influência da cozedura e da maltagem no conteúdo de folatos em quinoa (*Chenopodium quinoa*)

Influence of cooking and malting on content of folates in quinoa (*Chenopodium quinoa*)

Carla Mota¹, Inês Delgado¹, Mariana Santos¹, Ana Sofia Matos², Duarte Torres^{3,4}, Maria V. Chandra-Hioe⁵, Isabel Castanheira¹

carla.motta@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(2) Departamento de Engenharia Mecânica e Industrial, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.

(3) Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

(4) Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

(5) ARC Training Centre for Advanced Technologies in Food Manufacture, School of Chemical Engineering, Sydney, Austrália.

_Resumo

O folato ou vitamina B9 é essencial ao organismo sendo a alimentação a maior fonte deste nutriente. A deficiência nesta vitamina pode provocar alterações no crescimento e desenvolvimento de doenças como a anemia. A quinoa é um pseudocereal isento de glúten conhecido essencialmente pelo seu elevado valor nutritivo. Neste trabalho avaliou-se o efeito do processamento no teor em folatos naturais das sementes de quinoa. As amostras de quinoa recolhidas foram sujeitas a cozedura tradicional, cozedura a vapor e maltagem. A determinação simultânea de formas naturais de folatos, ácido fólico, 5-metiltetrahydrofolato, tetrahydrofolato, 5-formiltetrahydrofolato e 10-formiltetrahydrofolato foi realizada por cromatografia de ultra eficiência com deteção por espectrometria de massa com triplo quadrupolo (UPLC-MS/MS). A forma predominante encontrada em todas as amostras foi o 5-metiltetrahydrofolato. O teor de folatos totais mais elevado foi obtido nas amostras cruas (294 µg/100 g edível). A quinoa maltada apresenta uma redução significativa do teor de 5-metiltetrahydrofolato e um aumento significativo do 10-formiltetrahydrofolato. Na quinoa cozida e cozida a vapor o 5-metiltetrahydrofolato é o vitâmero que apresenta o fator de retenção mais elevado. Uma dose equivalente de quinoa independentemente do processamento, representa cerca de 32% da dose diária recomendada de folato podendo, por isso, ser classificada como rica em folatos.

_Abstract

Folates or B9 vitamin is essential for numerous body functions being food the main source of this nutrient. The deficiency in this vitamin can cause changes in growth and in development of diseases such anaemia. Quinoa is a known gluten-free pseudocereal known by his high nutritional value. This study evaluated the effect of processing on the content of natural folates of quinoa seeds. The quinoa samples were submitted to traditional cooking, steaming and malting. The simultaneous determination of natural forms of folates, 5-methyltetrahydrofolate, tetrahydrofolate, 5-and 10-formiltetrahydrofolato formiltetrahydrofolato and folic acid was accomplished by ultra efficient chromatography with detection by mass spectrometry in a triple quadrupole (UPLC-MS/MS). The predominant form of folate found in all samples was 5-methyltetrahydrofolate. The highest total folate content was obtained in the raw samples (294 µg/100 g edible portion). Malted quinoa, evidence a significant reduction of 5-methyltetrahydrofolate content and a significant increase in 10-formiltetrahydrofolato. In boiled and steam quinoa, 5-methyltetrahydrofolate is the vitamer with the highest retention factor. An equivalent portion of quinoa, apart of processing, represents about 32% of the recommended daily intake of folate and may, for that reason, be classified as rich in folates.

_Introdução

O folato ou vitamina B9 é um termo genérico para tetrahydrofolato (THF) e engloba os vitâmeros que ocorrem naturalmente nos alimentos bem como formas sintéticas adicionadas. A deficiência nutricional em vitamina B9 é comum nos indivíduos cuja dieta tem deficiência neste nutriente (1). Esta insuficiência pode ser exacerbada por condições de má absorção como acontece, por exemplo, em indivíduos com doença celíaca e durante a gravidez e aleitamento. De acordo com o mais recente relatório da *European Food Safety Authority* (EFSA) (2), a recomendação para a ingestão (PRI, *Population Reference Intakes*) estabeleceu-se em 330 µg *dietary folate equivalents* (DFE) /dia para adultos.

A quantidade de folatos presente naturalmente nos alimentos varia bastante. Alimentos descritos como fonte de folatos naturais incluem as ervilhas e feijões, vegetais de folha verde e frutos como a laranja (3). Os folatos podem também ser encontrados em extrato de levedura, grãos integrais, nozes, abacate e em vísceras de animais, como fígado e rim (4). A quinoa é um pseudocereal conhecido essencialmente pelo seu elevado valor nutritivo e poucas ou nenhuma prolaminas sendo por isso considerada isenta de glúten (5, 6). Tal como acontece com outras vitaminas, o armazenamento e os processamentos culinários, conduzem a uma degradação dos folatos devido à sua instabilidade térmica (7). Por outro lado o processo de maltagem contribui para um aumento da bioacessibilidade destes micronutrientes, quer pelo aumento da sua concentração, quer pela diminuição de antinutrientes como fitatos (8). Assim, torna-se importante considerar o efeito da cozedura e da maltagem na composição em folatos destes alimentos. A informação

artigos breves_ n. 1

sobre o teor destes micronutrientes em alimentos processados é muito importante, especialmente para os pacientes em que a ingestão de vitamina B9 é essencial.

_Objetivo

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da maltagem e da confeção (cozedura e cozedura a vapor) no teor de folatos naturais da quinoa. Para tal foi desenvolvido um método analítico por ultra eficiência com deteção por espectrometria de massa num triplo quadrupolo (UPLC-MS/MS) em condições de reprodutibilidade e rastreabilidade para quantificar os diferentes vitâmeros de folato das sementes cruas, cozidas e maltadas.

_Materiais e métodos

As amostras de quinoa foram recolhidas entre março de 2014 e setembro de 2015 e sujeitas a cozedura tradicional, cozedura a vapor e maltagem. Foram determinadas em simultâneo as formas naturais de folatos: ácido fólico (FA), 5-metiltetrahydrofolato (5-MTHF), tetrahydrofolato (THF), 5-formiltetrahydrofolato (5-CHOTHF) e 10-formiltetrahydrofolato (10-CHOTHF). O método inclui a utilização de padrões internos de referência isotopicamente marcados ($^{13}\text{C}_5$ FA e $^{13}\text{C}_5$ 5-MTHF). Para a análise cromatográfica utilizou-se o cromatógrafo AcQuity UPLC-TQD. Os folatos foram extraídos da matriz por método trienzimático precedido de dissolução em solução tampão, pH 7.2. Os resultados foram obtidos em triplicado em condições de garantia da qualidade suportados pelos requisitos descritos na norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g}/100$ g edível. O fator de retenção (FR) de cada nutriente foi calculado segundo a abordagem definida pela USDA (2007) (9).

_Resultados e discussão

Foram analisados cinco vitâmeros de folato com resultados acima do limite de deteção (LOD) para o FA, 5-MTHF e 10-CHOTHF e abaixo do LOD para o 5-CHOTHF ($< 0,24 \mu\text{g}/100$ g) e THF ($< 0,56 \mu\text{g}/100$ g) Os resultados analíticos são apresentados na **tabela 1**. A forma predominante encontrada em todas as amostras foi o 5-MTHF. Perfil idêntico, em percentagem das diferentes formas de folato, foi descrito por De Brouwer *et al.* (10) para o arroz. O teor de folatos totais mais elevado foi encontrado nas amostras cruas ($294 \mu\text{g}/100$ g edível). No que diz respeito ao FA verifica-se uma diminuição significativa do seu teor após processamento, no entanto, para o 10-CHOTHF não foram encontradas diferenças. Para o 5-MTHF ocorre um aumento com a cozedura, quer tradicional quer a vapor mas a maltagem não produz qualquer efeito. Verificamos que em termos de folatos totais a cozedura mantém o teor de folatos enquanto que a maltagem não parece produzir nenhuma alteração significativa ($P < 0.01$). Os resultados encontrados, embora proporcionalmente em concordância com os existentes na tabela de composição da USDA (2011) (11), são substancialmente mais elevados. Este facto deve-se essencialmente a diferenças na metodologia para a determinação de folatos totais e de apresentação de resultados. Na USDA (2011) os valores foram obtidos pelo método microbiológico. Os resultados obtidos por Gregory que utilizou o método microbiológico são também mais elevados que os obtidos no nosso estudo (12).

Tabela 1: Efeito da cozedura e maltagem na composição em folatos da quinoa ($\mu\text{g}/100$ g peso seco).

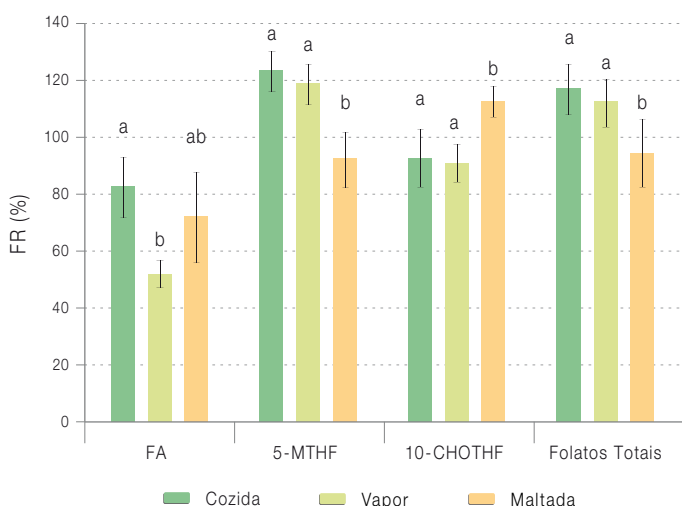
Quinoa	Processamento				P ¹
	Crua	Cozida	Vapor	Maltada	
Humidade g/100g	11.7 ^a ± 0.17	66.6 ^b ± 0.21	62.8 ^c ± 0.02	5.90 ^d ± 0.03	***
FA	9.35 ^a ± 1.15	7.57 ^{a,b} ± 1.10	4.81 ^b ± 1.01	6.41 ^b ± 1.59	*
5 - MTHF	259 ^a ± 13.4	313 ^b ± 11.4	302 ^b ± 16.7	233 ^a ± 29.5	**
10 - CHOTHF	53.4 ^a ± 8.35	47.9 ^a ± 9.86	47.9 ^a ± 17.07	57.8 ^a ± 8.22	n.s.
Folatos totais	322 ^{a,c} ± 8.3	369 ^b ± 19.0	355 ^{a,b} ± 21.5	297 ^c ± 31.3	**

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados; (1) Probabilidade estatística do tratamento: n.s. (não significativo); $P > 0.05$; (*) $P < 0.05$; (**) $P < 0.01$; (***) $P < 0.001$; Média na mesma linha com letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0.05$) (n=4).

artigos breves_ n. 1

Os resultados dos efeitos de processamento estão apresentados no gráfico 1. Na quinoa maltada ocorre uma redução significativa do teor de 5-MTHF (FR \approx 0,9) e um aumento significativo do 10-MTHF mas sem efeito na soma dos folatos totais da quinoa maltada. Na quinoa cozida e cozida a vapor o 5-MTHF é o vitâmeros que apresenta o FR mais elevado (FR \approx 1,1).

Gráfico 1: Percentagem da retenção de folatos na quinoa processada.



Barras com letras diferentes são significativamente diferentes, por processamento; ($P < 0,05$).

O rendimento de confeção para as amostras processadas e a respetiva dose equivalente (DE) ao alimento cru foi calculado a partir da tabela de equivalentes a uma porção publicada pela Direção-Geral da Saúde (2012) (13) que define para cereais e derivados crus uma DE de 35 g. Assim estimou-se para a quinoa cozida, cozida a vapor e maltada uma DE de 83, 81 e 35 g, respetivamente. Seguindo a abordagem do Regulamento Europeu nº 1169/2011 (14) e considerando a recomendação para indivíduos com idade superior a 15 anos, o valor de 330 μ g DFE/dia, os alimentos podem ser descritos como “fonte de folatos” ou “rico em folatos” se a percentagem das recomendações satisfeitas pelo consumo de uma dose do alimento suprir mais de 15 ou 30% das recomendações em folatos, respetivamente. Assim a quinoa, por dose equivalente, independentemente do processamento, satisfaz entre 31 e 33% da recomendação em folatos podendo, por isso, em qualquer situação ser descrita como rica em folatos.

_Conclusões

O método analítico reportado neste trabalho, evidencia a importância de determinar os diferentes vitâmeros que constituem o folato total. O desempenho do UPLC-MS/MS revelou-se adequado para avaliar o teor de folatos neste pseudocereal. Atendendo aos resultados concluiu-se que o perfil de folatos na quinoa está dependente do processamento. Em qualquer dos casos, a quinoa apresenta por dose equivalente teores superiores a 30% da recomendação da EFSA. Seguindo as recomendações vigentes, a quinoa pode ser considerada um alimento rico em folatos devendo por isso ser incluída na dieta do doente celíaco, grávidas e puérperas, entre outros.

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Vitamin and mineral requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand, 21-30 September 1998. Geneva: WHO, 2004. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42716/1/9241546123.pdf?ua=1>
- (2) EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for folate. EFSA Journal. 2014;12(11):1-59. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2014.3893/full>
- (3) Dietitians of Canada. Food Sources of Folate [Em linha]. (consultado 17/5/2015). www.dietitians.ca/Your-Health/Nutrition-A-Z/Vitamins/Food-Sources-of-Folate.aspx
- (4) Truswell S. The B Vitamins. In: Mann J, Truswell AS (eds). Essentials of Human Nutrition. 3rd ed. Melbourne: Oxford University Press, 2003.
- (5) Arendt EK, Bello FD. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. Dublin: Academic Press, 2008.
- (6) Moreno ML, Comino I, Sousa C. Alternative grains as potential raw material for gluten-free food development in the diet of celiac and gluten-sensitive patients. Austin J Nutri Food Sci. 2014;2(3):1016. <http://austinpublishinggroup.com/nutrition-food-sciences/fulltext/ajnfs-v2-id1016.php>
- (7) McNulty H, Pentieva K. Folate bioavailability. Proc Nutr Soc. 2004;63(4):529-36.
- (8) Hotz C, Gibson RS. Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. J Nutr. 2007;137(4):1097-100. <http://jn.nutrition.org/content/137/4/1097.long>
- (9) USDA Table of Nutrient Retention Factors, Release 6. Beltsville, Maryland: U.S. Department of Agriculture, 2007. www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/retrn/retrn06.pdf
- (10) De Brouwer V, Storozhenko S, Stove CP, et al. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for the sensitive determination of folates in rice. J. Chromatogr. B 2010; 878(3-4):509-13
- (11) Composition of foods raw, processed, prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Beltsville, Maryland: U.S. Department of Agriculture, 2011. www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/SR24/sr24_doc.pdf
- (12) Gregory JF, Quinlivan EP, Davis SR. Integrating the Issues of Folate Bioavailability, Intake and Metabolism in the Era of Fortification. Trends Food Sci Technol. 2005;16(6-7):229-40.
- (13) Direção-Geral da Saúde. Roda dos Alimentos, Tabela de Equivalentes. Lisboa: DGS, 2012.
- (14) União Europeia. Regulamento nº 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. JO 22.11.2011: L 304/18-63. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1169/oj>

Produtos agrícolas e/ou géneros alimentícios com denominação registada: panorama europeu

Agricultural products and foodstuffs with registered name: European overview

Edite Sousa¹, Tânia Gonçalves Albuquerque^{1,2}, Helena Soares Costa^{1,2}

helena.costa@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento, Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(2) REQUIMTE-LAQV, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Resumo

Os produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada estão associados à tradição, ruralidade, história, natureza, região ou área geográfica de um país. Portugal possui uma diversidade importante destes produtos que emergiu das características singulares e conhecimentos populares e que lhes conferem particularidades únicas. O processo de certificação é um instrumento importante e eficaz cuja divulgação poderá ser um contributo para promover a biodiversidade, potenciando a sustentabilidade económica de um país, sobretudo de regiões desfavorecidas. Assim, este trabalho pretendeu realizar um levantamento da informação referente aos produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada, sob os regimes de qualidade DOP, IGP e ETG na Europa, e efetuar um estudo comparativo entre Portugal e os outros países da União Europeia. Verifica-se que para Portugal estes produtos apresentam uma importância considerável, justificada pelo número de produtos registados e pelo facto de Portugal ser o 4º país europeu com maior número de alimentos com denominação registada. A promoção do conhecimento e a divulgação e informação acerca destes produtos contribuirá sem dúvida para a preservação da biodiversidade, para a sustentabilidade e para o crescimento económico destas regiões.

Abstract

Agricultural products and foodstuffs with registered name are associated with tradition, rural life, history, nature, a region or a geographical area of a country. Portugal has a large diversity of products that emerged from the unique features and popular knowledge, and which give them unique characteristics. The certification process is an important and effective instrument which could be a contribution to promoting biodiversity, enhancing the economic sustainability of a country, especially in less favoured regions. Therefore, the aim of this work was to conduct a survey of the information on agricultural products and foodstuffs with registered name under the quality schemes PDO, PGI and TSG in Europe, and make a comparative study between Portugal and the other countries of the European Union. It appears that for Portugal these products are of considerable importance, justified by the number of registered products and the fact that Portugal is the 4th European country with the largest number of foods with registered name. Promoting knowledge and dissemination about these products will undoubtedly contribute to the preservation of biodiversity, sustainability and economic growth in these regions.

Introdução

Os produtos agrícolas e os géneros alimentícios registados ao abrigo de regimes de qualidade podem representar um valor acrescido para a economia rural de algumas regiões, particularmente zonas desfavorecidas, zonas de montanha, ou outras em que o sector agrícola desempenha um papel preponderante no desenvolvimento local (1). Para além disso, estes produtos apresentam um conteúdo simbólico associado à tradição, ruralidade, história, natureza, região ou área geográfica de um país (2). Acresce referir que o facto de estes alimentos terem associados um processo de certificação relacionado com a sua origem geográfica/qualidade, também permite um reconhecimento a nível internacional, mas sobretudo a nível europeu. Portugal possui produtos com denominação registada, com uma diversidade importante que emergiu das características singulares e conhecimentos populares que lhes conferem particularidades únicas. Nos últimos anos têm surgido algumas iniciativas para a promoção e valorização destes produtos, incluindo a introdução de legislação e uniformização de conceitos, com a finalidade de promover o desenvolvimento do meio rural (3). Atualmente existem três regimes de qualidade: (i) Denominação de Origem Protegida (DOP); (ii) Indicação Geográfica Protegida (IGP); e (iii) Especialidade Tradicional Garantida (ETG), ao abrigo do Regulamento (UE) n.º 1151/2012, com base nos Regulamentos (CEE) n.ºs 2081/92 e 2082/92, (alterados pelos Regulamentos (CE) n.ºs 510/2006 e 509/2006, respetivamente) (4-8).

_Objetivos

Neste trabalho realizou-se um levantamento de dados, referentes aos produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada, sob os regimes de qualidade DOP, IGP e ETG na Europa. Posteriormente pretendeu-se comparar o posicionamento de Portugal em relação aos outros países da União Europeia (UE).

_Materiais e métodos

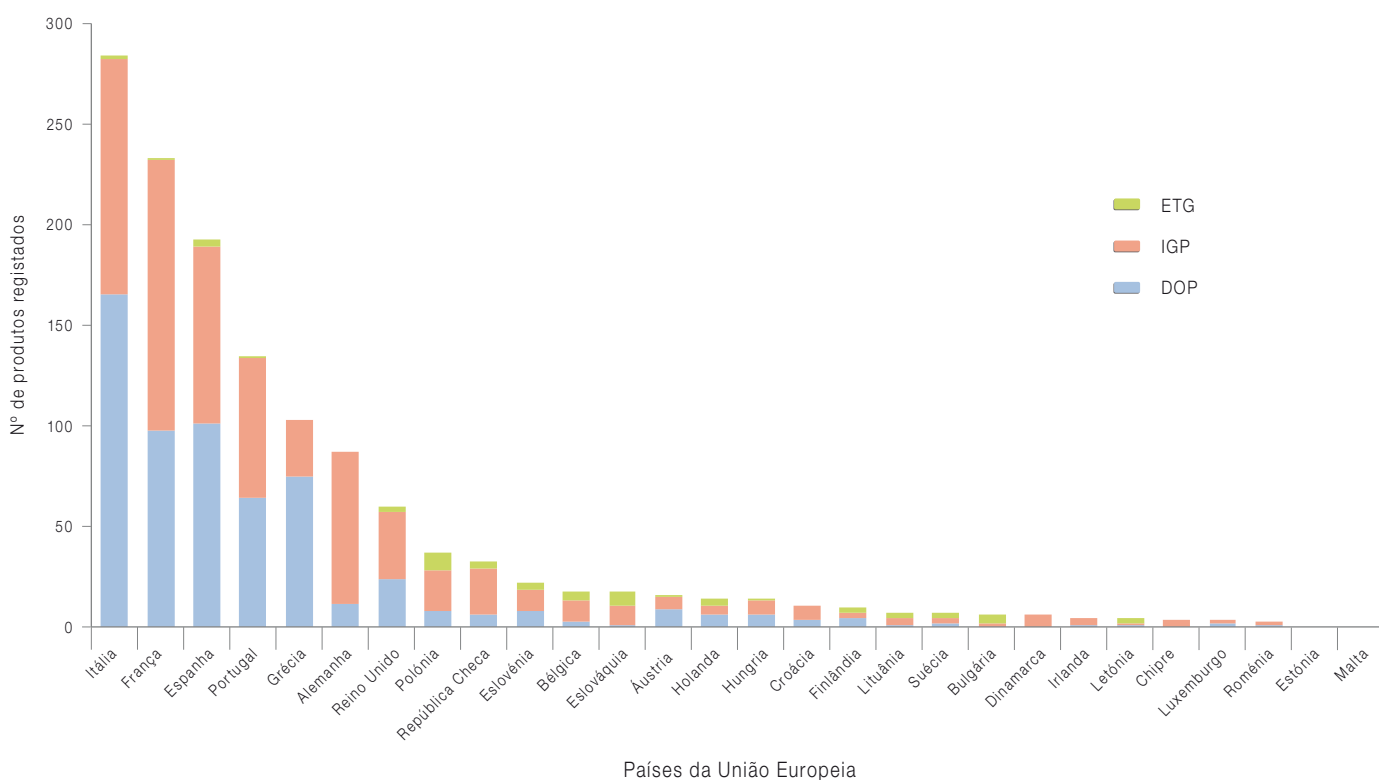
Os dados sobre os produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada, sob os regimes de qualidade DOP, IGP e ETG na Europa, foram recolhidos tendo em conta a informação disponibilizada na base de dados DOOR (*Database of origin & registration*) (9). Apenas se consideraram os produtos que até à data de realização deste trabalho se encontravam no estado registado, sendo também possível obter informação relativa aos processos de certificação apresentados e publi-

cados. Posteriormente, os produtos foram divididos nas diferentes classes estabelecidas na base de dados para ser efetuada uma análise de relevância sobre que classes a nível europeu apresentam maior número de produtos registados. Para Portugal foi ainda realizada uma distribuição dos produtos com denominação registada por distritos.

_Resultados e discussão

De acordo com a informação recolhida (gráfico 1), os 28 países da UE apresentam um total de 1335 produtos registados como DOP, IGP ou ETG. Destes 28 países, destacam-se Itália, França, Espanha, Portugal e Grécia, que possuem o maior número de produtos com denominação registada. Portugal é o 4º país da UE com mais produtos registados (135 produtos agrícolas e géneros alimentícios). Dos 1335 produtos registados, 50,5% estão registados como IGP; 45,2% como DOP e 4,3% como ETG.

Gráfico 1: Total de produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada na União Europeia (de 1992 até junho de 2016), com base na informação disponível na base de dados DOOR (6).



artigos breves_ n. 2

A análise evolutiva dos produtos com denominação registada em Portugal nos diversos regimes de qualidade, no período compreendido entre 1992 e junho de 2016 (gráfico 2), revela que numa fase inicial (1992-2000) houve um grande número de registos, sendo que após esta fase o número apresenta-se relativamente baixo, à exceção do período 2006-2010, que apresenta um ligeiro aumento na quantidade de produtos registados como IGP.

Os produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada estão distribuídos por várias classes, sendo que na UE regista-se uma predominância na classe das frutas, hortícolas e cereais não transformados (27,0%), seguido da classe dos queijos (17,6%), e da classe dos produtos à base de carnes (13,6%). Portugal apresenta uma tendência inversa comparativamente à UE, com a predominância da classe dos produtos à base de carnes (30,4%), seguido da classe da carne e miudezas frescas (23,0%) e da classe das frutas, hortícolas e cereais não transformados (20,0%).

Relativamente à distribuição por distrito dos produtos registados em Portugal, verifica-se que todos os distritos de Portugal têm produtos com denominação registada, incluindo as regiões autónomas da Madeira e dos Açores. Os distritos que apresentam maior número destes produtos são Portalegre, Vila Real, Bragança e Évora, com mais de 20 alimentos com

denominação registada (gráfico 3). O único alimento registado como ETG em Portugal, designado como “Bacalhau de Cura Tradicional Portuguesa”, pertence ao distrito de Leiria.

Gráfico 3: Distribuição por distrito e Regiões Autónomas dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios com denominação registada em Portugal.

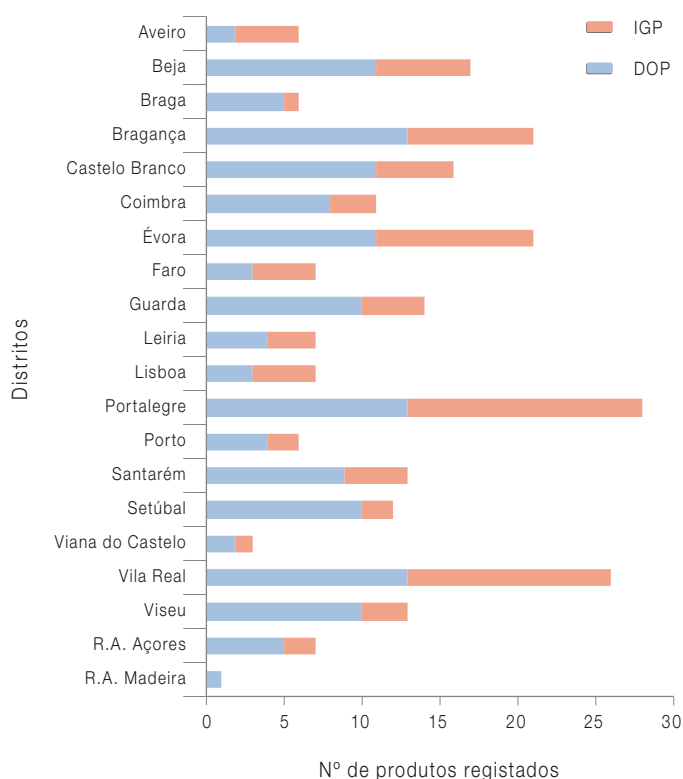
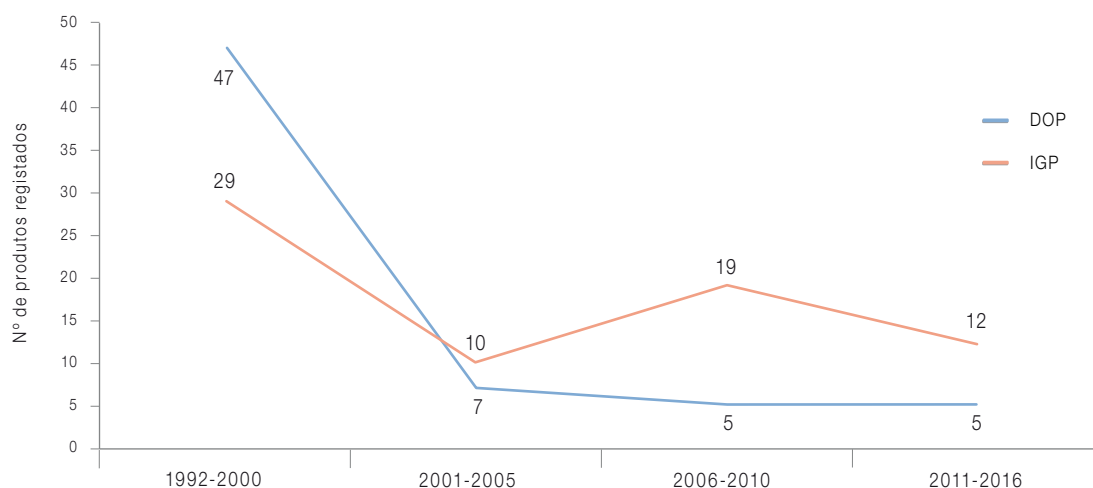


Gráfico 2: Evolução do número de produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada em Portugal entre 1992 e 2016.



Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho permitem ter uma visão clara do posicionamento de Portugal relativamente à União Europeia, no que diz respeito aos produtos agrícolas e/ou géneros alimentícios com denominação registada sob os regimes de qualidade DOP, IGP e ETG. Verifica-se que para Portugal estes produtos apresentam uma importância considerável, justificada pelo número de produtos registados e pelo facto de Portugal ser o 4º país europeu com maior número de alimentos. Também foi possível constatar que apesar de até 2000 se ter observado que um maior número de produtos foi registado, tal facto na opinião dos autores está relacionado com a introdução de medidas legislativas nesta matéria que anteriormente não existiam. No entanto, atualmente continua a haver um interesse por parte dos produtores e entidades de certificação de continuar a registar estes alimentos. É necessário continuar a desenvolver investigação sobre as potencialidades destes produtos, nomeadamente a nível das suas características organolépticas e do seu contributo nutricional, estimando os potenciais benefícios para a saúde, dado existir muito pouca informação disponível relativa a estes parâmetros. O desenvolvimento de futuros trabalhos nas áreas acima identificadas contribuirá sem dúvida para a preservação da biodiversidade, para a sustentabilidade e para o crescimento económico destas regiões.

Agradecimentos:

Tânia Gonçalves Albuquerque agradece a Bolsa de Doutoramento (SFRH/BD/99718/2014) financiada pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), o Fundo Social Europeu (FSE) e o Ministério da Educação e Ciência (MEC).

Referências bibliográficas:

- (1) Tibério ML, Cristóvão A. Produtos tradicionais e desenvolvimento local: o caso da designação protegida Queijo Terrincho DOP. 1º Congresso de estudos Rurais: Território, Sociedade e Política - Continuidades e Rupturas. Sociedade Portuguesa de Estudos Rurais, Departamento de Economia e Sociologia, UTAD, 2001. Apresentação oral.
- (2) Costa HS, Vasilopoulou E, Trichopoulou A, et al.; Participants of EuroFIR Traditional Foods Work Package. New nutritional data on traditional foods for European food composition databases. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(Suppl 3):S73-81.
- (3) Vales, DL. Contributo para a valorização e proteção dos produtos tradicionais Açorianos. Dissertação de mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, Universidade dos Açores, 2014.
<http://repositorio.uac.pt/handle/10400.3/3401>
- (4) União Europeia. Regulamento (UE) n.º 1151/2012 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de novembro, relativo aos regimes de qualidade dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. JO 14.12.2012: L 343/1-29.
<http://data.europa.eu/eli/reg/2012/1151/oj>
- (5) Comunidade Económica Europeia. Regulamento (CEE) n.º 2081/92 do Conselho, de 14 de julho, relativo à proteção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. JO 24.7.92: L 208/1-8.
<http://data.europa.eu/eli/reg/1992/2081/oj>
- (6) Comunidade Económica Europeia. Regulamento (CEE) n.º 2082/92 do Conselho, de 14 de julho, relativo aos certificados de especificidade dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. JO 24.7.92: L 208/9-14.
<http://data.europa.eu/eli/reg/1992/2082/oj>
- (7) Comunidade Europeia. Regulamento (CE) n.º 510/2006, do Conselho de 20 de março, relativo à proteção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. JO 31.3.2006: L 93/12-25.
<http://data.europa.eu/eli/reg/2006/510/oj>
- (8) Comunidade Europeia. Regulamento (CE) n.º 509/2006 do Conselho, de 20 de março, relativo às especialidades tradicionais garantidas dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios. JO 31.3.2006: L 93/1-11.
<http://data.europa.eu/eli/reg/2006/509/oj>
- (9) Comissão Europeia. Agricultura e Desenvolvimento Rural. Database of origin & registration (DOOR) [Em linha]. <http://ec.europa.eu/agriculture/quality/door/list.html>

Ocorrência de níquel em alimentos consumidos em Portugal: resultados preliminares do projeto-piloto *Total Diet Study*

Nickel occurrence in food consumed in Portugal: preliminary results of TDS project pilot

Marta Ventura, Sandra Gueifão, Rita Silva, Inês Delgado, Inês Coelho, Isabel Castanheira

marta.ventura@insa.min-saude.pt

Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

_Resumo

O níquel é um elemento natural da superfície terrestre. A alimentação é uma das principais fontes de exposição a este metal. Devido à sua acumulação no organismo pode causar efeitos nocivos para a saúde como a carcinogénese e a dermatite induzida. O principal objetivo deste trabalho foi a determinação de níquel em alimentos analisados como consumidos e representativos da dieta portuguesa. A metodologia escolhida para a quantificação deste contaminante foi a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS) precedida por digestão ácida em vaso fechado no micro-ondas. Foram recolhidas 1560 amostras, que foram analisadas em 130 pools, contendo cada 12 alimentos idênticos. O teor de níquel variou entre 21,2 µg/kg (sumos) e 1050 µg/kg (bivalves). O limite de quantificação do método foi o parâmetro analítico considerado indicador para a avaliação da exposição. A análise comparativa entre os valores analíticos superiores ao limite de quantificação do método e os valores não quantificáveis, demonstrou que todos os pratos compostos apresentaram valores superiores ao limite de quantificação e 60% dos resultados encontrados nos laticínios eram inferiores ao limite de quantificação do método. Atendendo aos procedimentos aplicados, os resultados obtidos podem ser utilizados como fonte de informação científica para simulações da avaliação do risco de exposição ao níquel, com consequentes ganhos em saúde.

_Abstract

Nickel is a natural element of the earth's crust. Food is one of the main sources of human exposure to this metal. Its accumulation in the body can cause harmful effects to health such as carcinogenesis or induced dermatitis. The aim of this work was the determination of nickel in foodstuffs analyzed as consumed and representative of the Portuguese diet. The methodology chosen for the quantification of this contaminant was inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) preceded by acid digestion in closed vessel microwave digestion. In total 1560 samples were collected and then analyzed into 130 pools, each containing 12 identical foods. The nickel content varied between 21,2 µg/kg (juices) and 1050 µg/kg (bivalve). The limit of quantification of the method was the analytical parameter considered as a critical indicator to estimate the lower-bound of contamination and exposure of food. The comparative analysis between the analytical values above the limit of quantification and the unquantifiable values showed that all composites had values higher than the limit of quantification while 60% of the results found in dairy products were below that limit. Taking into account the procedures applied, the results can be used as a source of scientific information for nickel exposure risk assessment simulations, with consequent health gains.

_Introdução

O níquel é um elemento natural da superfície terrestre ⁽¹⁾. Não é vital para as funções humanas. Porém alguns compostos de níquel foram classificados pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (2012) como agentes carcinogénicos para a saúde humana ⁽²⁾. Atuando o níquel mais como um promotor do que como indutor da carcinogénese, os mecanismos da interação dos compostos de níquel com o Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e as proteínas celulares ainda não estão completamente esclarecidos. Por outro lado Carrapato *et al* (2004) reporta a ocorrência da dermatite endógena induzida pela ingestão de alimentos com níquel ⁽³⁾.

As principais fontes de exposição para a população em geral não fumadora, são os alimentos e a água. Segundo Ganguly e Pierce (2015) as metodologias de processamento e confeção podem estar na origem dos valores elevados de níquel nos alimentos ⁽⁴⁾. Os mais recentes estudos publicados na literatura científica aconselham, por isso, a determinação do níquel nos alimentos, como consumidos ⁽⁵⁾.

_Objetivo

Este trabalho teve como objetivo principal a caracterização do teor de níquel em alimentos representativos da dieta portuguesa.

_Materiais e métodos

As mil quinhentas e sessenta amostras foram recolhidas de acordo com o plano de amostragem representativo da dieta portuguesa estabelecido no projeto *Total Diet Study Exposure* ⁽⁶⁾. Os alimentos foram preparados segundo os processos culinários mais utilizados em concordância com os hábitos de

artigos breves_ n. 3

consumo da população portuguesa. Foram agrupados pela sua similaridade em 130 *pools*, cada uma constituída por 12 alimentos.

O teor de níquel foi determinado por espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado (*ICP-MS-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*), tendo como referência a norma NP EN 15111:2007, precedido por digestão ácida em vaso fechado no micro-ondas. Os resultados foram obtidos através de procedimentos analíticos que refletiram os requisitos de garantia da qualidade, descritos na norma ISO/17025. A concentração foi expressa, pela média das três réplicas, em μg de níquel /kg de alimento.

Os dados analíticos foram organizados, seguindo a classificação da *European Food Safety Authority* (EFSA), em nove grupos: carne, pescado, cereais e derivados, laticínios, ovos, frutas, leguminosas, pratos compostos e tubérculos (1).

Resultados e discussão

Na **tabela 1** estão apresentados os resultados analíticos referentes aos estudos de caracterização realizados neste trabalho. Tendo em conta os resultados obtidos no presente trabalho, o teor de níquel variou entre 21,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (sumos) e 1050 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (bivalves). É de destacar que nos frutos secos (751 $\mu\text{g}/\text{kg}$) e nos produtos de confeitaria com chocolate (622 $\mu\text{g}/\text{kg}$) também foi encontrado um conteúdo considerável de níquel. Porém, os alimentos que apresentaram teor mais baixo para além da omelete foram as batatas confecionadas (38,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Os teores de níquel encontrados na carne foram semelhantes aos do pescado. Estes valores estão alinhados com os publicados no relatório da EFSA e reportados por outros países da União Europeia (1). Nas 240 amostras de pratos compostos que foram recolhidas o teor mais baixo de níquel foi observado no prato constituído por quiches, enquanto que a concentração mais elevada foi determinada no prato constituído por grãos.

Como se pode observar pela interpretação do **gráfico 1** face ao teor de níquel encontrado os grupos de alimentos foram classificados em três níveis seguindo a metodologia adotada pela EFSA: 1) Alimentos cujo teor níquel não foi detetado pelo

método analítico; 2) Alimentos cujo teor de níquel foi detetado mas não quantificado (*left censored data*); 3) Alimentos onde o teor de níquel foi quantificado por ICP-MS. Os laticínios e o pescado são os grupos onde se observaram maior variabilidade. Porém, o níquel foi detetado ou quantificado em todos os alimentos pertencentes aos restantes grupos. A percentagem mais elevada de valores quantificáveis foi observada no grupo dos compósitos, o que poderá estar relacionado com a complexidade do processo culinário (6).

Gráfico 1: Percentagem de resultados analíticos abaixo do limite de deteção (LD), abaixo do limite de quantificação (LQ) e valores quantificados nas amostras dos diversos grupos analisados.

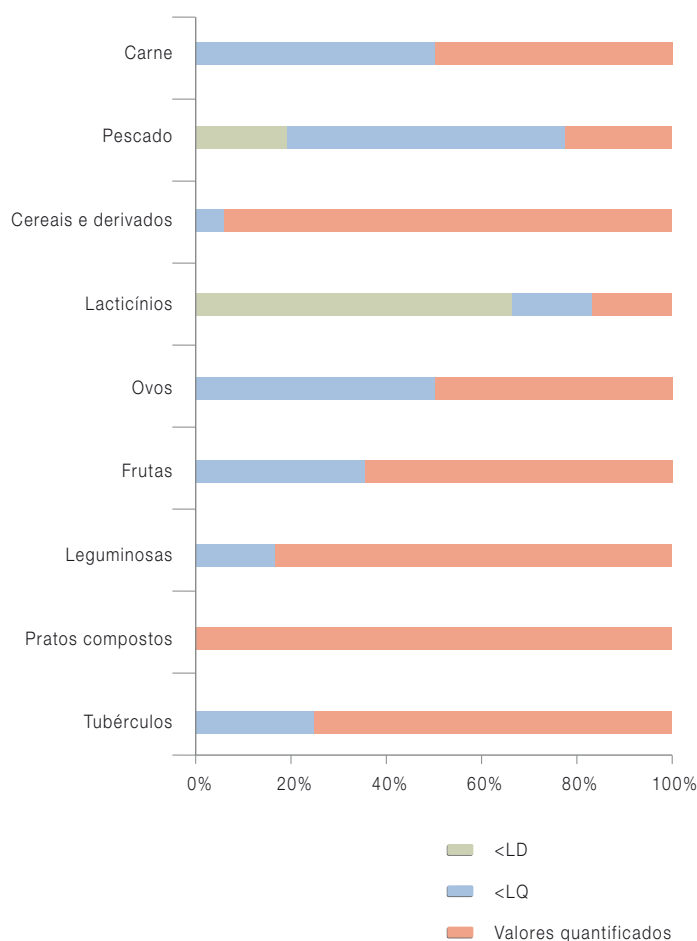


Tabela 1: Teor de níquel em alimentos portugueses.

Alimentos	Amostras recolhidas	Pools analisadas	Média µg/kg	Mediana µg/kg	Mínimo µg/kg	Máximo µg/kg
Carne						
Carne branca	36	3	n.q.			
Carne vermelha	48	4	59,2	53,2	52,3	72,0
Charcutaria	36	3	63,3	63,3	63,0	63,5
Pescado						
Peixe magro	168	14	74,4	75,1	46,3	101
Peixe gordo	144	12	n.q.			
Moluscos	36	3	n.q.		n.q.	35,6
Bivalves	12	1	1050			
Crustáceos	12	1	161			
Cereais e derivados						
Arroz	12	1	84,8			
Pão	12	1	83,9			
Confeitaria sem chocolate	144	12	91,4	89,5	47,8	167
Confeitaria com chocolate	36	3	622	663	313	892
Lactínios						
Leites	36	3	n.q.		n.q.	116
Iogurtes	24	2	n.q.			
Queijos	12	1	n.q.			
Ovos						
Omelete	12	1	35,6			
Mistura de ovos	12	1	n.q.			
Frutas						
Frutas frescas	312	26	54,5	55,7	26,8	146
Frutas enlatadas	12	1	48,4			
Frutos secos	60	5	751	767	56,1	1200
Sumos	12	1	21,2			
Compotas	12	1	92,4			
Leguminosas						
Grãos	72	6	357	344	230	510
Pratos compostos						
Pratos à base de carne, pescado ou mistos	192	16	91,6	67,3	23,4	250
Sopas	36	3	45,5	46,2	32,9	57,5
Saladas	12	1	56,4			
Tubérculos						
Batatas confecionadas	48	4	38,7	38,5	36,3	41,4
Total	1560	130	194	67,3	23,4	1200

n.q.- não quantificado

Conclusões

Os resultados obtidos foram produzidos em condições de qualidade reconhecida por terceiros (Instituto Português de Acreditação - IPAC), e balizados pelos gostos e preferências dos consumidores portugueses. Tratando-se de receitas nacionais esta análise revela-se muito útil para a população. Consequentemente, os dados analíticos podem ser utilizados como fonte de informação científica para simulações da avaliação do risco.

Agradecimentos:

O Instituto Ricardo Jorge agradece à Sociedade Portuguesa de Ciências da Nutrição (SPCNA) pela cedência dos dados de consumo alimentar utilizados neste trabalho que são originários do estudo *Alimentação e Estilos de Vida da População Portuguesa*, realizado pela SPCNA ao abrigo de um protocolo de mecenato científico com a empresa Nestlé Portugal.

Referências bibliográficas:

- (1) EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. *EFSA Journal*. 2015;13(2): 1-202.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2015.4002/full>
- (2) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Nickel and nickel compounds. In: *A review of human carcinogens. Part C: Arsenic, metals, fibres, and dusts*. Lyon, France: IARC, 2012, pp. 169-2018.
www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304375/pdf/Bookshelf_NBK304375.pdf
- (3) I. Carrapatoso G, Loureiro C, Loureiro, et al. Dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel: a propósito de dois casos clínicos. *Rev Port Imunoalergol*. 2004; 12 (3):261-70.
www.spaic.pt/client_files/rpia_artigos/dermatite-endogena-induzida-pela-ingestao-de-niquel-a-proposito-de-dois-casos-clinicos.pdf
- (4) Ganguly R, Pierce GN. The toxicity of dietary trans fats. *Food Chem Toxicol*. 2015;78:170-6.
- (5) Dohnalova L, Bucek P, Vobornik P, et al. Determination of nickel in hydrogenated fats and selected chocolate bars in Czech Republic. *Food Chem*. 2017;217:456-60. Epub 2016 Aug 24.
- (6) Dias MG, Vasco E, Pité M, Oliveira L. Estudo de dieta total piloto para avaliação da ingestão de nutrientes e da exposição a contaminantes: amostragem. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2015;4(Supl 5):7-9.
<http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3008>

Avaliação da qualidade do ar interior em lares de idosos, 2013- 2014: projeto GERIA

Assessment of indoor air quality in elderly care centers, 2013-2014: GERIA project

Manuela Cano¹, Susana Nogueira², Marta Alves⁴, Ana Luísa Papoila^{3,4}, Fátima Aguiar¹, Nuno Rosa¹, Maria Clementina Brás¹, Maria do Carmo Quintas¹, Hermínia Pinhal¹, Ana Nogueira¹, Carmo Proença¹, João Paulo Teixeira¹

manuela.cano@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Laboratório Nacional de Engenharia Civil, Lisboa, Portugal

(3) Departamento de Bioestatística e Informática, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

(4) Centro de Investigação do Centro Hospitalar de Lisboa Central, Lisboa, Portugal

_Resumo

O risco da população idosa desenvolver efeitos adversos em virtude da exposição a contaminantes químicos e microbiológicos do ar interior é mais elevado tanto pelo facto do seu sistema imunitário ser mais débil, como por este grupo etário permanecer no interior de edifícios por períodos mais longos. O objetivo deste estudo foi a caracterização da qualidade do ar interior numa amostra representativa de lares de idosos de modo a estudar a sua relação com a ventilação dos locais e a saúde/qualidade de vida dos utentes. O estudo apresentado incidiu sobre a avaliação da qualidade do ar interior em 18 lares de idosos situados em Lisboa (116 locais avaliados), em duas campanhas, uma no inverno e outra na primavera/verão e incluiu a avaliação de contaminação do ar por agentes químicos - dióxido de carbono (CO₂), monóxido de carbono (CO), formaldeído (HCHO), compostos orgânicos voláteis totais (COVT), PM₁₀ e PM_{2,5}; por agentes microbiológicos - bactérias e fungos. Os resultados indicam que, de um modo geral a contaminação do ar por compostos orgânicos voláteis totais e formaldeído é baixa. Contudo, os valores de referência são excedidos para o dióxido de carbono, microrganismos e as partículas em 20%, 35% e 25-30% dos locais estudados respetivamente. Assim, há que identificar as fontes de contaminação do ar por partículas por forma e reduzir os efeitos adversos associados à exposição e melhorar a ventilação dos lares, particularmente no inverno, por forma a conseguir ambientes interiores mais saudáveis.

_Abstract

Elderly people are at a greater risk for adverse health effects from exposure to indoor air pollutants because their immune system become less effective with age and they stay more than 80% of their time indoors. The aim of this study was to characterize indoor air quality in a representative sample of Elderly Care Centers (ECC) in order to associate it with ventilation, health and comfort. Indoor air quality was performed twice, during winter and summer/spring in 18 ECC located in Lisbon and included the monitoring of chemical agents - carbon dioxide, carbon monoxide, formaldehyde, Total Volatile Organic Compounds (TVOC) and Particulate matter (PM₁₀ and PM_{2,5}) and biological agents - bacteria and fungi. The results obtained for TVOC and formaldehyde indicate a low air contamination. However, reference concentrations of dioxide of carbon, particulate matter and microorganisms were exceeded in 20%, 25-30% and 35% of the rooms respectively. Consequently it is necessary to identify particulate matter contamination sources to reduce related adverse effects and to improve ventilation in ECC, particularly in the Winter, in order to achieve healthier indoor environments.

_Introdução e objetivo

Segundo o estudo *Alliance for Health and the Future* (1) nas últimas décadas tem-se verificado um aumento significativo da população muito idosa (idade superior a 80 anos) na União Europeia, esperando-se que atinja os 34,7 milhões em 2030.

De um modo geral, mais de 80% do nosso tempo é passado em espaços interiores e se pensarmos na população idosa este valor é ainda maior pelo facto de ser uma população dependente. O risco da população idosa desenvolver efeitos adversos em virtude da exposição aos poluentes do ar interior é também bastante mais elevado, pelo facto do seu sistema imunitário ser menos eficiente. Por isso, é essencial compreender de que forma os fatores ambientais afetam a saúde e bem-estar da população idosa residente em lares.

O objetivo deste estudo foi a caracterização da qualidade do ambiente interior numa amostra representativa de lares de idosos de modo a estudar a sua relação com a ventilação dos locais e a saúde/qualidade de vida dos utentes.

_Material e métodos

Foram estudados 18 lares situados em Lisboa tendo-se procedido às avaliações da qualidade do ambiente interior no período de inverno e no período de verão. A campanha de inverno decorreu de novembro 2013 a março de 2014 e a campanha de verão decorreu de abril a julho de 2014. Este estudo incluiu a avaliação de contaminação do ar por agentes químicos - dióxido de carbono (CO₂), monóxido de carbono (CO), formaldeído (HCHO), compostos orgânicos voláteis totais (COVT), PM₁₀ e PM_{2,5}; por agentes microbiológicos - bactérias e fungos e avaliação do conforto térmico (dados não apresentados).

Em cada lar foram avaliados quartos, incluindo quartos de utentes acamados, e salas, num total de 116 compartimentos estudados. Por forma a estudar a influência das fontes de contaminação existentes no interior, foram efetuadas colheitas de ar exterior para referência.

Foram efetuadas monitorizações do dióxido de carbono durante a noite em cerca de 61 quartos e durante o dia em todos os quartos.

As monitorizações de dióxido e monóxido de carbono foram levadas a cabo durante os períodos de normal ocupação dos espaços utilizando o *Indoor Air Quality Meter* (TSI, modelo 7545, USA), durante 30-45 minutos com leituras a cada minuto.

O formaldeído foi colhido em *impingers* utilizando bombas de amostragem pessoal (modelo 224E PCX8, SKC) a um caudal de 1L/min e analisados laboratorialmente por espectrofotometria, de acordo com o método NIOSH 3500.

As PM₁₀ e PM_{2,5} foram colhidas por amostragem ativa em filtros de PTFE previamente pesados, montados em coletores PM₁₀ e PM_{2,5} (PEM, SKC), utilizando bombas de amostragem pessoal (modelo 224E PCX8, SKC) a um caudal de 2L/min, seguidas de análise gravimétrica de acordo com o método IP-10A da SKC (2004).

As amostras de compostos orgânicos voláteis totais foram colhidas em duplicado utilizando tubos TENAX (Ref. 25054, Supelco) e bombas de amostragem pessoal a um caudal de 0.05 L/min e analisadas, após desadsorção térmica, de acordo com a norma ISO 16000-part 6, por cromatografia gasosa (Perkin Elmer, ATD 400).

As colheitas de amostras de ar para determinação de bactérias e fungos foram efetuadas em duplicado, utilizando o Microbiological Air Sampler (MAS-100, Merck), a caudal de 100 L/min, e placas contendo Malt Extract Agar (MEA), Trypticase Soy Agar (TSA) e MacConkey agar, para colheita de fungos, bactérias totais e bactérias de Gram-negativo, respetivamente. As placas foram posteriormente incubadas a 25°C durante 4-5 dias no caso dos fungos e a 37°C durante 24-48 horas no caso das bactérias. Após incubação as placas foram contadas e os valores ajustados utilizando uma tabela de correção estatística de

Feller. Após mais 3-4 dias de incubação das placas de fungos procedeu-se à sua identificação

Em cada campanha foram incluídos brancos de campo controlos positivos e controlos negativos e o equipamento utilizado foi alvo de calibração de acordo com as normas adotadas pelo laboratório.

O equipamento para colheita/ monitorização da qualidade do ar interior foi colocado na zona respiratória dos ocupantes.

Análise estatística

Foi efetuada uma análise exploratória para parâmetros químicos e microbiológicos. As variáveis categóricas foram descritas através de frequências (percentagens), as variáveis contínuas através da média (desvio padrão) ou mediana e amplitude interquartil (percentil 25-percentil 75), conforme adequado. Foram utilizados modelos lineares generalizados de efeitos mistos, que têm em consideração a estrutura de autocorrelação entre medidas de cada unidade funcional dos lares. Foram estimados *odds ratios* (OR) ajustados, com os respetivos intervalos de confiança a 95% (IC 95%). Foi considerado um nível de significância $\alpha = 0,05$. Na análise de dados foram utilizados os programas SPSS 22.0 (SPSS for Windows, Rel. 22.0.1. 2013. SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e Stata (StataCorp. 2013. Stata Statistical Software: Release 13. College Station, TX: StataCorp LP).

Resultados e discussão

Na **tabela 1** apresentam-se os resultados obtidos para os agentes químicos e correspondentes valores de exterior, por estação do ano.

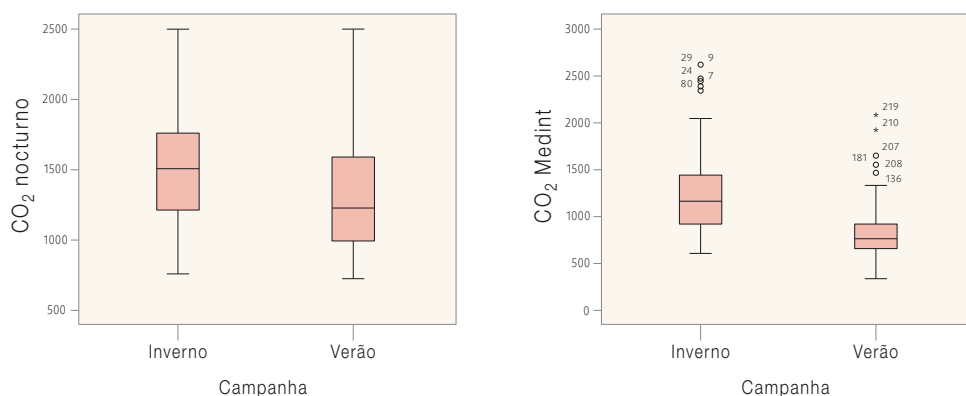
Comparando as medianas obtidas no interior e no exterior (**tabela 1**) verifica-se que as concentrações no interior são superiores às do exterior para todos os parâmetros com exceção das partículas.

As concentrações de dióxido de carbono são menores na primavera/verão (**gráfico 1**). Verifica-se uma redução média de 167 ppm no dióxido de carbono noturno ($p=0.030$) e uma redução média de 417 ppm no dióxido de carbono diurno ($p<0.001$) na primavera/verão relativamente ao inverno.

Tabela 1: ↓ Concentrações de agentes químicos obtidos nos 18 lares estudados, por estação do ano e respetivo valor de exterior.

Parâmetro	Estação do ano	Interior			Exterior		
		N	Mediana	(P25-P75)	N	Mediana	(P25-P75)
CO ₂ nocturno (ppm)	Inverno	61	1502	(1196-1803)	-	-	-
	Primavera/Verão	61	1216	(973-1598)	-	-	-
CO ₂ diurno (ppm)	Inverno	116	1156	(914-1432)	18	567	(555-592)
	Primavera/Verão	116	756	(644-924)	17	540	(531-558)
CO (ppm)	Inverno	116	0,1	(0,0-0,4)	18	0	(0,0-0,1)
	Primavera/Verão	115	0,1	(0,0-0,1)	17	0	(0,0-0,2)
HCHO (mg/m ³)	Inverno	116	0,016	(0,010-0,020)	18	0,01	(0,010-0,010)
	Primavera/Verão	116	0,017	(0,010-0,027)	18	0,013	(0,009-0,019)
PM _{2,5} (µg/m ³)	Inverno	109	14,4	(13,3-68,1)	17	30	(13-81)
	Primavera/Verão	116	27,5	(11,5-73,8)	18	37	(11-75)
PM ₁₀ (µg/m ³)	Inverno	111	52	(14,2-101,5)	17	33	(13-60)
	Primavera/Verão	116	41	(14,5-75,8)	18	43	(31-83)
TVOC (mg/m ³)	Inverno	115	0,11	(0,068-0,239)	18	0,066	(0,043-0,069)
	Primavera/Verão	116	0,067	(0,060-0,100)	18	0,065	(0,060-0,070)

Gráfico 1: ↓ Distribuição das concentrações de dióxido de carbono nocturno e diurno de acordo com a estação do ano.



Relativamente à contaminação do ar por partículas, verifica-se que não existem diferenças estatisticamente significativas entre concentrações de partículas PM₁₀ e PM_{2,5} nas diferentes estações do ano. As concentrações médias de PM₁₀ obtidas no interior excederam os valores de referência em 24% e 19% dos locais no inverno e na primavera/verão respetivamente. As medianas de PM_{2,5} são mais elevadas no exterior em ambas

as campanhas, indicando a importância da contaminação do ar exterior (tabela 1).

As medianas de PM₁₀ são mais elevadas no interior e no exterior no caso da primavera/verão (tabela 2). Não foi encontrada qualquer relação entre a concentração de partículas e o tipo de material que reveste o pavimento.

Tabela 2: ↓ Concentrações dos agentes químicos e valores de referência constantes no anexo da Portaria nº 353-A/2013, de 4 de dezembro (2).

Parâmetro	Estação do ano	Interior			Referência
		N	Mediana	(P25-P75)	Portaria 353-A/2013 de 4 de dezembro
CO ₂ nocturno (ppm)	Inverno	61	11502	(1196-1803)	1625 (MT30%)*
	Primavera/Verão	61	1216	(973-1598)	
CO ₂ diurno (ppm)	Inverno	116	1156	(914-1432)	1625 (MT30%)*
	Primavera/Verão	116	756	(644-924)	
CO (ppm)	Inverno	116	0,1	(0,0-0,4)	9
	Primavera/Verão	115	0,1	(0,0-0,1)	
HCHO (mg/m ³)	Inverno	116	0,016	(0,010-0,020)	0,1
	Primavera/Verão	116	0,017	(0,010-0,027)	
PM _{2,5} (µg/m ³)	Inverno	109	14,4	(13,3-68,1)	50 (MT 100%)*
	Primavera/Verão	116	27,5	(11,5-73,8)	
PM ₁₀ (µg/m ³)	Inverno	111	52	(14,2-101,5)	100 (MT 100%)*
	Primavera/Verão	116	41	(14,5-75,8)	
TVOC (mg/m ³)	Inverno	115	0,11	(0,068-0,239)	0,6
	Primavera/Verão	116	0,067	(0,060-0,100)	

* Valor de referência após aplicação da margem de tolerância prevista para edifícios existentes.

Apesar das concentrações medianas de dióxido de carbono serem inferiores o valor de referência de 1625 ppm, para edifícios existentes e com ventilação natural, as concentrações médias determinadas excederam o valor referido em 19% dos locais estudados no inverno e em 3% na primavera/verão. As menores concentrações de dióxido de carbono indicam uma ventilação mais eficiente, capaz de remover os bioefluentes gerados no interior.

As baixas concentrações de COVT obtidas neste estudo são dignas de destaque e, no inverno, apenas uma sala apresentou uma concentração superior ao valor de referência.

Relativamente ao formaldeído, verificou-se que em apenas 3% dos locais estudados foi excedido o valor de referência, o que revela uma ventilação adequada tendo em conta que este agente químico está presente em muitos desinfetantes utilizados para limpeza de superfícies.

As medianas das concentrações de bactérias obtidas no interior, tanto no inverno como na primavera/verão, não exce-

deram o valor de referência (350 UFC/m³+concentração exterior), tendo-se observado concentrações mais elevadas no inverno. Contudo, em 35% das salas estudadas foi excedido o valor de referência para as concentrações de bactérias em ambas as estações, embora com baixas concentrações de bactérias de Gram-negativo (dados não apresentados) em qualquer das salas (tabela 3).

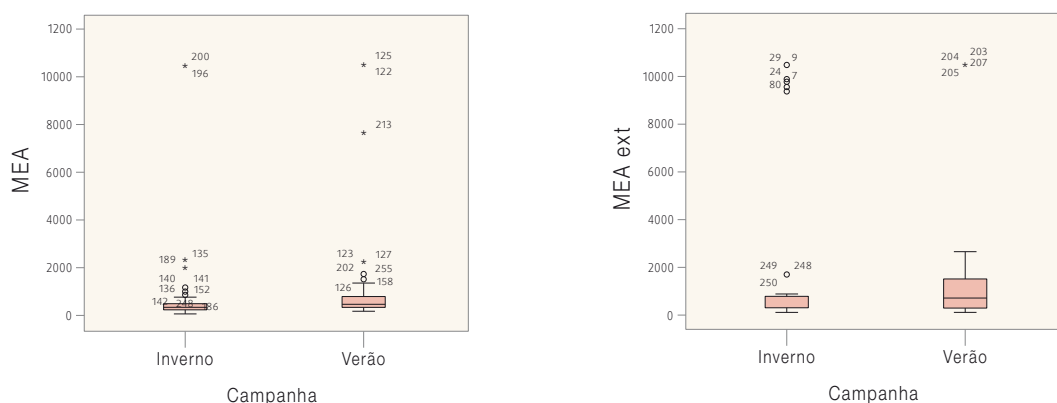
Relativamente à contaminação do ar por fungos verificou-se que as concentrações no interior foram inferiores às do exterior em mais de 60% dos locais independentemente da estação do ano.

Analisando o gráfico 2 verifica-se que as mais elevadas concentrações de fungos obtidas na primavera/verão parecem dever-se a um aumento médio de 1062 UFC/m³ na concentração de fungos no exterior durante campanha primavera/verão quando comparada com inverno ($p=0.048$). De acordo com o esperado em ambientes sem fontes de contaminação do ar por fungos, a abundância relativa das diferentes espécies de fungos seguiu o padrão do exterior (dados não apresentados).

Tabela 3: ↓ Concentrações de bactérias e fungos e correspondentes valores de exterior, por estação do ano.

Parâmetro	Estação do ano	Interior			Exterior		
		N	Mediana	(P25-P75)	N	Mediana	(P25-P75)
Bacteria (CFU/m ³)	Inverno	114	366	(210-570)	18	84	(20-111)
	Primavera/Verão	116	288	(134-536)	18	62	(52-93)
Fungi (CFU/m ³)	Inverno	116	295	(192-429)	18	266	(171-745)
	Primavera/Verão	116	420	(268-741)	18	533	(274-972)

Gráfico 2: ↓ Concentrações de fungos no interior e no exterior *versus* estação do ano.



Conclusões e recomendações

As concentrações de dióxido de carbono obtidas indicam uma melhor ventilação na primavera/verão, tanto durante a noite como de dia, o que está provavelmente relacionado com o facto de se manterem as janelas abertas neste período do ano.

As concentrações de partículas PM₁₀ e PM_{2,5} são superiores ao valor de referência em aproximadamente 25% e 30% dos locais, respetivamente. No caso das PM_{2,5}, a contribuição do exterior não deve ser negligenciada.

A contaminação microbiológica do ar por bactérias e fungos encontra-se acima dos valores de referência em mais de 35% dos locais estudados.

O reforço da ventilação através da abertura das janelas ou instalação de sistemas de ventilação poderá corrigir os elevados níveis de dióxido de carbono e de bactérias obtidos em alguns dos locais estudados, dado que os referidos contaminantes têm, na sua maioria, origem nos ocupantes.

Uma vez que a poluição do ar por partículas tem sido associada a um aumento da mortalidade e morbilidade relacionadas com as doenças cardiovasculares (3), há que identificar as fontes de contaminação do ar por este agente e adotar mecanismos de controlo das mesmas, seja através de uma limpeza mais eficaz, seja através da adoção de mecanismos de controlo da entrada de partículas com origem no ar exterior.

Financiamento:

Este projeto foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FTC), PTDC/SAU-SAP/116563/2010.

Referências bibliográficas:

- (1) The Alliance for Health and the Future. Health in Europe: a strategic approach: response to the European Commission discussion document for a health strategy, February 2007. http://ec.europa.eu/health/ph_overview/strategy/docs/R-040.pdf
- (2) Ministérios do Ambiente, Ordenamento do Território e Energia, da Saúde e da Solidariedade, Emprego e Segurança Social. Portaria nº 353-A/2013, de 4 de dezembro. DR 1ª série (1º Supl), nº 235: 6644-(2)-(9). Estabelece os valores mínimos de caudal de ar novo por espaço, bem como os limiares de proteção e as condições de referência para os poluentes do ar interior dos edifícios de comércio e serviços novos, sujeitos a grande intervenção e existentes e a respetiva metodologia de avaliação. <https://dre.pt/application/file/331946>
- (3) Pope CA 3rd, Dockery DW. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. J Air Waste Manag Assoc. 2006;56(6):709-42.

Caraterização molecular e suscetibilidade aos antimicrobianos de isolados clínicos de *Listeria monocytogenes* na região de Lisboa e Vale do Tejo em 2015

Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Listeria monocytogenes* in the Lisbon and Tagus Valley Region in 2015

Leonor Silveira¹, Ângela Pista¹, Carla Maia³, Maria João Barreira³, João Rodrigues², Lúcia Reis², Jorge Machado¹

leonor.silveira@insa.min.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais; (2) Laboratório de Microbiologia, Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(3) Laboratório de Microbiologia, Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

_Resumo

Listeria monocytogenes é o agente causal da listeriose, uma doença grave considerada de vigilância prioritária a nível europeu, com taxas de hospitalização (98,9%) e de letalidade (15,0%) elevadas. Este estudo teve como objetivo a caraterização das estirpes de *L. monocytogenes* recebidas no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge em 2015. A serotipagem foi realizada por PCR multiplex, a tipagem por PFGE e também foi estudada a suscetibilidade aos antimicrobianos. O serotipo mais comum foi IVb (85,7%). A maioria das estirpes é sensível aos antimicrobianos em apreciação, com exceção de uma estirpe que apresentou resistência ao meropenemo e outra que apresentou resistência à eritromicina e ao trimetoprim/sulfametoxazol. Existe uma grande heterogeneidade de perfis de PFGE entre os isolados estudados, tendo sido detetados alguns clusters. A utilização de sequenciação de genoma completo para caraterização de estirpes, nomeadamente de *L. monocytogenes* está a ganhar terreno a nível mundial, vindo substituir as técnicas goldstandard. A sua aplicação no Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais permitiu em 2015 a confirmação laboratorial de um surto.

_Abstract

Listeria monocytogenes is the listeriosis agent, a serious disease under priority surveillance in Europe, with high mortality (15.0%) and hospitalization rates (98.9%). This study aims to characterize the *Listeria monocytogenes* strains received in the National Reference Laboratory of Gastrointestinal Infections of the National Institute of Health Dr. Ricardo Jorge in 2015. Serotyping was accomplished by multiplex PCR, typing by PFGE and the antimicrobial susceptibility was evaluated. The most common serotype was IVb (85.7%). Most strains are sensitive to the antimicrobials under consideration, with the exception of a strain that was resistant to meropenem and other that was resistant to erythromycin and trimethoprim/sulfamethoxazole. There is great heterogeneity between the PFGE profiles of the isolates under study, and some clusters have been detected. The use of whole sequencing for the characterization of strains namely *L. monocytogenes* surveillance is gaining ground worldwide, replacing the goldstandard techniques. Its application in the National Reference Laboratory of Gastrointestinal Infections allowed the effective resolution of an outbreak in 2015.

_Introdução e objetivo

Listeria monocytogenes é o agente causal da listeriose, uma doença grave, considerada de vigilância prioritária a nível europeu. Os casos confirmados notificados na Europa em 2014, indicam uma taxa de incidência de 0,52 casos por 100.000 habitantes com taxas de hospitalização (98,9%) e de letalidade (15,0%) elevadas (1,2). *L. monocytogenes* é uma bactéria intracelular anaeróbia facultativa, ubiqüitária, que se transmite através de géneros alimentícios prontos para consumo (3).

L. monocytogenes é uma bactéria oportunista, que causa normalmente infeções sistémicas, tais como meningite, encefalite ou endocardite, as quais podem ser potencialmente fatais em indivíduos imunocomprometidos e idosos. Estas infeções podem também afetar grávidas, podendo provocar aborto, parto prematuro, nados-mortos ou infeções neonatais (3).

Este estudo tem como objetivo a caraterização molecular e o estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos de estirpes de *Listeria monocytogenes* recebidas no Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) em 2015.

_Material e métodos

Durante o ano de 2015 foram recebidas no INSA 28 estirpes humanas de *L. monocytogenes*, provenientes de doentes internados em hospitais da região de Lisboa e Vale do Tejo, isoladas a partir de sangue (n=17), líquido cefalorraquidiano (LCR) (n=6), sangue e LCR (n=2), sangue e exsudado ocular (n=1) e de origem desconhecida (n=2).

artigos breves_ n. 5

Os serogrupos foram determinados por PCR *multiplex*, como descrito por Doumith *et al.* (2004), utilizando oligonucleótidos que amplificam os genes *Imo0737*, *ORF2819*, *ORF2110*, *Imo1118* e *prs* (4).

Foi possível detetar a suscetibilidade aos antimicrobianos em 24 estirpes, segundo as recomendações da EUCAST, para os antibióticos benzilpenicilina (P), meropenemo (MEM), eritromicina (ERY) e trimetoprim/sulfametoxazol (SXT).

A tipagem de 27 estirpes foi efetuada por *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE) com as enzimas de restrição *Apal* e *Ascl*, de acordo com o procedimento elaborado pelo *PulseNet* (CDC) (5). As imagens foram processadas no *software* Bionumerics (1998, 2003; Applied Maths BVBA). A análise de *clusters* dos pulsotipos foi realizada através da aplicação do coeficiente Dice para comparação dos diferentes perfis.

Resultados e discussão

A maior parte dos casos de listeriose ocorreu entre maio e agosto de 2015 (n=16) (gráfico 1). Do total de 28 doentes, 10 eram do sexo feminino (sem casos de gravidez associados) e 18 do sexo masculino. A população mais afetada pertencia à faixa etária superior a 65 anos de idade (n=14), seguida do grupo entre os 18 e os 64 anos de idade (n=11). Registaram-se ainda 3 casos em recém-nascidos.

Gráfico 1: Número de casos de listeriose por mês de diagnóstico, 2015.



No total das 28 estirpes de *L. monocytogenes* recebidas no INSA, o serotipo mais comum foi o IVb (85,7%) (tabela 1), um dos mais frequentemente associados a surtos de listeriose humana a nível mundial nos últimos 30 anos (3). Houve ainda 3 (10,7%) estirpes pertencentes ao serotipo IIa e uma (3,6%) ao IIb. Nenhuma das estirpes estudadas apresentou o serotipo IIc.

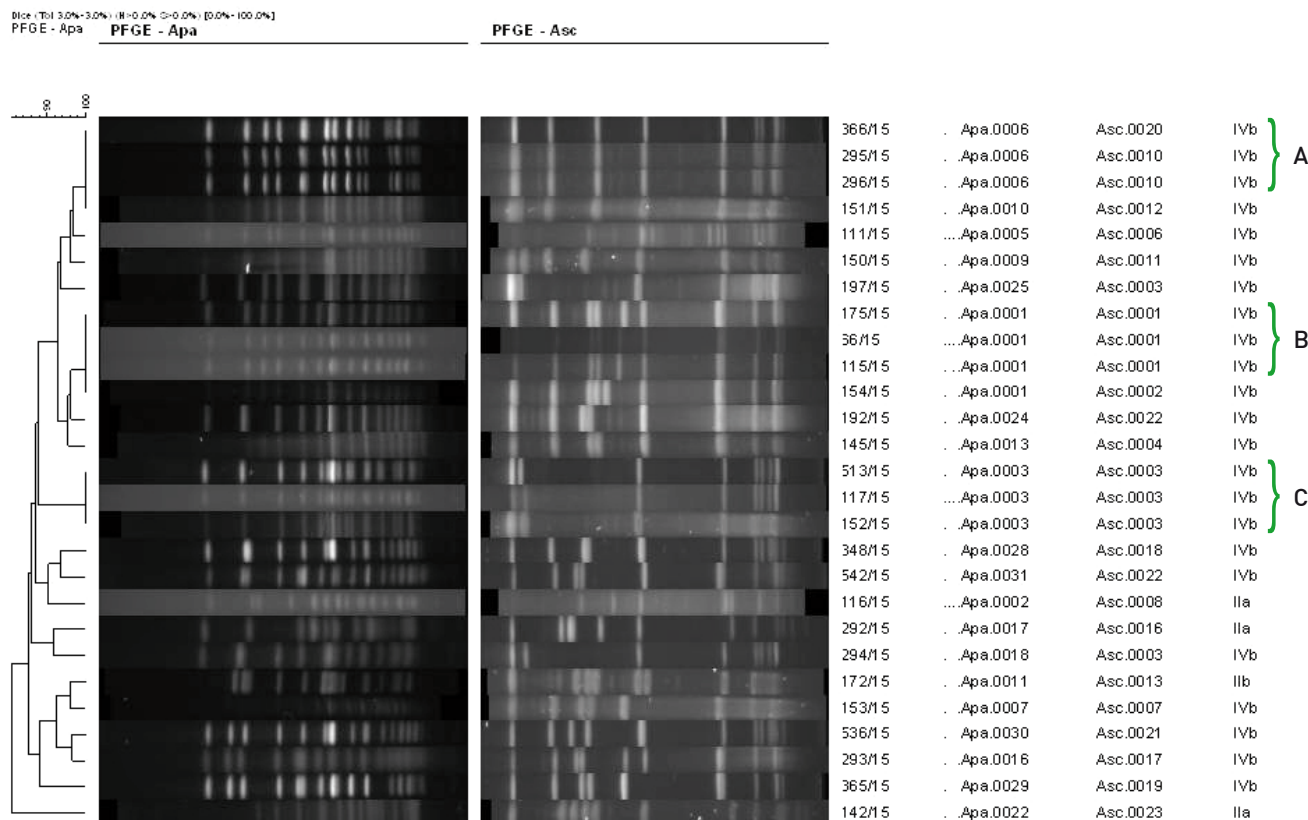
Tabela 1: Número e percentagem de estirpes de *Listeria monocytogenes* por serogrupo, 2015.

Nº (%) de estirpes isoladas por serogrupo				Total
IIa	IIb	IIc	IVb	
3 (10,7)	1 (3,6)	0	24 (85,7)	28 (100)

Vinte e duas das 24 estirpes de *L. monocytogenes* testadas foram sensíveis aos antimicrobianos em apreciação. Uma estirpe apresentou resistência ao meropenemo e outra resistência à eritromicina e ao trimetoprim/sulfametoxazol.

Foi observada uma grande heterogeneidade de perfis de PFGE entre os isolados de *L. monocytogenes* em estudo. Com base na análise combinada dos perfis de PFGE com as enzimas *Apal* e *Ascl*, foram identificados 21 perfis diferentes (figura 1). Destes, 19 ocorreram em apenas um isolado. Foram identificados 3 clusters com perfis de PFGE bastante próximos (*clusters* A, B e C). Relativamente ao cluster A, as 3 estirpes (295/15, 296/15 e 366/15) provinham do mesmo hospital e foram associadas à ocorrência de um surto com origem em géneros alimentícios prontos para consumo. A evidência e investigação deste surto foram complementadas através da sequenciação total do genoma dos isolados. Quanto aos *clusters* B e C, e devido à distância temporal entre os isolamentos das estirpes em ambos os *clusters*, não foi prosseguida a investigação epidemiológica.

Figura 1: ↓ Perfis de PFGE com as enzimas de restrição *ApaI* e *AscI* de 27 estirpes de *Listeria monocytogenes*, 2015.



_Conclusão

Apesar de na última década se ter observado em toda Europa e América do norte uma inversão da frequência do serotipo mais comum, o IVb, para o serotipo IIa (6), verificou-se que neste estudo, o serogrupo IVb foi o mais identificado.

Ainda de acordo com este estudo, constatou-se que relativamente à resistência aos antibióticos apenas duas estirpes apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico.

Considerando que desde 2014 a listeriose é uma doença de notificação obrigatória a nível nacional (8), e que a Portaria nº 22/2016, de 10 de fevereiro, torna obrigatória a notificação laboratorial a partir de 1 de janeiro de 2017, de futuro existirá um melhor conhecimento relativamente à situação da Listeriose em Portugal.

A técnica de PFGE é cada vez menos utilizada nos Laboratórios de Referência a nível europeu, tendo vindo a ser substituída pela sequenciação total do genoma. Neste contexto, também o Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais está apto a utilizar esta nova tecnologia para tipagem das estirpes de *L. monocytogenes* recebidas no INSA.

Agradecimentos:

Os autores agradecem ao CH do Oeste, Laboratório Labco, CH de Lisboa Ocidental, Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca, CH de Lisboa Central, CH de Lisboa Norte, Hospital SAMS e Hospital CUF Infante Santo o envio das estirpes de *Listeria monocytogenes*. Agradecem também ao Dr. Carlos Orta Gomes da ARSLVT pela sua colaboração e disponibilidade e à Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of seven priority food- and waterborne diseases in the EU/EEA, 2010-2012. Stockholm: ECDC, 2015. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/food-and-waterborne-diseases-surveillance-report-2015.pdf>
- (2) European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal 2015;13(12):4329. www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4329
- (3) Lomonaco S, Nucera D, Filippello. The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infect Genet Evol.* 2015;35:172-83.
- (4) Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, et al. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004;42(8):3819-22. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC497638/
- (5) Graves LM, Swaminathan B. PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol.* 2001;65(1-2):55-62.
- (6) Marini E, Magi G, Vincenzi C, et al. Ongoing outbreak of invasive listeriosis due to serotype 1/2a *Listeria monocytogenes*, Ancona province, Italy, January 2015 to February 2016. *Euro Surveill.* 2016;21(17):pii=30217. www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=22460
- (7) Gómez D, Azón E, Marco N, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. *Food Microbiol.* 2014;42:61-5.
- (8) Ministério da Saúde. Direção-Geral da Saúde. Despacho n.º 5681-A/2014, de 29 de abril. DR 2.ª série, n.º 82: 11374-(2)-(20). Retificado pela Declaração de retificação n.º 609-A/2014, de 16 de junho. DR n.º 113/2014, 2.ª série (supl.1):15630-(2)-(20). Notificação obrigatória de doenças transmissíveis e outros riscos em saúde pública. <https://dre.pt/application/file/25705380>

Análise antigénica e genética dos vírus da gripe: inverno 2015/2016

Antigenic and genetic analysis of influenza virus: 2015/2016 winter

Pedro Pechirra, Inês Costa, Patrícia Conde, Paula Cristóvão, Raquel Guiomar

raquel.guiomar@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e Outros Vírus Respiratórios. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

Resumo

A análise antigénica e genética dos vírus da gripe é um dos principais objetivos da vigilância da gripe. Na época de 2015/2016, foram caracterizadas antigénica e geneticamente, 210 e 139 estirpes virais, respetivamente, a partir de amostras biológicas recebidas através do Programa Nacional de Vigilância da Gripe e da Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe. Os vírus do subtipo A(H1)pdm09, predominantes em circulação nesta época foram antigénicamente semelhantes à estirpe incluída na vacina antigripal 2015/2016. A sua caracterização genética revelou que a maioria pertence ao novo subgrupo genético 6B.1 com 4 importantes alterações na sequência peptídica da hemaglutinina em relação à estirpe vacinal. Os vírus B/Victoria, detetados no fim da epidemia de gripe, apesar de pertencerem ao grupo 1A apresentam já alguma divergência antigénica e genética em relação à estirpe B/Brisbane/60/2008 que será incluída na vacina antigripal para 2016/2017. Os vírus do subtipo A(H3), detetados em numero reduzido ao longo da época distribuíram-se pelos grupos genéticos 3C.2a e 3C.3a, com 7 e 2 substituições de aminoácidos importantes em relação à estirpe vacinal 2015/2016, respetivamente. Os vírus A(H3) caracterizados foram semelhantes antigénicamente à futura estirpe vacinal 2016/2017.

Abstract

Antigenic and genetic analysis of influenza viruses is one of the main objectives of influenza surveillance. During 2015/2016 season were antigenically and genetically characterized 210 and 139 viral strains, respectively, from biological products received in the scope of the National Program for Influenza Surveillance and from the Portuguese Laboratories Network for the Diagnosis of Influenza. Viruses from A(H1)pdm09 subtype, predominant in circulation this season, were antigenically similar to the strain included in the 2015/2016 influenza vaccine. Their genetic characterization revealed that most of them belong to the new genetic subgroup 6B.1 with 4 important changes in hemagglutinin peptide sequence when comparing to the vaccine strain. B/Victoria viruses, detected at the end of influenza epidemics, despite belonging to the group 1A, present some antigenic and genetic diversity in relation to B/Brisbane/60/2008 which will be included in the 2016/2017 influenza vaccine. Subtype A(H3) viruses, detected in reduced numbers throughout the season, have clustered in 3C.2a and 3C.3a genetic groups, with 7 and 2 important amino acid substitutions in relation to the vaccine strain 2015/2016. Characterised A(H3) viruses were antigenically similar to the future 2016/2017 vaccine strain.

Introdução e objetivo

A vigilância laboratorial da gripe em Portugal tem como objetivo principal, não só a deteção dos vírus da gripe em circulação, mas também a sua caracterização antigénica e genética. Utilizando os métodos virológicos convencionais e a biologia molecular, o Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e Outros Vírus Respiratórios (LNRVG) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge analisa os vírus da gripe detetados em ambas as vertentes: antigénica e genética. Esta monitorização é essencial para que o LNRVG possa responder à sua função de Laboratório Nacional de Referência, atribuída pela Organização Mundial de Saúde, e assumir a sua responsabilidade como laboratório coordenador da Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe (RPLDG). O presente estudo descreve as características antigénicas e genéticas dos vírus da gripe identificados em Portugal no inverno de 2015/2016.

Material e métodos

Durante a época de vigilância da gripe de 2015/2016, o LNRVG pesquisou a presença do vírus da gripe em 1107 exsudados nasofaríngeos, com origem nas redes que suportam a vigilância laboratorial da gripe: Rede Médicos-Sentinela, Rede de Serviços de Urgência, Rede de Serviços de Obstetrícia e Projecto EuroEVA (Efetividade da vacina antrigripal na Europa). O diagnóstico laboratorial foi efetuado por RT-PCR multiplex em tempo real, permitindo a deteção e identificação dos tipos e subtipos do vírus da gripe [A(H1)pdm09, A(H3), B/Yamagata e B/Victoria]. Os laboratórios da RPLDG efetuaram a pesquisa do vírus da gripe igualmente por metodologias de biologia molecular. Para a caracterização antigénica procedeu-se ao isolamento viral em linha celular MDCK-Siat1 e à inibição da

hemaglutinação por antissoros monoclonais para as estirpes vacinais e de referência. A caracterização genética foi baseada na sequenciação pelo método de Sanger da região codificante da subunidade HA1 da hemaglutinina. A análise filogenética foi efetuada utilizando o programa MEGA6 (1).

Resultados

A presença do vírus da gripe foi detetado em 41% (449/1107) destes casos de síndrome gripal. A Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe (RPLDG) efetuou a pesquisa laboratorial do vírus da gripe em 7443 amostras respiratórias, tendo detetado em 1458 (1458/7443; 20%) amostras o vírus da gripe (2).

Os vírus da gripe caracterizados na época 2015/2016 refletem a circulação dos tipos e subtipos dos vírus da gripe detetados no início, período epidémico e final da época gripal. Uma seleção de 146 amostras respiratórias de casos de infeção respiratória grave e positivas para o vírus da gripe provenientes da RPLDG foi recebida no LNRVG para caracterização antigénica e genética dos vírus da gripe.

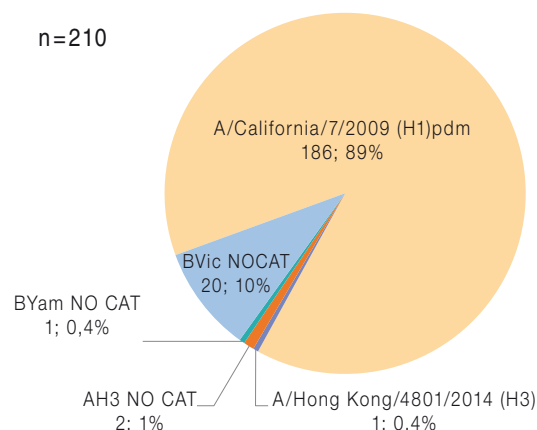
O vírus A(H1)pdm09 constituiu a maioria (90,4%) dos vírus da gripe detetados, tendo cocirculado na fase final da epidemia de gripe com o vírus do tipo B (linhagem Victoria). Os vírus A(H3) e B (linhagem Yamagata) foram detetados ao longo da época em número reduzido.

Caraterização antigénica

Ao longo da época de gripe 2015/2016, foram isolados e caracterizados antigenicamente 210 estirpes virais. A maioria (186/210; 89%) das estirpes virais foram do subtipo A(H1)pdm09 e semelhantes antigenicamente à estirpe vacinal de 2015/2016, A/California/7/2009 (Figura 1). Os vírus do tipo B (linhagem Victoria), detetados essencialmente no final da época de gripe, foram distintos da estirpe vacinal de 2015/2016, B/Phuket/3073/2013 (da linhagem Yamagata). Os vírus B/Victoria caracterizados (20/210; 10%) apresentaram também alguma divergência antigénica quando comparados com a futura estirpe vacinal 2016/2017 para o hemisfério norte, B/Brisbane/60/2008 (gráfico 1). Foram ainda caracterizadas antigenicamente 3 estirpes virais do subtipo A(H3) e uma do vírus B da linhagem Yamagata, todas distintas antigenicamente das estirpes incluídas na vacina antigripal

2015/2016 (gráfico 1). Das 3 estirpes virais A(H3), uma foi semelhante à futura estirpe vacinal 2016/2017, A/Hong Kong/4801/2014, enquanto que para os outros 2 vírus A(H3) não foi encontrada qualquer semelhança com as estirpes vacinais e de referência estudadas.

Gráfico 1: Caraterização antigénica dos vírus da gripe, inverno 2015/2016.



AH3 NO CAT - Vírus da gripe A(H3) diferentes antigenicamente de A/Hong Kong/4801/2014 e de A/Switzerland/9715293/2013. BYam NO CAT - Vírus da gripe B (linhagem Yamagata) diferentes antigenicamente de B/Phuket/3073/2013. B/Vic NO CAT - Vírus da gripe B (linhagem Victoria) diferentes antigenicamente de B/Brisbane/60/2008.

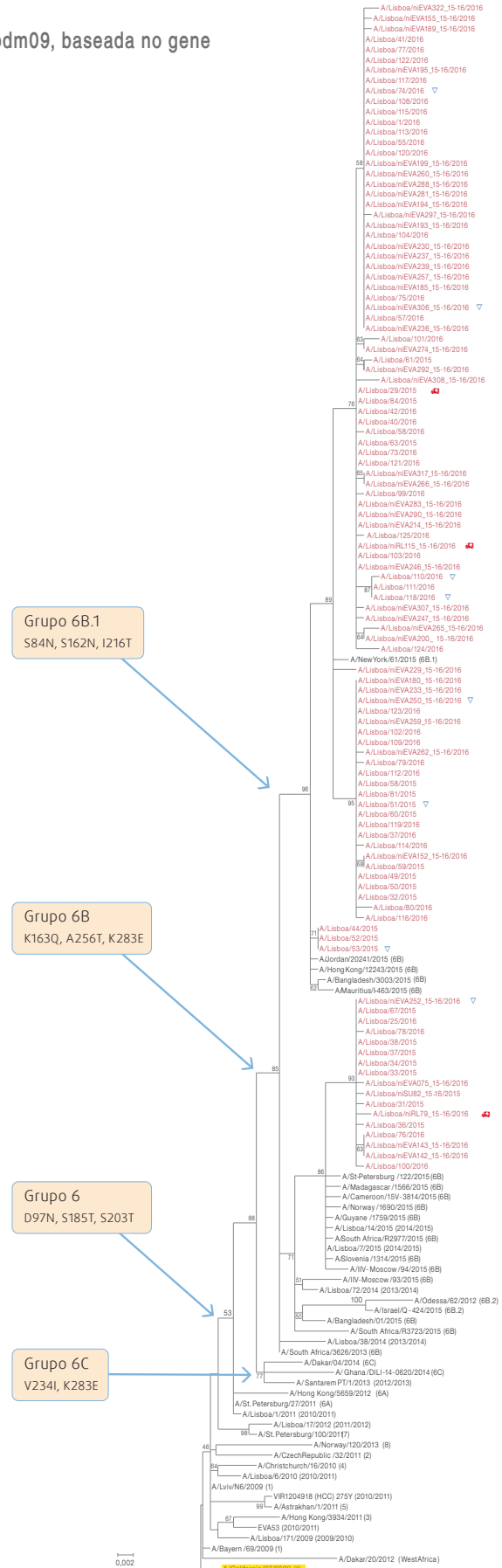
Caraterização genética

Durante a epidemia de gripe de 2015/2016, entre as semanas 47/2015 (novembro 2015) e 14/2016 (abril 2016) foram caracterizados geneticamente 139 vírus da gripe: 108 do subtipo H1pdm09, 17 B/Victoria, 10 A(H3) e 4 B/Yamagata.

Todos os vírus A(H1) pandémicos caracterizados geneticamente (figura 1) pertencem ao grupo genético 6B (representados pela estirpe de referência A/South Africa/3626/2013), sendo que a maioria (88/108; 81,4%) agrupou no novo subgrupo genético 6B.1 (representado pela estirpe A/New York/61/2015). Os vírus do novo subgrupo 6B.1 começaram a ser detetados a partir da semana 51/2015 (dezembro 2015) e no gene da hemaglutinina (subunidade HA1) foram observadas 11 substituições de aminoácidos quando comparado com a estirpe A/California/7/2009 (estirpe vacinal), sendo que 4 dos aminoácidos se encontram em locais antigénicos da glicoproteína viral (S162N, K163Q, S185T, S203T).

Figura 1: ↓ Árvore filogenética dos vírus da gripe A(H1N1)pdm09, baseada no gene da hemaglutinina (subunidade HA1).

Árvore filogenética obtida pelo método da Máxima Verossimilhança segundo o modelo Hasegawa-Kishino-Yano de distâncias evolutivas com 500 réplicas de bootstrap. Os vírus caracterizados estão representados a vermelho. As estirpes de referência estão representadas a preto. A estirpe vacinal 2015/2016 está sublinhada a amarelo. São mostrados os valores de bootstrap superiores a 50. ▽ - casos considerados imunizados; 🏠 - casos graves ou internados. Algumas estirpes de referência têm indicado o seu grupo filogenético entre parêntesis (baseado na filogenia do gene da hemaglutinina).

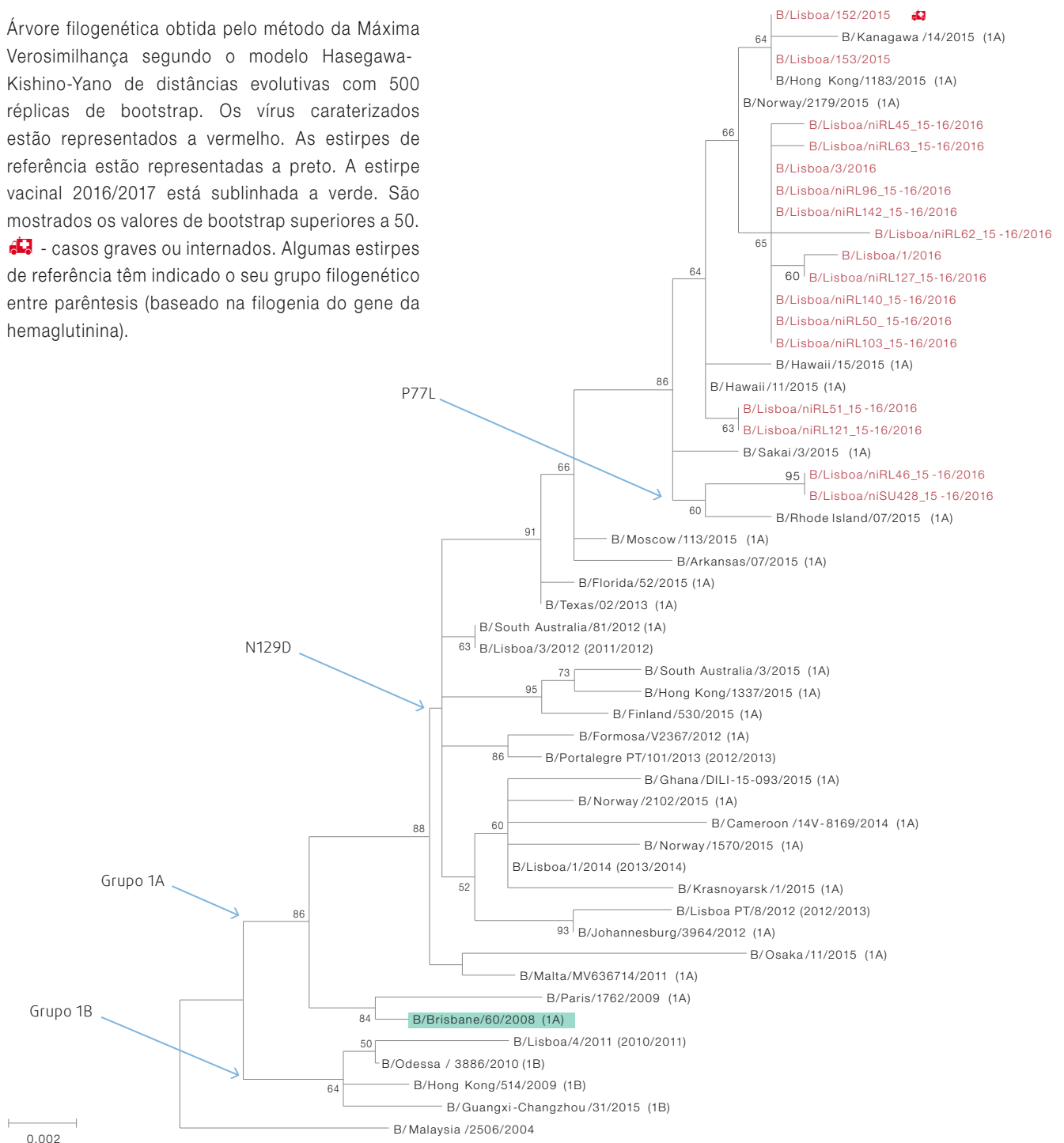


As 17 estirpes do vírus B/Victoria caracterizadas (figura 2) foram detetadas em circulação na fase final da epidemia de gripe, entre as semanas 4 e 14 de 2016 (janeiro a abril 2016). Todas as estirpes pertenciam ao grupo genético 1A (representado

pela estirpe vacinal 2016/2017, B/Brisbane/60/2008) e apresentavam de 2 a 3 substituições na sequência polipeptídica da hemaglutinina em relação a B/Brisbane/60/2008, encontrando-se pelo menos uma num local antigénico (N129D).

Figura 2: 📄 Árvore filogenética dos vírus da gripe B/Victoria, baseada no gene da hemaglutinina (subunidade HA1).

Árvore filogenética obtida pelo método da Máxima Verosimilhança segundo o modelo Hasegawa-Kishino-Yano de distâncias evolutivas com 500 réplicas de bootstrap. Os vírus caracterizados estão representados a vermelho. As estirpes de referência estão representadas a preto. A estirpe vacinal 2016/2017 está sublinhada a verde. São mostrados os valores de bootstrap superiores a 50. 🚑 - casos graves ou internados. Algumas estirpes de referência têm indicado o seu grupo filogenético entre parêntesis (baseado na filogenia do gene da hemaglutinina).

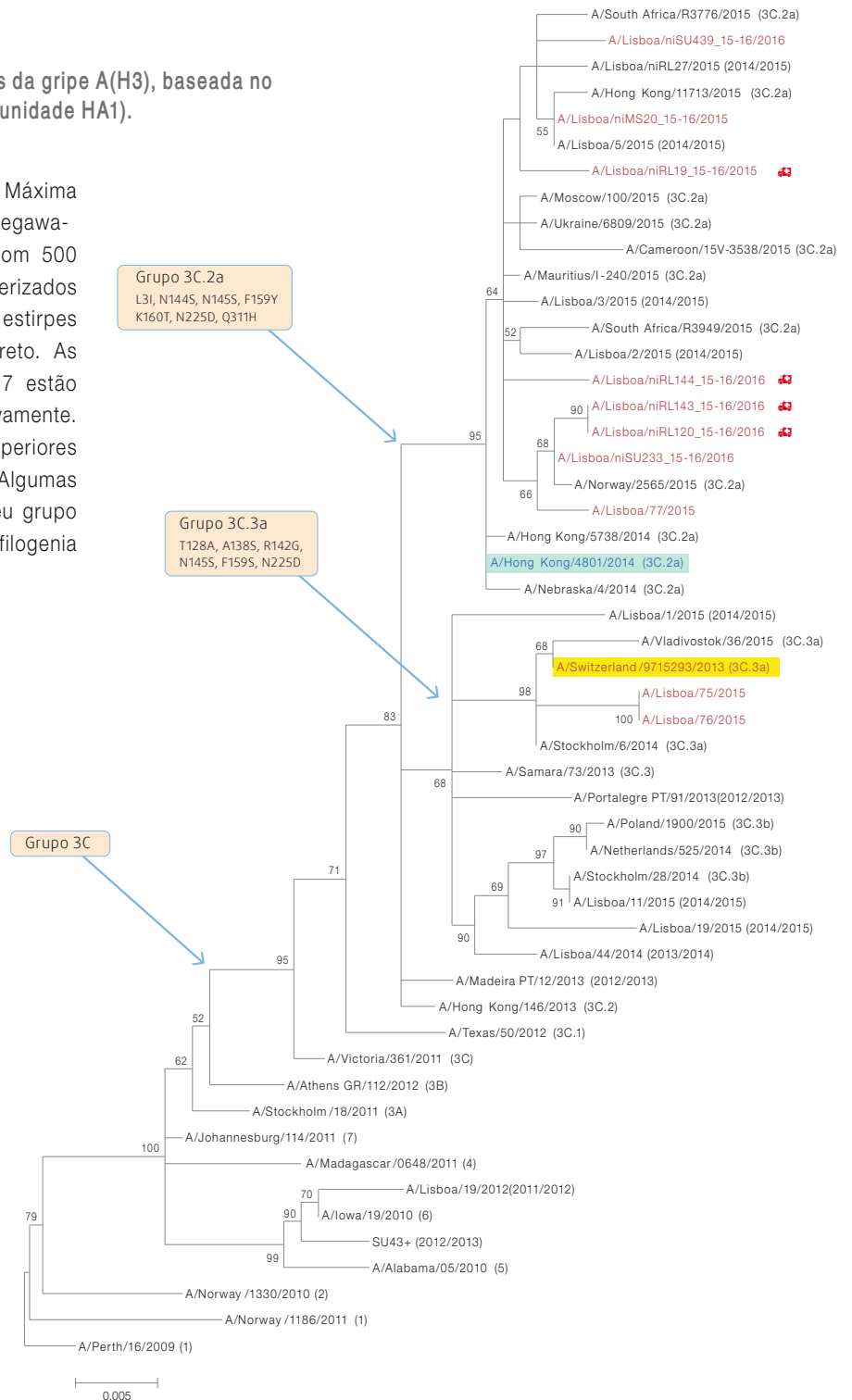


As 10 estipes virais do subtipo A(H3) agruparam-se em 2 diferentes grupos genéticos (figura 3): no grupo 3C.3a (representado pela estirpe vacinal 2015/2016, A/Switzerland/9715293/2013) e no grupo 3C.2a (representado pela estirpe vacinal 2016/2017, A/Hong Kong/4801/2014). Os vírus do grupo 3C.3a revelaram 3 substituições de aminoácidos relativamente a

A/Switzerland/9715293/2013, das quais 2 em locais antigénicos (E50K e Y94E). Por sua vez, os vírus 3C.2a revelaram 10 substituições de aminoácidos em relação à estirpe vacinal 2015/2016, das quais 7 em locais antigénicos (A128T, S138A, G142K/R, S159Y, K160T, Q197R/K, Q311H).

Figura 3: 📌 Árvore filogenética dos vírus da gripe A(H3), baseada no gene da hemaglutinina (subunidade HA1).

Árvore filogenética obtida pelo método da Máxima Verosimilhança segundo o modelo Hasegawa-Kishino-Yano de distâncias evolutivas com 500 réplicas de bootstrap. Os vírus caracterizados estão representados a vermelho. As estirpes de referência estão representadas a preto. As estirpes vacinais 2015/2016 e 2016/2017 estão sublinhadas a amarelo e a verde, respetivamente. São mostrados os valores de bootstrap superiores a 50. 🏠 - casos graves ou internados. Algumas estirpes de referência têm indicado o seu grupo filogenético entre parêntesis (baseado na filogenia do gene da hemaglutinina).



Por último, as 4 estirpes do vírus B/Yamagata caracterizadas geneticamente pertenciam ao grupo genético 3 (representado pela estirpe vacinal 2015/2016, B/Phuket/3073/2013) e todas apresentaram a substituição L172Q, sendo que a estirpe B/Lisboa/151/2015 apresentou 2 substituições adicionais (M71T e G238R, esta última em local antigénico).

Discussão e conclusão

No inverno 2015/2016, o vírus da gripe predominante (406/449; 90,4%) em circulação foi o A(H1)pdm09, que se mostrou semelhante à estirpe vacinal A/California/7/20093. A maioria dos vírus pandémicos (88/108; 81,5%) agrupou no novo subgrupo genético 6B.1. Este novo subgrupo foi também o mais frequentemente detetado na maioria dos países europeus, quando comparado com os vírus do grupo 6B.2, também emergente na época 2015/2016 na Europa e hemisfério norte (2,4).

Os vírus do tipo B foram na sua maioria da linhagem Victoria, antigenicamente distinta da estirpe vacinal B/Phuket/3073/2013, situação observável também na Europa e América do norte (4-6). Acrescente-se que, estes vírus apresentam já alguma divergência antigénica relativa à estirpe vacinal para 2016/2017 – B/Brisbane/60/2008 (7).

Por sua vez, os vírus A(H3) em estudo foram antigenicamente distintos da estirpe vacinal 2015/20163 – A/Switzerland/9715293/2013 mas semelhantes à estirpe vacinal para 2016/2017 – A/Hong Kong/4801/2014 (7). Este subtipo viral foi detetado com baixa frequência na Europa (à exceção da Eslovénia onde foi o predominante) (8,9). Não foram observadas diferenças nas sequências nucleotídica da região HA1 entre os casos provenientes de cuidados de saúde primários e casos mais graves da doença, resultantes dos internamentos hospitalares. Situação semelhante observou-se nos casos de gripe entre a população vacinada e não vacinada.

Agradecimentos:

A todos os médicos da Rede Médicos-Sentinela, Projeto EuroEva/IMOVE, Rede de Serviços de Urgência e Obstetrícia, Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe que participaram no Programa Nacional de Vigilância da Gripe em 2015/2016; Aos Colegas do Departamento de Epidemiologia (Ana Paula Rodrigues, Ausenda Machado, Baltazar Nunes, Verónica Gomez, Inês Batista, Rita Roquette, Irina Kislaya); Aos Colegas do Laboratório de cultura de tecidos do Departamento Doenças Infecciosas (Carla Roque e Carlos Ribeiro); Aos Colegas da Unidade de Tecnologia e Inovação do Departamento de Genética (Daniel Ataíde Sampaio, Dina Carpinteiro, Joana Mendonça, Sílvia Duarte e Luís Vieira); À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013;30(12):2725-9. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3840312/
- (2) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge; Direção-Geral da Saúde (colab). Programa Nacional de Vigilância da Gripe: relatório da época 2015/2016. Lisboa: INSA, 2016. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4044>
- (3) World Health Organization. Influenza: recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2016-2017 northern hemisphere influenza season, 25 February 2015 [Em linha]. (consult. 26/10/2016). www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2015_16_north/en/
- (4) European Centre for Disease Prevention and Control. Influenza virus characterisation: summary Europe. Stockholm: ECDC, 2016. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-virus-characterisation-july-2016.pdf>
- (5) Centre for Disease Prevention and Control. Flu activity and surveillance [Em linha]. (consult. 26/10/2016). <http://cdc.gov/flu/weekly/fluactivitysurv.htm>
- (6) Government of Canada. Weekly reports 2015-2016 season [Em linha]. (consult. 26/10/2016). <http://healthycanadians.gc.ca/diseases-conditions-maladies-affections/disease-maladie/grippe-surveillance/reports-season-2015-2016-saison-rapports-eng.php>
- (7) World Health Organization. Influenza: recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2016-2017 northern hemisphere influenza season, 25 February 2016 [Em linha]. (consult. 26/10/2016). www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2016_17_north/en/
- (8) FluNewsEurope: Joint ECDC/WHO Weekly influenza update (week 20/2016). [Em linha]. (consult. 26/10/2016). <https://flunewseurope.org/Archives>
- (9) European Centre for Disease Prevention and Control. Seasonal influenza 2015-2016 in the EU/EEA countries. Stockholm: ECDC, 2016. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/seasonal-influenza-risk-assessment-2015-2016.pdf>

AEQ na quantificação da hemoglobina: desempenho analítico a longo prazo de trinta laboratórios portugueses

EQA total haemoglobine quantification: long-term analytical performance for thirty Portuguese laboratories

Armandina Miranda¹, Helena Correia¹, Ana Cardoso¹, Cristina Brito¹, Vera Clemente¹, Susana Silva¹, Piet Meijer², Ana Faria¹

pnaeq@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Avaliação Externa da Qualidade. Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(2) External Quality Control for Assays and Tests - ECAT Foundation, The Netherlands.

_Resumo

É importante para os laboratórios clínicos avaliarem o desempenho dos seus métodos ao longo do tempo. O principal objetivo deste estudo foi a aplicação de um modelo de regressão linear para avaliação a longo prazo, do desempenho dos laboratórios na quantificação da hemoglobina, comparando os resultados individuais do laboratório com a média de consenso de cada ensaio, após a exclusão de *outliers*. Para avaliar o desempenho do laboratório foram calculados o coeficiente de variação analítico a longo prazo (LCVa) e o Bias total analítico. O modelo de regressão linear foi aplicado aos resultados quantitativos da hemoglobina para avaliar o desempenho analítico a longo prazo de trinta laboratórios que participam no programa de avaliação externa da qualidade PNAEQ (2014-2016), utilizando os resultados de doze amostras de sangue em EDTA, com diferentes concentrações de hemoglobina. Os participantes foram selecionados aleatoriamente, sendo incluídos laboratórios hospitalares e ambulatoriais. As variáveis introduzidas para avaliar o desempenho a longo prazo neste modelo foram o CV analítico a longo prazo (LCVa) e o Bias total analítico. Dois laboratórios foram excluídos da análise. Foi determinado o número de laboratórios que cumpriram os objetivos de desempenho analítico definido com base na variação biológica. A mediana do LCVa foi de 1,4% (variação de 0,4% -3,4%). O LCVa foi 0,58 vezes inferior à variação biológica total (teste de diagnóstico) para todos os laboratórios (100%) e foi 0,5 vezes inferior à variação biológica intraindividual (teste de monitorização) em 62% dos laboratórios. A mediana do Bias total foi de 1,1% (variação de 0,1% -3,3%), sendo que 83% dos laboratórios apresentaram um Bias total inferior a 0,25 da variação biológica total. A participação em programas de avaliação externa da qualidade é de extrema importância, uma vez que fornece informações ao laboratório sobre o desempenho do seu método tanto numa única análise, bem como ao longo do tempo e permite a avaliação da necessidade de melhoria.

_Abstract

It is important for medical laboratories to know about the stability and performance of their methods over the time. The main objective of this study was to apply a linear regression model for long-term evaluation of the performance of laboratories in haemoglobin quantification by comparing the laboratory individual results with the consensus mean of each round, after outliers exclusion. To evaluate the performance of the laboratory, the long term analytical CV (LCVa) and the total analytical bias were established. A linear regression model was applied to quantitative haemoglobin results to evaluate the long-term analytical performance of thirty laboratories that participate in the PNAEQ external quality assessment programme (2014-2016), using the results of twelve blood EDTA samples with different hemo-

globin concentrations. Participants were randomly selected concerning laboratories from hospital and ambulatory. The variables introduced to define the long-term performance in this model were the long-term analytical CV (LCVa) and total analytical Bias. Two laboratories were excluded from the analysis (one outlier and one that uses point-of-care equipment). We evaluate also the number of laboratories that fulfill the widely accepted analytical performance goals based on the biological variation. The median LCVa was 1.4% (range 0.4%-3.4%). The LCVa was less than 0.58 times the total biological variation (diagnostic testing) for all laboratories (100%) and was less than 0.5 times the within biological variation (monitoring testing) in 62 % of the laboratories. The median Total Bias was 1.1% (range 0.1%-3.3%). 83% of the laboratories had a total bias less than 0.25 of the total biological variation. Participation in External Quality Assessment schemes is of extreme importance, as it provides information to the laboratory about its own method performance both in a single survey as well as over time and allows the evaluation of the needs for improvements.

_Introdução e objetivo

A quantificação da hemoglobina (Hb) total é um dos testes laboratoriais mais frequentemente solicitados, tanto ao nível hospitalar como no ambulatório, uma vez que permite identificar a presença de anemia na população e orientar para diagnósticos clínicos e intervenções terapêuticas. É por isso extremamente importante para os laboratórios clínicos a avaliação do desempenho dos seus métodos analíticos. Para esta avaliação muito contribuem os programas de avaliação externa da qualidade (AEQ). Estes foram introduzidos para melhorar a comparabilidade e harmonização de resultados entre laboratórios, sendo considerados um componente essencial dos sistemas de gestão da qualidade. Os resultados obtidos na participação em AEQ são utilizados para determinar e avaliar o desempenho dos métodos analíticos ao longo do tempo.

O Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ) disponibiliza quatro ensaios de Contagem Celular por

ano, cada um com duas amostras, no sentido de permitir aos laboratórios clínicos avaliarem o desempenho do seu método ao longo do tempo.

A regressão linear é frequentemente aplicada, na monitorização do desempenho dos laboratórios, e quando assumida a sua linearidade, constitui um modelo de fácil aplicação para determinação dos erros aleatórios e sistemáticos.

O principal objetivo deste estudo foi efetuar a avaliação do desempenho a longo prazo dos laboratórios na quantificação da hemoglobina, pela aplicação de um modelo de regressão linear, comparando os resultados individuais de cada laboratório com a média de consenso obtida em cada ensaio, após a exclusão de *outliers*. Para avaliar o desempenho do laboratório, foram utilizados o CV analítico a longo prazo (LCVa) e o BIAS total analítico.

_ Métodos

Foram selecionados 30 laboratórios entre os participantes no programa de Contagem Celular do PNAEQ (2014-2016) para avaliação do seu desempenho analítico. Destes 30 laboratórios 20 eram de ambulatório e 10 hospitalares. Dois dos laboratórios foram posteriormente excluídos da análise (1 *outlier* e um participante com equipamento de *point-of-care*).

Foram utilizados os resultados de doze amostras controlo de sangue em EDTA com diferentes concentrações de hemoglobina a partir de 6 ensaios (2 amostras em cada).

Aos resultados quantitativos da hemoglobina foi aplicado um modelo de regressão linear de modo a avaliar o desempenho analítico a longo prazo de cada um dos laboratórios. Foi também avaliado o número de laboratórios que cumpriram os objetivos de desempenho analítico amplamente aceites com base na variação biológica (1,2).

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Microsoft Excel, especificamente a folha de cálculo "Long-term calculation file" fornecido por Piet Meijer (3).

_ Resultados e discussão

Os valores de consenso utilizados na análise são apresentados na **tabela 1**.

Tabela 1: Valores de consenso, CV interlaboratorial e número de *outliers* para as 12 amostras utilizadas no estudo.

Ensaio/ amostra	Nº de participantes	Valor consenso, g/L	CV, %	Nº de <i>outliers</i>
4114	65	65,2	2,47	8
4214	65	136,9	1,78	7
1115	72	137,7	1,45	9
1215	72	93,3	1,66	10
2115	70	151,5	3,05	3
2215	70	170,4	5,58	3
3115	75	106,8	2,20	4
3215	75	150,3	2,02	4
4115	76	135,5	2,14	3
4215	76	135,4	2,19	4
1116	66	128,0	1,51	5
1216	66	135,0	1,23	5

A mediana do LCVa foi de 1,4% (variação 0,4%-3,1%) e do BIAS analítico total 1,1% (variação 0,1%-3,3%) (**tabela 2**). A frequência de distribuição do LCVa e do BIAS analítico total dos laboratórios encontra-se representada nos histogramas dos **gráficos 1 e 2**.

Tabela 2: Análise descritiva dos resultados do CV analítico a longo prazo e do BIAS analítico total.

	LCVa, %	Bias, %
n	28	28
Média	1,4	1,3
Mediana	1,4	1,1
Variação (min-max)	0,4-3,1	0,1-3,3

artigos breves_ n. 7

Gráfico 1: Histograma dos valores individuais de LCVa (%) para a hemoglobina para os 28 laboratórios incluídos no estudo.

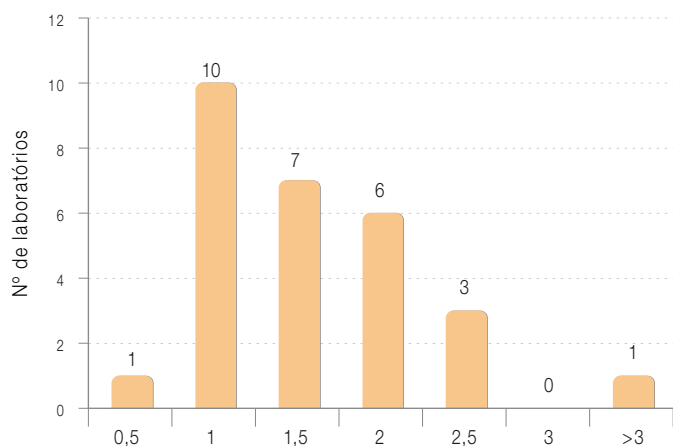


Gráfico 2: Histograma dos valores individuais do Bias analítico total (%) para a hemoglobina para os 28 laboratórios incluídos no estudo.

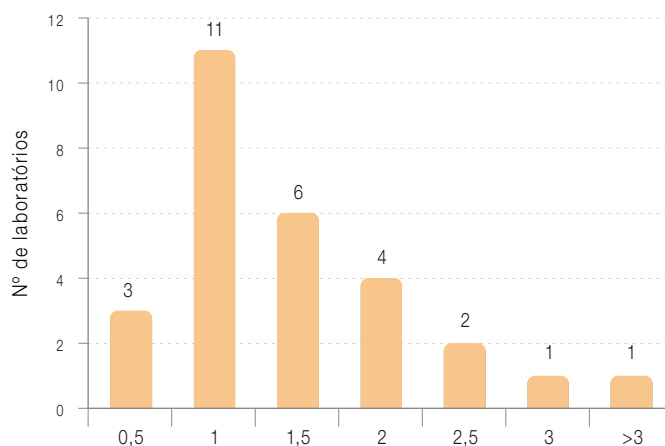


Tabela 3: Objetivos de desempenho desejáveis e especificações da qualidade para a hemoglobina e percentagem de laboratórios que cumprem os objetivos de desempenho desejáveis.

	Objetivos de desempenho desejáveis Hb	Especificações da qualidade Hb	Laboratórios que cumprem os objetivos de desempenho desejáveis %
Imprecisão (diagnóstico) %	$< 0,58 CV_t (\sqrt{CV_i^2 + CV_b^2})$	4,3	100
Imprecisão (monitorização) %	$< 0,5 CV_i$	1,4	62
Bias analítico Total %	$0,25 \sqrt{CV_i^2 + CV_b^2}$	1,8	83

CV_t – variação biológica total; CV_i – variação biológica intra individual; CV_b – variação biológica inter individual

De acordo com os objetivos de desempenho desejáveis, o LCVa foi 0,58 vezes inferior à variação biológica total (diagnóstico) para todos os laboratórios (100%) e foi inferior a 0,5 vezes a variação biológica intra individual (monitorização) em 62 % dos laboratórios. 83% dos laboratórios obteve um Bias analítico total inferior a 0,25 da variação biológica total (tabela 3).

Conclusões

De acordo com os resultados, o desempenho global na quantificação da hemoglobina foi satisfatório. Todos os laboratórios avaliados cumpriram as especificações da qualidade para a imprecisão (de diagnóstico) e 83% para o Bias analítico total. No entanto, apenas 62% cumpriram a especificação da qualidade para a imprecisão (monitorização). É por isso importante sensibilizar para a harmonização de procedimentos analíticos, nomeadamente calibração de equipamentos e monitorização contínua das boas práticas laboratoriais.

A participação em programas de avaliação externa da qualidade é de extrema importância, uma vez que fornece informações ao laboratório sobre o desempenho do seu método numa única análise, bem como ao longo do tempo, permitindo a avaliação das necessidades de melhoria. É altamente recomendado a investigação interna de resultados da avaliação externa da qualidade significativamente discordantes, visando a melhoria contínua dos serviços laboratoriais e contribuindo de forma efetiva para o diagnóstico e tratamento dos doentes.

Referências bibliográficas:

- (1) Westgard QC. Desirable Biological Variation Database specifications [Em linha]. (consult. 17/10/2016). www.westgard.com/biodatabase1.htm
- (2) Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Libeer JC, et al. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. *Ann Clin Biochem.* 1997;34 (Pt 1):8-12. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2009.023>
- (3) Meijer P, de Maat MP, Klufft C, et al. Long-term analytical performance of hemostasis field methods as assessed by evaluation of the results of an external quality assessment program for antithrombin. *Clin Chem.* 2002;48(7):1011-5. <http://clinchem.aaccjnls.org/content/48/7/1011.long>

Influência dos fatores socioeconómicos no excesso de peso e obesidade na população portuguesa em 2014

Influence of socioeconomic factors in overweight and obesity in the Portuguese population in 2014

Joana Santos, Irina Kislaya, Vânia Gaio

joana.santos@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Pública Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

_Resumo

O excesso de peso e a obesidade afetam mais de metade da população mundial e a sua distribuição é condicionada por fatores de ordem biológica, comportamental e socioeconómica. Neste estudo é reportada a associação entre grupo etário, quintil de rendimento e nível de escolaridade e as prevalências de excesso de peso e obesidade na população portuguesa em 2014. Foram utilizados os dados da amostra (n=18204) do Inquérito Nacional de Saúde de 2014. As prevalências de excesso de peso e de obesidade tiveram por base o cálculo do Índice de Massa Corporal. Foi feita uma análise estratificada por sexo, utilizando um modelo de regressão logística multinominal considerando as covariáveis grupo etário, quintil de rendimento e nível de escolaridade. Constatou-se que a idade é um fator de risco para ambos os sexos. O nível de escolaridade também se encontra associado ao excesso de peso e obesidade, especialmente no sexo feminino, dado que as mulheres com ensino superior apresentam um menor risco de desenvolver excesso de peso (RRR=0,41, IC95%: 0,28-0,59) e obesidade (RRR=0,19, IC95%: 0,12-0,31), comparativamente às mulheres com ensino pré-escolar. Um maior nível de escolaridade é um fator protetor no excesso de peso e obesidade. A longo prazo, devem ser consideradas abordagens holísticas e intersectoriais na prevenção destas condições de saúde, nomeadamente através do aumento do nível de escolaridade da população.

_Abstract

More than half of the world population is overweight or obese. Biological, behavioural and socioeconomic factors contribute to its distribution. This study reports the association between overweight and obesity prevalence and age group, income and education in the Portuguese population in 2014. Data from the National Health Survey 2014 sample was used (n=18204). Overweight and obesity prevalence was estimated according to the Body Mass Index. Statistical analysis was stratified by sex and a logistic regression model was applied for age group, income and education levels. Age is a risk factor for both genders. We found education to be associated with overweight and obesity for women. Women with higher education have less risk to be overweight (RRR=0,41 IC95%: 0,28-0,59) and obese (RRR=0,19, IC95%: 0,12-0,31) than women with any education level. Higher education levels are protective in overweight and obesity. Holistic and intersectorial approaches in policy planning might contribute to prevent that health condition. For the long term, may be worthwhile to consider raising educational levels within the population.

_Introdução

O excesso de peso e a obesidade, definidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma acumulação excessiva ou anormal de gordura capaz de afetar a saúde, representam um problema de saúde pública que afeta mais de metade da população mundial (1). O índice de massa corporal (IMC) é o instrumento mais utilizado para avaliar esta condição e valores de IMC elevados são considerados um fator de risco para doenças cardiovasculares, diabetes, desordens músculo-esqueléticas e alguns tipos de cancro (1), as quais lideram as principais causas de morte e incapacidade mundialmente.

Em Portugal tem-se verificado um aumento da prevalência de excesso de peso e obesidade. Um estudo realizado com medições antropométricas revelou que, em 1998, cerca de 35,2% da população portuguesa tinha excesso de peso e 14,4% eram obesos (3). Em 2003/2005, estes valores foram de 38,8% e 13,8%, respetivamente, observando-se um aumento da prevalência conjunta do excesso de peso e da obesidade (4). As prevalências apresentadas pelo Inquérito Nacional de Saúde de 2005/2006 e de 2014, baseados em dados autorreportados, vão de encontro a estes resultados tendo-se verificado um aumento das pessoas com excesso de peso ou obesidade, de 50,9% para 52,8% entre 2005 e 2014 (5).

Um aporte calórico excessivo relativamente às necessidades diárias do individuo e hábitos sedentários são comportamentos de risco para o excesso de peso e obesidade (1). Fatores socioeconómicos como a educação ou o rendimento também têm um papel importante na distribuição desta condição, sendo mediadores na adoção de comportamentos mais saudáveis (2).

_Objetivo

O objetivo deste estudo é analisar a associação entre fatores demográficos (grupo etário) e socioeconómicos (nível de escolaridade e rendimento) e as prevalências de excesso de peso e obesidade na população portuguesa em 2014.

_Materiais e métodos

O presente estudo utiliza dados do Inquérito Nacional de Saúde de 2014 (INS) realizado pelo Instituto Nacional de Estatística em colaboração com Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge numa amostra probabilística representativa da população portuguesa (n=18204).

As estimativas de prevalência de excesso de peso e da obesidade foram obtidas com base no IMC, calculado a partir de peso e altura autorreportados. Considerou-se um IMC igual ou superior a 30 Kg/m² como indicador de obesidade e um IMC entre 25 e 29,9 Kg/m² como indicador de excesso de peso. As mulheres grávidas (n=72) foram excluídas da análise.

Foi feita uma análise estratificada por sexo, utilizando o modelo de regressão logística multinomial incluindo como variável dependente 3 classes de IMC (IMC <25 Kg/m², 25Kg/m² ≤ IMC <30Kg/m², IMC ≥ 30 Kg/m²) e as covariáveis grupo etário, nível de escolaridade e rendimento. Foram calculadas as razões de risco relativo (RRR) para excesso de peso e para a obesidade e todas as estimativas apresentadas encontram-se ponderadas de acordo com o desenho amostral. O tratamento e a análise estatística foram desenvolvidos com recurso ao programa Stata, versão 11.

_Resultados

Homens

A prevalência de excesso de peso e de obesidade nos homens, em 2014, foi de 41,71% [IC95%:40,02-43,43] e 14,90% [IC95%:13,72-16,16] respetivamente (tabelas 1-3).

Excesso de peso: Comparativamente ao grupo etário 15-24 anos o risco de um homem ter excesso de peso era 6,36 vezes superior para o grupo etário 55-64 anos (RRR=6,36). Não foi encontrada associação entre o quintil de rendimento e o excesso de peso. Os homens com ensino superior apresentavam

menor risco de terem excesso de peso (RRR=0,67) comparativamente aos homens apenas com o ensino pré-escolar. O nível de escolaridade surgiu na análise bivariada como fator protetor para o excesso de peso, mas esse efeito deixou de ser significativo após ajustamento para as restantes variáveis.

Obesidade: O risco de obesidade era superior para o grupo etário 55-64 anos (RRR=8,64) relativamente ao grupo etário de homens mais novos, isto é 15-24 anos. Em relação ao nível de escolaridade, verificou-se que os homens com ensino secundário (RRR=0,52) ou superior (RRR=0,39) tinham um menor risco de desenvolver obesidade em relação aos homens apenas com ensino pré-escolar.

Mulheres

A prevalência de excesso de peso e de obesidade nas mulheres, em 2014, foi de 32,18% [IC95%:30,85-33,54] e 17,64% [IC95%:16,57-18,76], respetivamente (tabelas 1-3).

Excesso de peso: As mulheres do grupo etário 65-74 anos tinham um maior risco de sofrer de excesso de peso (RRR=5,62) comparativamente ao grupo de mulheres com idades entre os 15 e os 24 anos. Não foi encontrada associação entre o quintil de rendimento e o excesso de peso mas verificou-se que o nível de escolaridade se encontrava inversamente associado com o excesso de peso nas mulheres. Assim, as mulheres com o nível de escolaridade 3º ciclo do ensino básico (RRR=0,54), secundário (RRR=0,52) e superior (RRR=0,41) apresentavam menor risco de terem excesso de peso comparativamente às mulheres apenas com o ensino pré-escolar.

Obesidade: O risco de sofrer obesidade era 8,58 vezes superior para o grupo etário 55-64 anos comparativamente ao grupo etário 15-24 anos (RRR=8,58). As mulheres pertencentes ao 5º quintil de rendimento (maior) tinham menor risco de serem obesas em comparação com as mulheres do 1º quintil (menor) (RRR=0,67).

O nível de escolaridade encontrava-se associado com a obesidade nas mulheres. Verificamos que as mulheres com o 3º ciclo do ensino básico (RRR=0,41), ensino secundário (RRR=0,34) ou ensino superior (RRR=0,19) apresentavam menor risco de serem obesas relativamente às mulheres apenas com o ensino pré-escolar.

Tabela 1: ▾ Prevalências de excesso de peso e obesidade estratificadas por sexo de acordo com grupo etário, nível de escolaridade e quintil de rendimento, com intervalo de confiança a 95%.

	Excesso de peso		Obesidade	
	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres
Grupo etário				
15-24	18,97 [15,35;23,22]	15,03 [11,88;18,85]	5,32 [3,2;8,72]	5,03 [3,28;7,64]
25-34	35,2 [30,55;40,14]	16,77 [13,81;20,21]	7,98 [5,8;10,9]	10,96 [8,19;14,52]
35-44	43,49 [39,68;47,37]	29,35 [26,33;32,57]	15,33 [12,57;18,57]	13,74 [11,53;16,3]
45-54	45,36 [41,24;49,54]	33,75 [30,45;37,22]	20,62 [17,4;24,26]	21,50 [18,5;24,84]
55-64	50,98 [47,21;54,74]	41,24 [37,64;44,93]	19,66 [16,76;22,92]	26,01 [22,97;29,29]
65-74	49,78 [45,28;54,28]	45,24 [41,94;48,58]	18,91 [15,82;22,44]	25,59 [22,48;28,97]
75+	49,44 [45,11;53,78]	41,31 [37,82;44,9]	15,46 [12,71;18,67]	18,1 [15,44;21,1]
Nível de escolaridade				
Pré-escolar	47,74 [41,99;53,55]	43,61 [39,81;47,48]	20,18 [15,67;25,61]	24,85 [21,91;28,05]
Básico 1 e 2 ciclo	47,25 [44,66;49,85]	40,18 [37,83;42,59]	18,74 [16,75;20,91]	26,24 [24,14;28,45]
Básico 3 ciclo	34,18 [30,95;37,57]	26,31 [23,17;29,71]	15,25 [12,62;18,32]	13,76 [11,35;16,58]
Secundário	39,24 [35,27;43,36]	25,43 [22,53;28,56]	9,70 [7,74;12,09]	11,74 [9,66;14,21]
Superior	40,70 [36,19;45,37]	23,28 [20,22;26,65]	10,06 [7,53;13,3]	7,81 [6,09;9,96]
Quintil de rendimento				
1º (mais baixo)	37,91 [34,17;41,8]	31,82 [28,92;34,87]	15,75 [13,02;18,94]	22,44 [19,94;25,16]
2º	42,20 [38,72;45,76]	35,66 [32,92;38,5]	15,65 [13,28;18,36]	20,12 [17,8;22,66]
3º	40,89 [37,36;44,52]	33,54 [30,58;36,65]	15,92 [13,2;19,07]	17,48 [15,22;20]
4º	43,16 [39,57;46,83]	31,39 [28,31;34,65]	14,62 [12,17;17,47]	16,01 [13,74;18,58]
5º (mais alto)	43,66 [39,91;47,49]	27,85 [24,83;31,09]	12,94 [10,73;15,54]	10,92 [8,74;13,57]

Quintil de rendimento corresponde a quintil do rendimento mensal líquido por adulto equivalente

Tabela 2: ↓ Estimativas de razão de riscos relativos (RRR) no excesso de peso e obesidade de acordo com grupo etário, quintil de rendimento e nível de escolaridade para o sexo masculino em 2014 com intervalo de confiança a 95%.

	RRR bruto excesso de peso			RRR ajustado excesso de peso			RRR bruto obesidade			RRR ajustado obesidade		
	RRR	p-value	IC 95%	RRR	p-value	IC 95%	RRR	p-value	IC 95%	RRR	p-value	IC 95%
Grupo etário												
15-24	ref			ref			ref			ref		
25-34	2,26	<0.001	1,61 3,18	2,53	<0.001	1,80 3,56	1,83	0,072	0,95 3,54	2,26	0,015	1,18 4,35
35-44	3,73	<0.001	2,74 5,09	4,15	<0.001	3,03 5,67	4,69	<0.001	2,63 8,38	5,63	<0.001	3,18 9,95
45-54	4,77	<0.001	3,42 6,65	5,06	<0.001	3,59 7,11	7,73	<0.001	4,43 13,47	8,14	<0.001	4,66 14,22
55-64	6,25	<0.001	4,60 8,50	6,36	<0.001	4,62 8,75	8,60	<0.001	4,74 15,59	8,64	<0.001	4,76 15,67
65-74	5,62	<0.001	3,99 7,93	5,61	<0.001	3,89 8,09	7,62	<0.001	4,17 13,92	7,32	<0.001	3,97 13,52
75+	5,07	<0.001	3,68 6,99	4,87	<0.001	3,42 6,95	5,66	<0.001	3,15 10,16	4,99	<0.001	2,70 9,22
Quintil de rendimento												
1 (mais baixo)	ref			ref			ref			ref		
2	1,21	0,105	0,96 1,53	1,19	0,144	0,94 1,51	1,08	0,636	0,78 1,49	1,08	0,656	0,78 1,49
3	1,12	0,353	0,88 1,41	1,13	0,327	0,88 1,45	1,05	0,789	0,75 1,46	1,10	0,602	0,78 1,54
4	1,21	0,104	0,96 1,53	1,24	0,093	0,97 1,59	0,99	0,945	0,71 1,37	1,10	0,582	0,78 1,54
5 (mais alto)	1,20	0,138	0,94 1,53	1,23	0,146	0,93 1,63	0,86	0,365	0,62 1,20	1,07	0,71	0,74 1,56
Nível de escolaridade												
Pre-escolar	ref			ref			ref			ref		
Básico 1 e 2 ciclo	0,94	0,708	0,70 1,27	0,98	0,915	0,72 1,35	0,89	0,541	0,60 1,31	0,86	0,457	0,57 1,29
Básico 3 ciclo	0,47	<0.001	0,35 0,65	0,76	0,133	0,53 1,09	0,50	0,002	0,33 0,77	0,78	0,32	0,48 1,27
Secundário	0,52	<0.001	0,38 0,72	0,87	0,482	0,59 1,28	0,31	<0.001	0,19 0,48	0,52	0,016	0,31 0,88
Superior	0,55	0,001	0,39 0,77	0,67	0,049	0,45 1,00	0,32	<0.001	0,20 0,51	0,39	0,001	0,22 0,69

Tabela 3: ↓ Estimativas de razão de riscos relativos (RRR) no excesso de peso e obesidade de acordo com grupo etário, quintil de rendimento e nível de escolaridade para o sexo feminino em 2014 com intervalo de confiança a 95%.

	RRR bruto excesso de peso			RRR ajustado excesso de peso			RRR bruto obesidade			RRR ajustado obesidade		
	RRR	p-value	IC 95%	RRR	p-value	IC 95%	RRR	p-value	IC 95%	RRR	p-value	IC 95%
Grupo etário												
15-24	ref			ref			ref			ref		
25-34	1,07	0,727	0,74 1,53	1,33	0,132	0,92 1,92	2,08	0,012	1,17 3,70	2,86	<0,001	1,59 5,17
35-44	2,37	<0,001	1,72 3,26	2,78	<0,001	1,99 3,87	3,31	<0,001	2,02 5,43	4,06	<0,001	2,45 6,73
45-54	3,41	<0,001	2,45 4,74	3,52	<0,001	2,52 4,93	6,49	<0,001	3,95 10,67	6,12	<0,001	3,69 10,15
55-64	5,64	<0,001	4,08 7,79	5,30	<0,001	3,80 7,40	10,62	<0,001	6,50 17,37	8,58	<0,001	5,19 14,19
65-74	7,01	<0,001	5,08 9,68	5,62	<0,001	3,97 7,96	11,85	<0,001	7,20 19,50	7,61	<0,001	4,55 12,73
75+	4,77	<0,001	3,45 6,60	3,27	<0,001	2,28 4,69	6,24	<0,001	3,77 10,35	3,18	<0,001	1,83 5,53
Quintil de rendimento												
1 (mais baixo)	ref			ref			ref			ref		
2	1,11	0,311	0,90 1,37	1,15	0,217	0,92 1,43	0,89	0,329	0,71 1,12	0,96	0,707	0,75 1,21
3	0,94	0,592	0,76 1,17	1,05	0,644	0,85 1,31	0,70	0,003	0,55 0,89	0,82	0,132	0,64 1,06
4	0,83	0,106	0,67 1,04	1,05	0,659	0,84 1,32	0,60	<0,001	0,47 0,78	0,84	0,23	0,63 1,12
5 (mais alto)	0,63	<0,001	0,50 0,78	0,89	0,404	0,68 1,17	0,35	<0,001	0,26 0,47	0,67	0,036	0,47 0,97
Nível de escolaridade												
Pre-escolar	ref			ref			ref			ref		
Básico 1 e 2 ciclo	0,84	0,145	0,66 1,06	0,89	0,386	0,69 1,16	0,96	0,752	0,75 1,24	0,83	0,196	0,63 1,10
Básico 3 ciclo	0,33	<0,001	0,25 0,44	0,54	<0,001	0,39 0,75	0,31	<0,001	0,22 0,42	0,41	<0,001	0,29 0,58
Secundário	0,30	<0,001	0,23 0,39	0,52	<0,001	0,37 0,72	0,24	<0,001	0,18 0,33	0,34	<0,001	0,23 0,50
Superior	0,24	<0,001	0,18 0,32	0,41	<0,001	0,28 0,59	0,14	<0,001	0,10 0,20	0,19	<0,001	0,12 0,31



_Conclusões

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o grupo etário e o nível de escolaridade estão geralmente associados ao excesso de peso e obesidade. O grau de cada associação, contudo, varia, verificando-se que o nível de escolaridade tem mais influência no sexo feminino. Apesar do aumento da idade ser um fator de risco para o desenvolvimento desta condição em ambos os sexos, um maior nível de escolaridade é um fator protetor relativamente a ter excesso de peso ou obesidade, principalmente no sexo feminino. Este facto está alinhado com os resultados apresentados no relatório da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE) que evidencia a ligação entre a escolaridade e a obesidade, especialmente no sexo feminino (2).

Não obstante, é de notar que as prevalências apresentadas se baseiam em dados autorreportados de peso e altura, pelo que é importante considerar que as prevalências reais, obtidas através de medições antropométricas, serão ainda superiores tal como já se encontra descrito na literatura (8). Comportamentos de risco como dietas hipercalóricas e ausência de atividade física estão na génese desta situação e os fatores socioeconómicos, como a educação, podem ter um papel fundamental na mudança destes comportamentos e consequentemente no controlo desta situação (1). O papel da educação na saúde tem sido demonstrado, podendo ocorrer por diferentes vias (2) (9). Tendo em conta os resultados apresentados relativamente ao efeito protetor da escolaridade no excesso de peso e obesidade, é importante que se sejam planeadas estratégias mais holísticas e intersectoriais na prevenção desta condição. O aumento do nível de escolaridade da população pode ser, no longo prazo, uma forma de controlar este grave problema de saúde pública.

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic : report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: WHO, 2000. (WHO Technical Report Series 894). www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/
- (2) Devaux M, Sassi F, Church J, et al. Exploring the relationship between education and obesity. *OECD Journal: Economic Studies*. 2011;1:1-40. www.oecd.org/eco/growth/relationship%20education%20and%20obesity.pdf
- (3) do Carmo I, Carreira M, Almeida MD, et al. Prevalence of obesity in portuguese population. *Int J Obes*. 2000; 24(Suppl.1): S91. www.nature.com/ijo/journal/v24/n1s/pdf/0801410a.pdf
- (4) do Carmo I, Dos Santos O, Camolas J, et al. Overweight and obesity in Portugal: national prevalence in 2003-2005. *Obes Rev*. 2008;9(1):11-9. Epub 2007 Nov 23.
- (5) Instituto Nacional de Estatística, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Inquérito Nacional de Saúde 2014. Lisboa: INE, 2016. www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=263714091&PUBLICACOESmodo=2
- (6) Instituto Nacional de Estatística, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Inquérito Nacional de Saúde 2005/2006. Lisboa: INE, 2009. www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=6449883&DESTAQUESmodo=2
- (7) Gallus S, Lugo A, Murisic B, et al. Overweight and obesity in 16 European countries. *Eur J Nutr*. 2015;54(5):679-89. Epub 2014 Aug 5.
- (8) Tolonen H, Koponen P, Mindell JS, et al.; European Health Examination Survey Pilot Project. Under-estimation of obesity, hypertension and high cholesterol by self-reported data: comparison of self-reported information and objective measures from health examination surveys. *Eur J Public Health*. 2014;24(6):941-8.
- (9) Cutler, D, Lleras-Muney A. Education and Health: evaluating theories and evidence. Cambridge: National Bureau of Economic Research, 2006. (NBER Working Paper 12352). www.nber.org/papers/w12352.pdf

Avaliação do nível de literacia para a saúde numa amostra portuguesa

Health literacy assessment in a Portuguese sample

Alexandra Costa¹ Luís Saboga-Nunes², Luciana Costa¹

luciana.costa@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Rede Lusófona para a Promoção da Literacia para a Saúde. Centro de Investigação em Saúde Pública, Escola Nacional de Saúde Pública. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

_Resumo

A Literacia para a Saúde (LS) está relacionada com a capacidade de lidar com a informação sobre saúde, nomeadamente no que diz respeito ao seu acesso, compreensão, interpretação, avaliação, aplicação e utilização em diversas situações e ao longo do ciclo de vida. Em 2012, o *European Health Literacy Project Consortium* (Consórcio HLS-EU) avaliou o nível de LS em oito Estados-Membros europeus. Nesse contexto, foi recolhida informação sobre os níveis de LS de uma amostra da população portuguesa (n=1180) seguindo a metodologia do consórcio anteriormente referido. Os resultados obtidos mostram uma prevalência de LS limitada (representando 55,9% dos inquiridos) na amostra portuguesa, apresentando assim o segundo nível mais baixo de LS comparativamente aos oito países incluídos no estudo desenvolvido pelo Consórcio HLS-EU, precedido da Bulgária. Uma vez que um nível LS inadequado em termos populacionais tem implicações negativas nos ganhos em saúde, na utilização dos serviços de saúde e, consequentemente, nos gastos em saúde, é indispensável e urgente colocar a promoção da LS na agenda das políticas públicas.

_Abstract

Health Literacy (HL) is related to the ability to deal with relevant information about health, namely the ability to access, understand, appraise and apply health information in several situations along the life cycle. In 2012, the *European Health Literacy Project Consortium* (HLS-EU Consortium) assessed the level of HL in eight EU member states. In this context, it was collected information for the HL levels in a sample of the Portuguese population (n = 1180) following the methodology of the Consortium referred above. The results showed a prevalence of limited HL in the Portuguese sample (representing 55.9% of the respondents), thus presenting the second lowest level of HL compared to eight countries included in the study developed by HLS -EU Consortium, preceded by Bulgaria. Once an inadequate HL level in terms of population has negative implications for health gains in the use of health services and, consequently in health costs, is indispensable and urgent to promote HL in the public policy agenda.

_Introdução

Segundo a Carta de Ottawa⁽¹⁾ a promoção da saúde é o processo que visa criar condições para que as pessoas aumentem a sua capacidade de controlar os fatores determinantes da saúde (estilos de vida individuais, redes sociais comunitárias e condições socioeconómicas, culturais e ambientes gerais), no sentido de melhorá-la. Por outro lado, a Literacia para a Saúde (LS) é um instrumento pertinente no âmbito da promoção da saúde⁽²⁾. Segundo o *European Health Literacy Project Consortium* (HLS-EU Consortium), “a literacia para a saúde está ligada à literacia e implica o conhecimento das pessoas, a motivação e as competências para aceder, compreender, avaliar e aplicar informações sobre saúde, a fim de fazer julgamentos e tomar decisões na vida quotidiana em matéria de cuidados de saúde, prevenção da doença e promoção da saúde, para manter ou melhorar a qualidade de vida durante o curso da vida”⁽³⁾.

No contexto da investigação HLS-EU, em 2012 foi desenvolvida a operacionalização do conceito de LS e proposto um modelo conceptual⁽⁴⁾ como instrumento da medida da LS em amostras de oito Estados-Membros europeus a partir da aplicação do *European Health Literacy Survey*⁽³⁾.

Em 2013, o mesmo questionário foi traduzido, adaptado e validado em Portugal (HLS-EU-PT®) no contexto da Rede Lusófona para a Promoção da Literacia para a Saúde (www.literacia-saude.info), e apresentados posteriormente alguns resultados preliminares sobre a amostra aqui estudada⁽⁵⁾. Foram ainda realizados estudos adicionais com vista à aferição da LS nacional a partir da aplicação do mesmo instrumento de medição, ainda que com algumas alterações e em diferentes amostras^(6,7).

_Objetivos

Aferir o nível de LS de uma amostra portuguesa utilizando a metodologia HLS-EU, e comparar com os resultados publicados pelo Consórcio HLS-EU para os 8 Estados-Membros europeus estudados nesse contexto.

_Material e métodos

Entre 2011 e 2013 foram recolhidos em Portugal Continental 1180 inquéritos. A metodologia do Eurobarómetro serviu de padrão à avaliação da LS tendo sido retidas 983 respostas (inquéritos válidos), que incluiu residentes com 15 ou mais anos através de uma estratégia multi-etápica, depois de aplicados os critérios pré-estabelecidos e a validação da versão portuguesa (HLS-EU-PT) (5).

O Consórcio HLS-EU identificou um conjunto de competências básicas: informação e conhecimento, competências cognitivas gerais, papéis sociais, gestão médica, estilos de vida saudáveis, competências motivacionais, atitudes e valores, acedidas a partir da avaliação de 47 itens, usando uma escala de auto-avaliação de 4 níveis (de muito fácil a muito difícil) para medir a dificuldade sentida na concretização das tarefas apresentadas relevantes em saúde, pretendendo-se assim que o inquirido apontasse indicadores sobre a promoção da sua saúde, a gestão da sua doença ou a sua prevenção. Foram definidos níveis para os quatro índices (geral, cuidados de saúde, prevenção da doença e promoção da saúde), que dividiram os scores em quatro categorias: 'inadequada', 'problemática', 'suficiente' e 'excelente' LS.

Seguindo o conceito do HLS-EU, foram construídos diferentes sub-índices com base nos valores médios dos itens de LS. Primeiramente foram apurados índices para as três áreas da LS: cuidados de saúde (16 itens), prevenção da doença (16 itens) e promoção da saúde (15 itens). Paralelamente, foi calculado o índice de saúde geral que compreende o total dos 47 itens, que aqui se pretende sublinhar.

_Resultados

De acordo com os resultados obtidos, a amostra portuguesa aqui referenciada apresenta 59,9% dos inquiridos com um nível de LS limitada, que corresponde à soma dos níveis 'problemática' e 'inadequada' (gráfico 1). Assim, comparativamente aos resultados do relatório HLS-EU (3), só a Bulgária apresenta pior cenário de LS limitada representando 62% dos inquiridos do total dos 9 Estados-Membros estudados. Por outro lado, um valor de 12,4% do total dos inquiridos dos 8 países reportados inicialmente (3) demonstraram um nível de LS geral inadequado.

Contudo, com o acréscimo dos resultados da amostra portuguesa aqui em análise, esse valor sobe para 13,7%. A adenda dos resultados portugueses faz assim com que nível 'problemático' supere ligeiramente o nível 'suficiente', em relação aos resultados do relatório original. Finalmente, o nível 'problemático' de LS é aquele que apresenta uma maior percentagem correspondendo a 35,3% do total dos inquiridos europeus.

Comparativamente aos estudos publicados em Portugal utilizando este mesmo inquérito (6,7) (gráfico 2), a amostra aqui analisada apresenta valores de LS "limitada" muito próximos

Gráfico 1: 📉 Nível de literacia para a saúde geral, por Estado-Membro e Total (incluindo a amostra portuguesa-PT).

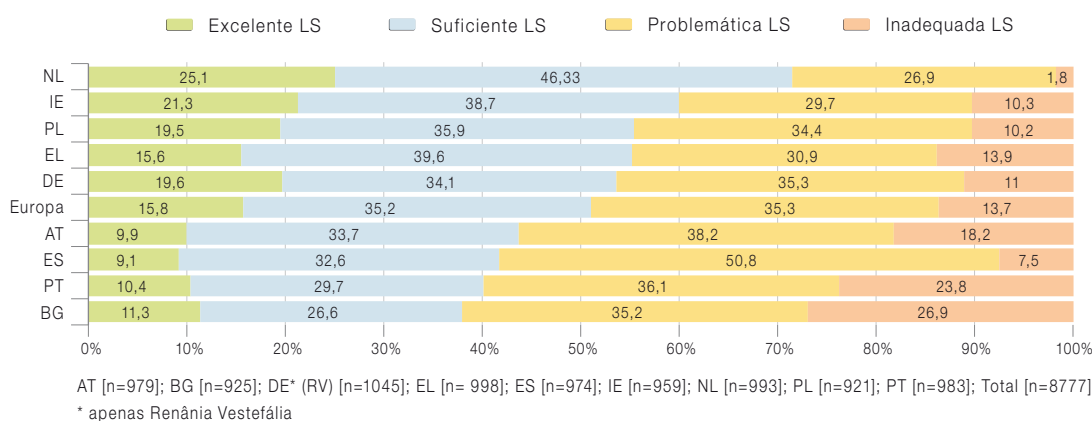
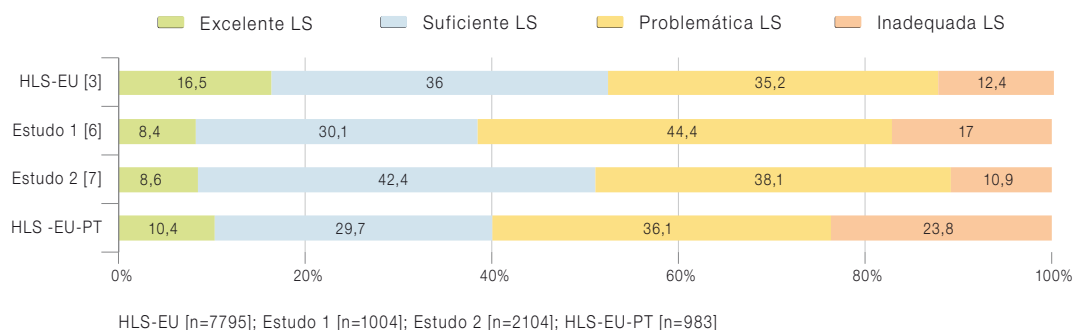


Gráfico 2: ↓ Nível de literacia para a saúde geral (%), em três estudos portugueses e HLS-EU (Total 8 Estados-Membros).



dos encontrados num dos estudos⁽⁶⁾ (59,9% vs 61,4%, respetivamente), enquanto superiores ao outro (59,9% vs 49%)⁽⁷⁾. A LS “inadequada” aparece, no entanto, com valores superiores a ambos os estudos referidos (23,8% vs 17% e 10,9%).

_Discussão

Os resultados obtidos a partir deste trabalho mostram que os cidadãos portugueses estudados têm dificuldades assinaláveis no que concerne às diferentes formas de lidar com informação de relevo sobre saúde: capacidade de acesso a informação; compreensão da informação; capacidade de interpretação e avaliação da informação e a sua aplicação/utilização em situações diversas e ao longo do seu ciclo de vida. As diferenças no nível de LS-Geral nesta amostra relativamente às outras estudadas em Portugal, devem-se muito provavelmente a diferenças nas características sociodemográficas na população analisada. Contudo, é necessário uma análise mais aprofundada de forma a tirar conclusões sobre esta matéria.

Constata-se que na UE uma LS limitada não é um problema minoritário e que se circunscreva a um Estado-membro isoladamente. Adicionalmente, as percentagens para as quatro categorias do índice de LS-Geral mostram uma variação considerável entre os vários países. Por exemplo, para o nível ‘inadequado’ de LS verifica-se que os valores variam entre 2% e 27%. Assim, vários fatores e suas associações poderão ter influência nos resultados observados e por isso deverão ser tomados em consideração na construção casuística de políticas públicas de promoção da LS.

_Conclusão

Os dados aqui apresentados permitem tecer algumas inferências sobre o estado da LS do nosso país no seio da UE. Uma vez que são relativamente escassos os estudos que investigam exaustivamente a LS das populações e os seus condicionantes⁽³⁾ estas abordagens são pioneiras e podem contribuir para uma discussão alargada das condicionantes da LS e as estratégias a seguir para alargar a «saúde a todas as políticas». Deste modo, os cidadãos deverão ser chamados ao centro da discussão, numa lógica de verdadeira coprodução em saúde, onde população, governantes e profissionais de saúde são aliados numa construção salutogénica de saúde. Pretende-se, através desta ilustração colocar a promoção da LS na agenda das políticas públicas e documentar essa necessidade.

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. The Ottawa charter for health promotion. [Em linha]. (consult. 14/09/2016). www.who.int/healthpromotion/conferences/previous/ottawa/en/
- (2) Regional Office for Europe of the World Health Organization. Health literacy: the solid facts. Copenhagen: WHO, 2013. www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/190655/e96854.pdf
- (3) HLS-EU Consortium. Comparative report on health literacy in eight EU Member States. The European Health Literacy Survey HLS-EU, 2012. http://ec.europa.eu/chafea/documents/news/Comparative_report_on_health_literacy_in_eight_EU_member_states.pdf
- (4) Sorensen K, Van den Broucke S, Fullam J, et al.; (HLS-EU) Consortium Health Literacy Project European. Health literacy and public health: a systematic review and integration of definitions and models. BMC Public Health. 2012;12:80. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC22276600/
- (5) Saboga-Nunes L, Sorensen K, Pelikan J. Hermêutica da literacia em saúde e sua avaliação em Portugal (HLS-EU-PT). In: 40 anos de democracia(s): Progressos, contradições e perspectivas. Atas do VIII Congresso Português de Sociologia. Lisboa: Associação Portuguesa de Sociologia, 2014.
- (6) Saúde que Conta-ENSP/Lilly Portugal. Questionário Europeu de Literacia em Saúde em Portugal [Em linha]. (consult. 14/09/2016) Disponível em: www.saudequeconta.org/index.php/site/literacia
- (7) Espanha R, Ávila P, Mendes R. Literacia em Saúde em Portugal. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2016.

Causas metabólicas de rabdomiólise associadas a mutações no gene *LPIN1*

Metabolic causes of rhabdomyolysis associated with LPIN1 mutations

Célia Nogueira, Diana Nunes, Altina Lopes, Laura Vilarinho

celia.nogueira@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

A rabdomiólise resulta da lise do músculo-esquelético, devido à lesão no tecido muscular com consequente libertação de componentes intracelulares do músculo para a corrente sanguínea, originando mioglobínúria e, nos casos mais graves, falência renal aguda. As causas mais frequentes de rabdomiólise são o consumo de álcool, drogas, exercício físico intenso, compressão muscular traumática e infeções. As miopatias metabólicas são causas de rabdomiólise e decorrem da incapacidade em produzir a quantidade de ATP adequada às necessidades das células musculares, por deficiência de enzimas do metabolismo dos glícidos, lípidos ou nucleósidos. Normalmente surgem na infância, sob a forma de fraqueza muscular e mioglobínúria recorrentes após exposição a estímulos que em condições normais não causam necrose muscular, como é o caso do exercício físico ligeiro, infeções virais ou jejum prolongado. Estas doenças são normalmente causadas por defeitos na β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos, no entanto alterações no metabolismo da Lipina constituem a segunda causa mais comum de rabdomiólise com início precoce. Esta deficiência é autossómica recessiva e está associada a mutações no gene *LPIN1*. Neste sentido foi implementado este estudo genético na nossa Unidade, o que permitiu a identificação do primeiro doente português com uma nova mutação no gene *LPIN1*. Este estudo contribuiu para esclarecer a causa da doença nesta família, expandir o espectro mutacional deste gene, assim como oferecer um aconselhamento genético e diagnóstico pré-natal às famílias afetadas. Os nossos dados corroboram assim a importância do estudo molecular do gene *LPIN1* para confirmar doentes (crianças e adultos) com rabdomiólise recorrente. A caracterização molecular destes doentes é importante uma vez que existe a possibilidade de um tratamento adequado.

_Abstract

Rhabdomyolysis results from damage in skeletal muscle fibres and release of intracellular components of the muscle to the bloodstream, which leads to myoglobinuria, and in severe cases, acute renal failure. The most frequent causes of rhabdomyolysis are alcohol and other drugs consumption, excessive physical activity, trauma and infections. As metabolic myopathies are causes of rhabdomyolysis and result from the inability to produce an adequate amount of ATP for muscle needs, due to enzymatic deficiencies in carbohydrates, lipids or nucleosides metabolism. Usually occur in childhood and are expressed by pain, muscle weakness and myoglobinuria after physical exercise, viral infections or fasting, which under normal conditions do not cause muscle necrosis. These diseases are frequently caused by defects in mitochondrial fatty acids β -oxidation, however defects in lipin metabolism represent the second most common cause of rhabdomyolysis with

early onset. This disease is autosomal recessive and is associated with LPIN1 mutations. This genetic study was implemented in our Unit and allowed the identification of the first Portuguese patient with a novel mutation in LPIN1 gene, which contributes to clarify the cause of the disease in this family, to expand the mutational spectrum of this gene and will be important for an accurate genetic counseling. Our data corroborate the importance of the molecular study of the LPIN1 gene to confirm recurrent rhabdomyolysis in children and adults. The molecular characterization of these patients is important as there is a possibility of an adequate treatment.

_Introdução e objetivo

A rabdomiólise (RM) é uma síndrome clínico-laboratorial que resulta da lise das células musculares esqueléticas causando mioglobínúria e evoluindo em alguns casos para insuficiência renal (1). A RM está associada a várias causas, nomeadamente: compressão muscular traumática, exercício físico intenso, consumo de álcool, aumento da temperatura corporal, hipoperfusão muscular, causas tóxicas e farmacológicas, alterações eletrolíticas e endócrinas, infeções e causas hereditárias (2). As causas de RM podem assim dividir-se em traumáticas (adquiridas) e não-traumáticas (hereditárias) (tabela 1), ocorrendo estas últimas cinco vezes mais que as traumáticas (1). Independentemente da causa esta patologia segue uma via comum, quer por lesão direta das fibras do músculo-esquelético (causa adquirida), quer por deficiência na produção de energia (causas hereditárias), levando ambas à necrose das fibras musculares (3). Assim, os principais sintomas de RM são: mialgia, fraqueza muscular, mioglobínúria e falência renal.

Na ausência de tratamento esta doença pode causar morte por disfunção renal, cardíaca e hematológica (5). O tratamento consiste essencialmente em administrar por meio intravenoso, após os primeiros sintomas, uma solução

Tabela 1: ⬇️ Causas de rabdomiólise (RM), adaptado de (4).

<p>Traumáticas Adquiridas</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Drogas/Toxinas ■ Abuso de álcool ■ Infecção/Sepsis ■ Esforço físico extremo ■ Lesão por esmagamento ■ Isquémia ■ Perturbação metabólica ■ Doenças neurológicas primárias ■ Idiopática ■ Hipertermia maligna ■ Distrofias musculares ■ Canalopatias musculares ■ Síndrome de infusão de propafol
<p>Não-Traumáticas Hereditárias</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Alterações no metabolismo dos ácidos gordos (deficiência de: VLCAD, CPTI, CPTII) ■ Alterações no metabolismo do glicogénio - Glicogenoses (tipo V, VII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV) ■ Doenças mitocondriais ■ Doenças na bomba de cálcio (gene <i>RYR1</i>) ■ Distrofias musculares e miopatias ■ Doenças do metabolismo da lipina (gene <i>LPIN1</i>)

altamente concentrada de glucose (6), seguida de hidratação intravenosa com a administração de soro fisiológico (1,5L/h) (2) e por fim, alcalinização da urina para minimizar a precipitação de mioglobina nos rins (7). Assim, o diagnóstico e a terapêutica precoce da RM são fundamentais para evitar a progressão da doença (2).

Doenças do metabolismo da Lipina

As miopatias metabólicas são consideradas causas raras de RM que se encontram normalmente associadas a defeitos na β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos, no entanto, alterações no metabolismo da lipina, constituem a segunda causa mais comum de RM com início precoce (3,4,8). Esta deficiência é autossómica recessiva e está associada a mutações no gene *LPIN1*. Este gene foi identificado pela primeira vez em 2008 por Zeharia *et al.* (9), associado a RM grave e recorrente, desencadeada por febre, exercício, anestésicos e jejum prolongado. As mutações no gene *LPIN1* originam deficiências do metabolismo energético e são responsáveis por mais de 50% dos epi-

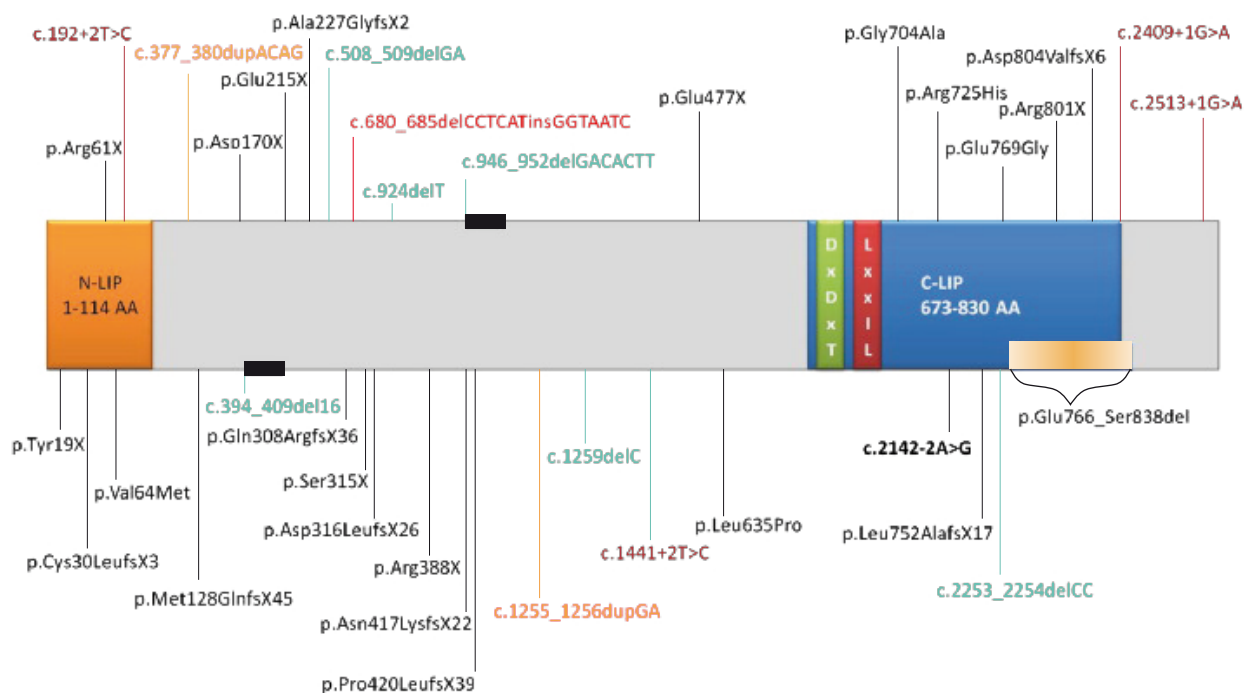
sódios de RM em doentes pediátricos com idade inferior aos 6 anos e com níveis de CK elevados (>10.000 U/L) (6), no entanto as mutações em heterozigotia estão associadas a doentes adultos (10) que podem apresentar como sintomas, câimbras e mialgia provocadas pelo exercício (8).

O gene *LPIN1* possui 5363 pb, distribuídos por 20 exões, dos quais 19 são transcritos. Este gene localiza-se no cromossoma 2p25.1 e codifica a proteína lipin-1.

Segundo a revisão da literatura (10) e a base de dados profissional *The Human Gene Mutation Database* (HGMD) estão descritas 36 mutações, 22 *missense/nonsense*, 4 mutações de *splicing*, 6 pequenas deleções, 2 inserções, 1 deleção/inserção e 1 grande deleção. Esta última funciona como *hotspot* mutacional e está localizada entre os exões 17 e 19: c.2295-866_2410-30del1763 (11).

Na figura 1 estão representadas todas as mutações descritas até ao momento neste gene.

Figura 1: Mutações descritas no gene *LPIN1*, adaptado de (10) e HGMD® profissional.



_Objetivo

Este trabalho tem como objetivo apresentar os resultados do estudo molecular do gene *LPIN1* em doentes portugueses com sintomatologia de RM, suspeitos de alterações no metabolismo da lipina.

_Doentes e métodos

Foram estudados 20 doentes provenientes de hospitais de todo o país, sendo na maioria crianças. Os principais sintomas clínicos apresentados foram fraqueza muscular, mialgias e RM recorrente. Estes doentes foram previamente excluídos para doenças da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos, pelo que se procedeu ao estudo molecular do gene *LPIN1*. Este estudo foi efetuado por sequenciação direta de fragmentos amplificados por PCR, a partir de DNA genómico extraído de sangue. Todos os exões do gene *LPIN1*, e respetivas regiões intrónicas flanqueadoras, foram sequenciados por procedimentos já descritos. Foi também pesquisada, através da técnica de *Long-range* PCR, uma grande deleção descrita neste gene (11).

_Resultados e discussão

Após a investigação molecular dos 20 doentes selecionados, identificou-se uma nova mutação de *splicing* (c.2142-2A>G) não descrita na literatura, até este estudo (12), que segundo previsões bioinformáticas (13) quebra o local aceitador de *splicing*. Esta mutação foi identificada numa doente em heterozigotia, associada a sintomas de RM com mialgia, fraqueza muscular, fadiga e apneia do sono. No entanto, a filha desta doente aos 2 anos começou a desenvolver uma clínica grave de RM com crises recorrentes e níveis de CK elevados. Esta criança faleceu aos 4 anos devido a uma crise de RM causada por uma gastroenterite, ficando a sua causa de morte por esclarecer. Como existia DNA disponível, foi pesquisada a mutação encontrada na mãe, tendo esta sido identificada em homozigotia. Sendo, por este motivo, provavelmente patogénica e causadora de doença (12).

Outras variantes foram também identificadas em heterozigotia neste estudo, tais como: p.S286del, p.V494M e p.P610S. Estas variantes podem ser consideradas provavelmente patogénicas, segundo alguns recursos bioinformáticos utiliza-

dos (13-16). A variante p.S286del apenas altera o *splicing* da proteína, enquanto que as variantes p.P610S e p.V494M, para além da alteração de aminoácido, causam alterações na conformação da estrutura da proteína e alteram o *splicing* proteico. No entanto, outros estudos serão necessários para clarificar a patogenicidade destas variantes.

Conclusão

As mutações no gene *LPIN1* têm sido associadas à segunda causa mais comum de RM de início precoce, uma causa não reconhecida há dez anos atrás. Embora se trate de uma doença autossómica recessiva as mutações patogénicas em heterozigotia neste gene podem ser a causa de formas mais leves de RM em doentes adultos, devido à importância desta proteína (lipin-1) em diversas vias metabólicas.

Este estudo, para além de ser o primeiro estudo molecular do gene *LPIN1* associado à RM realizado em doentes portugueses, também contribuiu para esclarecer o diagnóstico molecular definitivo numa família com apresentações clínicas distintas e associadas a uma nova mutação de *splicing* (c.2142-2A>G). O estudo deste gene contribuiu também para expandir o seu espetro mutacional, assim como oferecer um aconselhamento genético e um diagnóstico pré-natal às famílias de risco. Os nossos dados corroboram assim a importância do estudo molecular do gene *LPIN1* para investigar doentes (crianças e adultos) com RM recorrente, uma vez que existe a possibilidade de um tratamento adequado.

Referências bibliográficas:

- (1) Bagley WH, Yang H, Shah KH. Rhabdomyolysis. Intern Emerg Med. 2007;2(3):210-8.
- (2) Rosa NG, Silva G, Teixeira A, et al. Rabdomiólise. Acta Méd Port. 2005;18(4): 271-81 www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/1032/700
- (3) Hamel Y, Mamoun A, Mauvais FX, et al. J Inherit Metab Dis. 2015;38(4):621-8. Review.
- (4) Scalco RS, Gardiner AR, Pitceathly RD, et al. Orphanet J Rare Dis. 2015;10:51. Review. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4522153/
- (5) Schweitzer GG, Collier SL, Chen Z, et al. Rhabdomyolysis-Associated Mutations in Human *LPIN1* Lead to Loss of Phosphatidic Acid Phosphohydrolase Activity. JIMD Rep. 2015;23:113-22. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4484911/
- (6) Pichler K, Scholl-Buergi S, Birnbacher R, et al. A novel therapeutic approach for *LPIN1* mutation-associated rhabdomyolysis--The Austrian experience. Muscle Nerve. 2015;52(3):437-9.
- (7) Antons KA, Williams CD, Baker SK, et al. Clinical perspectives of statin-induced rhabdomyolysis. Am J Med. 2006;119(5):400-9. Review.
- (8) Meijer IA, Sasarman F, Maftei C. *LPIN1* deficiency with severe recurrent rhabdomyolysis and persistent elevation of creatine kinase levels due to chromosome 2 maternal isodisomy. Mol. Genet. Metab. Rep. 2015;5:85-8.
- (9) Zeharia A, Shaag A, Houtkooper RH, et al. Mutations in *LPIN1* cause recurrent acute myoglobinuria in childhood. Am J Hum Genet. 2008;83(4):489-94. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2561931/
- (10) Michot C, Hubert L, Romero NB, et al. Study of *LPIN1*, *LPIN2* and *LPIN3* in rhabdomyolysis and exercise-induced myalgia. J Inherit Metab Dis. 2012;35(6):1119-28.
- (11) Michot C, Hubert L, Brivet M, et al. *LPIN1* gene mutations: a major cause of severe rhabdomyolysis in early childhood. Hum Mutat. 2010;31(7):E1564-73.
- (12) Nunes D, Nogueira C, Lopes A, et al. *LPIN1* deficiency: a novel mutation associated with different phenotypes in the same family. Mol Genet Metab Rep. 2016;9:29-30. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5050266/
- (13) Human Splicing Finder. www.umd.be/HSF3/
- (14) Mutation Taster www.mutationtaster.org
- (15) Polyphen-2 <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>
- (16) Sift <http://sift.jcvi.org/sift-bin/>

Artigo adaptado de: Nunes D, Nogueira C, Lopes A, Chaves P, Rodrigues E, Cardoso T, Leão Teles E, Vilarinho L. *LPIN1* deficiency: a novel mutation associated with different phenotypes in the same family. Mol Genet Metab Rep. 2016 Oct 2;9:29-30. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5050266/

ficha técnica

_ Título: Boletim Epidemiológico Observações

_ Periodicidade: Quadrimestral

_ ISSN: 0874-2928, 2182-8873 (em linha)

_ Numeração: 2ª série
Volume 5, número 17
Setembro- Dezembro 2016

_ Diretor
Fernando de Almeida, Presidente do Conselho Diretivo do INSA

_ Editores
Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia
Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

_ Conselho Editorial Científico
Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia
Luciana Costa, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis
Jorge Machado, Departamento de Doenças Infecciosas
Manuela Caniça, Conselho Científico do INSA
Manuela Cano, Departamento de Saúde Ambiental
Peter Jordan, Departamento de Genética Humana
Silvia Viegas, Departamento de Alimentação e Nutrição

_ Coordenação técnica Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

_ Composição e paginação Francisco Tellechea, Biblioteca da Saúde
(segundo layout inicial de Nuno Almodovar Design, Lda.)

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2016.

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