

Observações

— Boletim Epidemiológico

sumário_

_Editorial

A produção científica do INSA: a propósito dos prémios do Dia do Jovem Investigador 2017 p 02

INSA's scientific production: about the 2017 Young Investigator Day awards

João Lavinha

_Artigos breves

_Doenças infecciosas

1_ Primeiro estudo em Portugal sobre a identificação dos génotipos do vírus do papiloma humano (HPV) numa população feminina vacinada com atividade sexual ativa p 04
First studies on the identification of human papillomavirus (HPV) genotypes in a vaccinated Portuguese female population with active sexual activity

Raquel Rocha, Grupo de Estudo da Vacina do HPV, Nuno Verdasca

2_ Ixodídeos removidos de humanos e agentes infecciosos detetados no âmbito da Rede de Vigilância de Vetores (REVIVE), 2011-2015 p 10

Ticks collected from humans and tick-borne agents within the National Network for Vector Surveillance (REVIVE), 2011-2015

Maria Margarida Santos Silva, Isabel Lopes de Carvalho, Ana Sofia Santos, Maria Sofia Nuncio, Rita de Sousa; Equipa REVIVE

_Doenças metabólicas

3_ FIND: a importância do diagnóstico no tratamento das mucopolissacaridoses p 14

FIND: the importance of early diagnosis in mucopolysaccharidoses

Paulo Gaspar, Sandra Alves, Elisa Leão Teles, Laura Vilarinho

4_ Síndromes de deficiência em creatina cerebral: 13 anos de experiência em Portugal p 18

Cerebral creatine deficiency syndromes: 13 years experience in Portugal

Carla Valongo, Altina Lopes, Laura Vilarinho

_Doença renal

5_ Evolução da atividade de transplantação renal em Portugal: dados públicos de 2003 a 2015 p 24

Evolution of renal transplantation activity in Portugal: public data from 2003 to 2015

Bruno A Lima, Helena Alves

_Doença cardiovascular

6_ sdLDL como potencial biomarcador no diagnóstico e prevenção de doença cardiovascular em diabéticos p 28
sdLDL as a potential biomarker in the diagnosis and prevention of cardiovascular disease in diabetics

Ana Raimundo, Cibelle Mariano, Ana Catarina Alves, Pedro Aguiar, Mafalda Bourbon

_Alimentação e nutrição

7_ Determinação do ergosterol no cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*) cultivado em borras de café e palha de trigo p 32
*Determination of ergosterol in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivated in coffee grounds and wheat straw*

Sofia Ricardo, Ana Sanches-Silva, Fernando Ramos, Maria Conceição Castilho

8_ Conhecimento, perceção e preferências dos consumidores relativamente aos produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada p 36

Knowledge, perception and preferences of consumers on agricultural products and foodstuffs with registered name

Edite Sousa, Tânia Gonçalves Albuquerque, Helena Soares Costa

_Saúde ambiental

9_ Estudo-piloto para avaliação do estado de conservação de coberturas de fibrocimento p 40

Evaluation of the state of conservation of asbestos cement sheets: pilot study

Fátima Aguiar, Pedro Sardinha, Nuno Rosa, Maria do Carmo Proença

_Lesões e acidentes

10_ Acidentes domésticos e de lazer: resultados do sistema de vigilância EVITA apurados para o período 2013-2015 p 43
Home and leisure accidents: results of the EVITA surveillance system for the period 2013-2015

Tatiana Alves, Emanuel Rodrigues, Mariana Neto, Ricardo Mexia, Carlos Matias Dias



A produção científica do INSA: a propósito dos prémios do Dia do Jovem Investigador 2017

INSA's scientific production: about the 2017 Young Investigator Day awards

Numa recente reunião científica, promovida pelo Conselho Diretivo e o Conselho Científico do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), foram apresentadas quase sete dezenas de comunicações relatando resultados obtidos no Instituto, no período 2015-2017, por jovens investigadores¹. Nessa ocasião, foram atribuídos, pela Comissão Científica do evento (de que o autor deste texto e mais seis investigadores fizeram parte), prémios à melhor comunicação oral (1) e ao melhor *poster* (2) e, ainda, dadas menções honrosas a três *posters* (3-5). A partir de uma análise de conteúdo das contribuições distinguidas (e também das que o não foram), será tentada uma leitura acerca da atual conceção dominante do que deverá ser a produção científica do Instituto Nacional de Saúde de Portugal, com a sua tripla missão de laboratório do Estado, laboratório nacional de referência e observatório nacional do setor da Saúde.

O estudo sobre a qualidade do ar interior nos lares de idosos (1) aborda um tema de saúde ambiental do ponto de vista epidemiológico, tentando correlacionar as características do ambiente com a auto-perceção da saúde e qualidade de vida por parte da população observada. A sua principal conclusão/recomendação – “*It is very important to revise overcrowding, change inadequate ventilation, identify sources of contamination, control thermal parameters and adjust clothing to environmental characteristics*” – é muito relevante para os projetistas e gestores de residências dirigidas à crescente população idosa.

O trabalho sobre a hipertensão (enquanto fator de risco de doença cardiovascular, DCV) pode ser categorizado como de investigação em serviços de saúde (2). De facto, ao demonstrar que a prevalência da hipertensão auto-reportada (26%) é claramente inferior à que se obtém por exame físico (36%), este trabalho, que se insere no Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico, revela que a apli-

cação da medição objetiva da tensão arterial melhora o rigor dos dados recolhidos nos inquéritos de saúde e a compreensão das desigualdades socioeconómicas na saúde. A contribuição para a estratificação da população de pessoas com dislipidémia (outro fator de risco de DCV) visa identificar biomarcadores do tipo de etiologia desse fenótipo, a saber, monogénica (mais rara) *versus* poligénica/ambiental (mais frequente) (3). Tirando partido das extensas bases de dados do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar (uma longa série com cerca de duas décadas), os investigadores propõem valores de corte para alguns parâmetros bioquímicos (p ex, a razão apoB/apoA1, apoB e LDL) com maior valor discriminativo entre os dois tipos de etiologia e, portanto, com maior potencial de gerar intervenções terapêuticas mais precisas.

A análise de genes envolvidos na resposta aos antibióticos e de marcadores de diversidade genética de estirpes de *Staphylococcus aureus* de origem humana e animal (4) resulta, por um lado, da preocupação global com o aumento da frequência dos fenómenos de resistência e, por outro, da constatação da ausência de barreiras entre a saúde humana e a saúde animal refletida no conceito de *One Health* (6). Embora todas as estirpes de *S. aureus* isoladas de animais sejam, por agora, sensíveis aos antibióticos testados, o facto de, em ambos os reservatórios (humano e animal), essas estirpes serem geneticamente aparentadas indicia um risco de disseminação nos animais das estirpes resistentes comumente observadas em humanos.

A comunicação sobre os efeitos genotóxicos da prática profissional de exercício físico intenso e prolongado, em particular, a dança (5) remete-nos para o domínio da resposta biológica ao estresse, neste caso materializado por uma exposição acrescida a espécies reativas de oxigénio. É notável a observação de que, apesar de, no final da época, os dançarinos apresentarem danos no seu DNA a um nível significativamente mais alto do que no início da mesma, a população em geral apresenta um nível mais alto de danos do que os dançarinos na pré-época, o que sugere uma resposta adaptativa dos profissionais repetidamente expostos ao estresse. Exercícios de biomonitorização

¹ 2º Dia do Jovem Investigador do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Lisboa, 8 de maio de 2017. O livro de resumos das comunicações apresentadas pode ser acedido em <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4706>

Primeiro estudo em Portugal sobre a identificação dos genótipos do vírus do papiloma humano (HPV) numa população feminina vacinada com atividade sexual ativa

First studies on the identification of human papillomavirus (HPV) genotypes in a vaccinated Portuguese female population with active sexual activity

Raquel Rocha¹, Grupo de Estudo da Vacina do HPV², Nuno Verdasca¹

maria.rocha@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório do Vírus do Papiloma Humano. Unidade de Infecções Sexualmente Transmissíveis. Departamento Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(2) Maternidade Alfredo da Costa, Lisboa; Maternidade Bissaya Barreto, Coimbra; Maternidade Daniel de Matos, Coimbra; UCSP-Polo A, Ramada; USF Cruzeiro, Odivelas; USF Ramada, Ramada; USF Magnólia, Stº António Cavaleiros; USF Tejo, Sacavém; USF Valflores, Póvoa de Stª Iria; USF Carnide Quer, Lisboa; USF Alma Mater, Reboleira; USF Mactamá, Queluz; USF Sobreda, Almada; UCSP Tortosendo, Tortosendo; UCSP Covilhã, Covilhã; UCSP Teixoso, Teixoso; USCP Belmonte, Belmonte; Centro Hospitalar Póvoa do Varzim e Vila do Conde, Póvoa do Varzim; Hospital Vila Franca de Xira, Vila Franca de Xira.

_Resumo

A infeção por HPV é responsável por 99,7% dos casos de cancro de colo do útero a nível mundial. De modo a prevenir e a minimizar o impacto da infeção por HPV na saúde das mulheres foram desenvolvidas vacinas. A vacina tetravalente está incluída no Plano Nacional de Vacinação (PNV) desde 2008. Com o objetivo de se conhecer a distribuição dos genótipos HPV estudaram-se 152 amostras clínicas de mulheres jovens vacinadas com atividade sexual ativa. As amostras clínicas foram colhidas por *cytobrush*, procedeu-se à deteção e tipificação do HPV pela técnica de *microarrays*. Das mulheres estudadas, 28,3% apresentaram infeção por genótipos HPV, dos quais 58,1% corresponderam a genótipos de alto risco, sendo mais frequente o HPV 51 (15,2%) seguido do HPV 59 e HPV 58 com 7,6% e 6,1%, respetivamente. Foram também detetados dois casos de infeção por HPV 16, que é um dos genótipos incluído na vacina. Genótipos de baixo risco foram detetados em 25,6% de infeções, sendo o HPV42 o mais frequente com 9,1% dos casos. A história vacinal demonstrou que 83,1% das mulheres foram vacinadas ao abrigo do PNV e iniciaram atividade sexual após administração da vacina, e que 53,6% das mulheres vacinadas fora do PNV iniciaram atividade sexual antes da administração da vacina. Portugal apresenta uma taxa de cobertura vacinal elevada. Estes primeiros resultados reforçam a importância da administração da vacina antes do início da atividade sexual e de se manter o rastreio do cancro do colo do útero.

_Abstract

Infection with HPV is responsible for 99.7% cases of cervical cancer worldwide, to prevent and minimize the impact on women's health have been developed vaccines against HPV infection. The tetravalent vaccine is included in the National Immunization Program (PNV) since 2008. With the aim to know the distribution of HPV genotypes, 152 clinical samples of young women who have started sexual life were studied. Clinical samples were collected by *cytobrush*, HPV detection and typing was performed by the *microarray* methodology. Of the women studied, 28.3% presented infection for HPV genotypes, 58.1% corresponding to the high-risk genotypes, with HPV 51 (15.2%) being more frequent followed by HPV 59 and HPV 58 with 7.6% and 6.1%, respectively. Two cases of HPV 16 infection were also detected, genotype included in the vaccine. Low-risk genotypes were detected

in 25.6% of the infections with HPV 42 being the most frequent in 9.1% of the cases. Vaccine history showed 83.1% of women were vaccinated in the current immunization program and started sexual activity after HPV vaccine administration, and 53.6% of women vaccinated outside current immunization program started sexual activity before to vaccine administration. Portugal has a high vaccination coverage rate. However, these early results reinforce the importance of administration the vaccine before the onset of sexual activity and to keep tracking of cervical cancer.

_Introdução

A infeção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV) é uma das infeções mais comuns transmitidas sexualmente, constituindo um problema de saúde pública com elevada morbidade e mortalidade na população feminina. Anualmente estima-se que existam cerca de 528.000 novos casos de cancro por HPV, sendo este o quarto cancro mais comum na população feminina a nível mundial (1). Segundo o estudo "A Cleopatre Portugal Study" estima-se uma prevalência da infeção por HPV na população portuguesa feminina entre os 18 e os 64 anos de idade de 12,7%, sendo a mais elevada para o grupo etário entre os 20 e 24 anos (28,8%) (2).

Encontram-se identificados mais de 200 genótipos de HPV, em que 40 infetam preferencialmente o trato anogenital. A Agência Internacional de Investigação Cancro (IARC) com base na epidemiologia molecular, suportada pela evidência epidemiológica, classificou consoante o potencial oncogénico os vários genótipos de HPV em genótipos de baixo risco e de alto risco, bem como em genótipos de possível alto risco, de provável alto risco e de risco indeterminado (3,5).

Os genótipos de HPV de alto risco são responsáveis por cerca de 99,7% dos casos de cancro do colo do útero, sendo os mais comuns os genótipos HPV 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58. Por outro lado, os genótipos HPV 16 e HPV 18 são os que possuem um potencial oncogénico mais elevado, representando cerca de 70% a 75% dos casos de cancro a nível mundial (6,7). Os genótipos de HPV de baixo risco estão associados a lesões benignas, como verrugas anogenitais ou condilomas acuminados, sendo em 90% dos casos identificados os genótipos HPV 6 e HPV 11 (7,8).

Sendo uma infeção muito frequente nas faixas etárias mais jovens, e dada a sua associação com o aparecimento de cancro do colo do útero, foram desenvolvidas vacinas de modo a prevenir e a minimizar o impacto da infeção por HPV na saúde das mulheres. A vacina bivalente (genótipos HPV 16 e 18) previne o cancro do colo do útero e a tetravalente (genótipos 6, 11, 16 e 18) é prescrita igualmente para a prevenção do cancro do colo do útero, mas também para as lesões pré-malignas do colo do útero, da vulva, da vagina e das verrugas genitais (condilomas). A partir de março de 2015 ficou disponível na Europa a vacina nonavalente, que inclui os genótipos HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58, o que veio aumentar o grau de proteção contra a infeção por HPV e o subsequente aparecimento de casos de cancro de colo do útero (6,9,10).

Portugal, comparativamente com outros países europeus, apresenta uma taxa de cobertura vacinal elevada, estando desde 2008 a vacina tetravalente incluída no Plano Nacional de Vacinação (PNV), inicialmente administrada às mulheres com 13 anos de idade (nascidas a partir de 1995), em três doses, segundo o esquema de 0, 2 e 6 meses. Entre 2009 e 2011 foram abrangidas pelo PNV as mulheres que completavam 17 anos durante esse período (nascidas entre 1992 e 1994). Em 2014, a administração da vacina foi antecipada para os 10 anos de idade, em duas doses, segundo o esquema de 0 e 6 meses, de forma a manter uma elevada cobertura (11,13). No início de 2017, a Direção-Geral da Saúde (DGS) determinou a introdução no PNV da vacina nonavalente (em vez da tetravalente), mantendo o mesmo esquema vacinal (14).

Como tem vindo a ser referido na literatura torna-se importante verificar quais os efeitos da introdução no PNV da vacina do HPV na população vacinada, por forma a conhecer a distribuição dos genótipos de HPV que não estejam incluídos na vacina e, assim, possam conferir infeção (15).

_Objetivo

O presente estudo, a decorrer desde setembro de 2014, pretende dar a conhecer os primeiros resultados da identificação dos genótipos de HPV em Portugal numa população feminina vacinada com atividade sexual ativa.

_Material e métodos

Participaram no estudo 19 instituições que desde setembro de 2014 integram o Grupo de Estudo da Vacina do HPV, bem como o Laboratório do Vírus do Papiloma Humano da Unidade de Infeções Sexualmente Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA).

Realizou-se um estudo observacional transversal, entre setembro de 2014 e dezembro de 2016, em que se analisaram durante o período sob observação amostras clínicas de mulheres jovens vacinadas, que à data já tinham iniciado atividade sexual, e que voluntariamente se deslocaram às consultas das unidades participantes das respetivas regiões de saúde.

As amostras clínicas foram colhidas por *cytobrush*, a extração de DNA foi realizada utilizando o sistema automático NucliSENS® easyMAG® (Biomérieux). A deteção e tipificação do HPV foi efetuada pela técnica de *microarrays*, com o sistema comercial CLART® HPV2 (Genomica, Espanha). Esta técnica amplifica um fragmento de 450pb da região L1, que permite a identificação de 35 genótipos do HPV (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43,44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 85 e 89), segundo as indicações do fabricante (16).

Efetuiu-se também a análise molecular convencional que incluiu a amplificação por PCR da região L1, seguida de purificação e sequenciação, de modo a determinar a presença

de outros genótipos de HPV não detetados pelo sistema comercial CLART®HPV2. A classificação dos tipos de genótipos HPV obtidos baseou-se na nomenclatura determinada pelo IARC (3).

Resultados e discussão

Entre setembro de 2014 e dezembro de 2016 foram estudadas 152 mulheres jovens vacinadas com atividade sexual ativa, com idades compreendidas entre os 14 e os 30 anos, sendo a média de idades de 21 anos. Das 152 mulheres estudadas, 28,3% (43/152) apresentaram uma infeção por HPV (gráfico 1).

Das 43 mulheres positivas para a infeção por HPV, 58,1% (25/43) estavam infetadas com genótipos de alto risco, sendo que duas das mulheres apresentaram infeção pelo genótipo HPV 16. Em 41,8% (18/43) das mulheres foram identificados genótipos de possível alto risco e em 25,6% (11/43) verificou-se a presença de genótipos de baixo risco (tabela 1).

Foram identificados 21 genótipos de HPV quer em infeções simples quer mistas o que perfaz um total de 66 HPV identificados.

O HPV mais frequente foi o genótipo de alto risco, HPV 51, observado em 15,2% (10/66) dos tipos de HPV identificados. Para além deste, os outros genótipos mais frequentes foram o HPV 53 e o HPV 66, ambos classificados como genótipos de possível alto risco e ambos detetados em 12,1% (8/66) dos casos. Dos genótipos de baixo risco o mais frequente foi o HPV 42, representando 9,1% (6/66) dos casos de infeção por HPV (gráfico 2).

Nas amostras positivas para os genótipos de alto risco, os tipos de HPV 45, 52 e 58 foram detetados em 10,6% (7/66) dos casos. Estes genótipos encontram-se incluídos na vacina nonavalente (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58) que desde janeiro de 2017, substituiu a vacina tetravalente no PNV, aumentando assim a proteção conferida pela vacina até agora utilizada e potencialmente irá prevenir um maior número de casos de cancro do colo do útero.

Em 32,6% (14/43) das mulheres infetadas foi identificado mais do que um genótipo (infeções mistas), a maioria destas coinfeções estava associada com genótipos HPV de alto risco (12/14).

Gráfico 1: Distribuição dos casos infeção por HPV, setembro de 2014-dezembro de 2016.

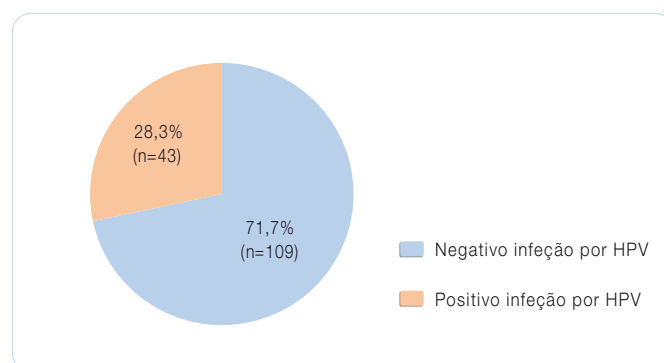
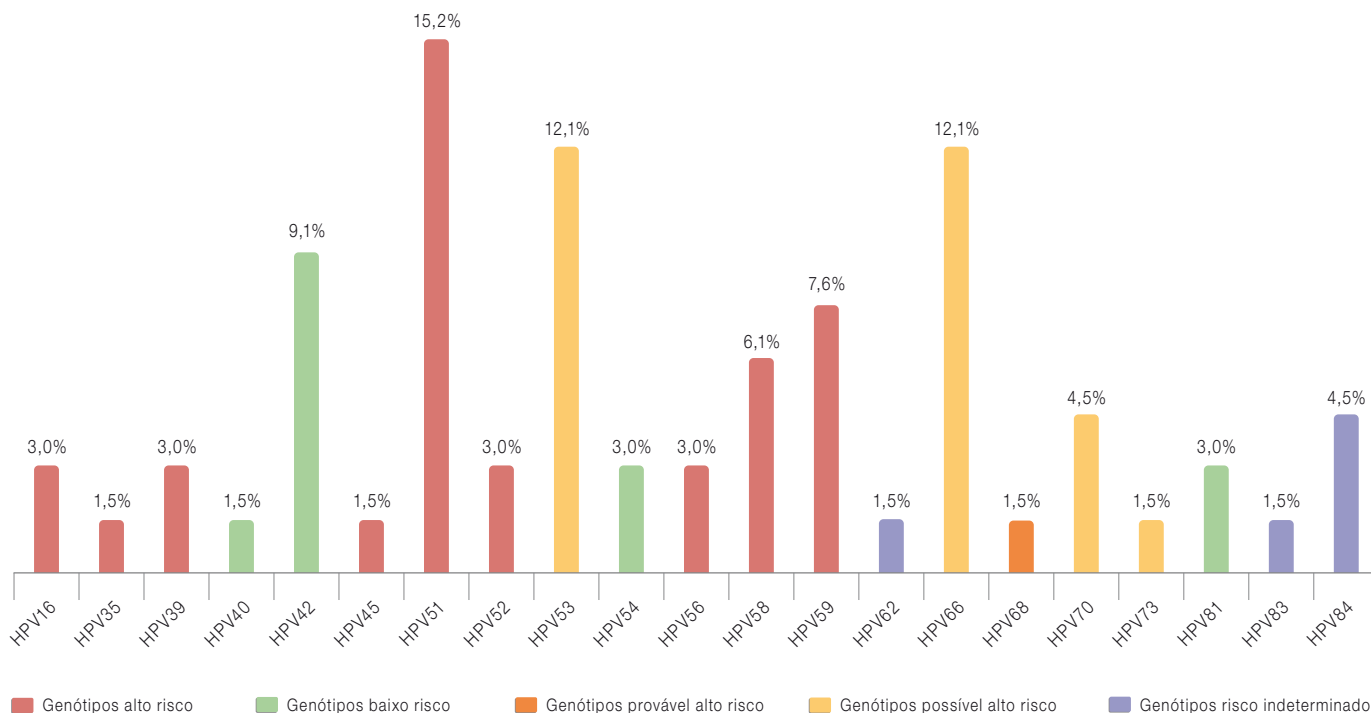


Tabela 1: Genótipos de HPV detetados segundo o potencial oncogénico nas 43 mulheres com infeção por HPV, setembro de 2014-dezembro de 2016.

	nº mulheres estudadas	nº mulheres infetadas por HPV	Genótipos alto risco		Genótipos baixo risco		Genótipos possível alto risco		Genótipos risco indeterminado	
			nº mulheres infetadas*	%	nº mulheres infetadas*	%	nº mulheres infetadas*	%	nº mulheres infetadas*	%
Total	152	43	25	58,1	11	25,6	18	41,8	5	11,6

* as mulheres podem estar infetadas com mais de que um genótipo de HPV.

Gráfico 2: Distribuição dos genótipos de HPV detetados nas 43 mulheres* com infeção por HPV, setembro de 2014-dezembro de 2016.

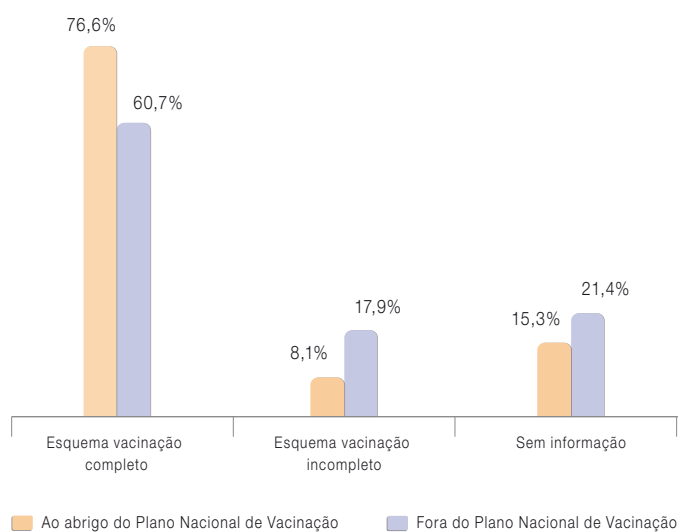


* as mulheres podem estar infetadas com mais do que um genótipo de HPV.

Foi possível conhecer a história vacinal das 152 mulheres estudadas, em que 81,6% (124/152) foram vacinadas ao abrigo do PNV e 18,4% (28/152) foram vacinadas fora do PNV. Das mulheres vacinadas ao abrigo do PNV, 76,6% (95/124) cumpriram o esquema de vacinação preconizado, aquando da introdução da vacina no PNV. Destas mulheres, 76 nasceram depois de 1995, tendo iniciado a vacinação aos 13 anos, de acordo com o PNV. Acresce que, também no âmbito do PNV, as 48 mulheres que nasceram entre 1992 e 1994, foram vacinadas durante a campanha de vacinação que decorreu entre 2009 e 2011, dirigida às mulheres que completavam 17 anos nestes dois anos civis.


Das 28 mulheres que foram vacinadas fora do PNV, 60,7% (17/28) respeitaram o esquema de vacinação recomendado pelo PNV (gráfico 3), verificando-se que a vacina administrada neste grupo de mulheres foi a tetravalente, à exceção de duas para as quais não se possui informação.

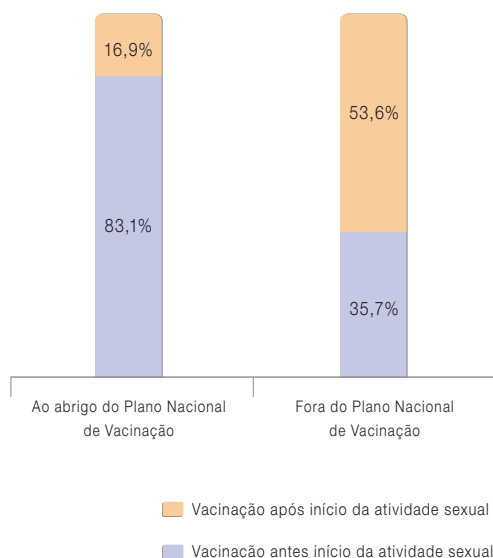
Gráfico 3: Esquema de vacinação de acordo com o número de doses recomendadas pelo PNV na população estudada, setembro de 2014-dezembro de 2016.



Os fatores de risco para a aquisição da infeção por HPV são comuns às outras infeções sexualmente transmissíveis. As 152 mulheres estudadas, entre setembro 2014 e dezembro de 2016, tinham uma média de idades de início da atividade sexual de 16,8 anos, 88,8% (135/152) das quais tiveram um parceiro sexual nos últimos três meses e 44,1% (67/152) declararam usar preservativo.

Das mulheres vacinadas ao abrigo do PNV, 83,1% (103/124) iniciaram a atividade sexual após a administração da vacina, enquanto 53,6% (15/28) das mulheres vacinadas fora do PNV iniciaram a atividade sexual antes da administração da vacina (gráfico 4).

Gráfico 4:  Proporção de mulheres vacinadas ao abrigo do PNV e fora do PNV antes e após o início da atividade sexual, setembro de 2014-dezembro de 2016.



_Conclusão

Neste estudo a maioria das mulheres vacinadas com atividade sexual ativa não estavam infetadas por HPV.

Do total de mulheres infetadas observou-se a deteção de uma elevada frequência de genótipos HPV de alto risco associados ao cancro do colo do útero, dos quais apenas dois casos pelo genótipo HPV 16, presente na vacina. Tendo em conta que a vacina só confere total proteção se for administrada antes do

contacto com o vírus, a única forma de garantir a efetividade vacinal é a administração ocorrer antes do início da atividade sexual. Os casos de infeção pelo HPV 16 encontrados neste estudo não podem ser considerados como falência da vacina, uma vez que as duas mulheres vacinadas tinham iniciado atividade sexual antes da administração da vacina do HPV. Esta constatação realça a importância da administração da vacina antes do início da atividade sexual.

Acresce que se observou que a maioria das mulheres vacinadas com infeção por HPV que iniciaram a sua atividade sexual após a vacinação não apresentaram infeção para os genótipos incluídos na vacina. Este facto sugere, só por si, a eficácia da vacina na prevenção da infeção por HPV e reforça a decisão de Portugal incluir a mesma no PNV.

Agradecimentos

A todos os médicos e enfermeiros das Unidades de Saúde que integram o Grupo de Estudo da Vacina do HPV pela disponibilidade demonstrada para efetuarem a seleção da população-alvo e a colheita das amostras clínicas necessárias para o estudo. Aos Colegas da Unidade de Tecnologia e Inovação do Departamento de Genética do INSA. À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012. Cervical cancer – Estimated incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 [Em linha]. WHO/IARC, 2015. [consult. 27/4/2017]. <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/cervix-new.asp>
- (2) Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, et al. ; CLEOPATRE Portugal Study Group. Prevalence of Human Papillomavirus Infection in Women in Portugal: The CLEOPATRE Portugal Study. Int J Gynecol Cancer. 2011;21(6):1150-8.
- (3) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses. Lyon: Agency for Research on Cancer, 2007. (IARC monographs on the evolution of carcinogenic risks to humans; 90). <https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol90/mono90.pdf>
- (4) Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al.; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types associated with Cervical Cancer. N Engl J Med. 2003; 348(6):518-27. www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa021641
- (5) Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. Vaccine. 2006;24(Suppl 3):S3/1-10.
- (6) European Centre for Disease Prevention and Control. Guidance for the Introduction of HPV Vaccines in EU Countries. Stockholm: ECDC, 2008.
- (7) Monk BJ, Tewari KS. The spectrum and clinical sequelae of human papillomavirus infection. Gynecol Oncol. 2007;107(2 Suppl 1):S6-13.

artigos breves_ n. 1

- (8) Kjaer SK, Tran TN, Sørensen P, et al. The burden of genital warts: a Study of nearly 70.000 women from the general female population in the 4 Nordic countries. *J Infect Dis.* 2007;196(10):1447-54.
- (9) European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use. EMA/CHMP/76588/2015, 2015 March 26. Summary of opinion (initial authorisation) on Gardasil 9- human papillomavirus 9-valent vaccine (recombinant, adsorbed). www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/003852/WC500184904.pdf
- (10) Riethmuller D, Jacquard AC, St Guily JL et al. Potential impact of a nonavalent HPV vaccine on the occurrence of HPV-related diseases in France. *BMC Public Health.* 2015;15:453. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4433025/
- (11) Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa nº 22/DSCS/DPCD, de 17/10/2008. Programa Nacional de Vacinação (PNV) Introdução da vacina contra infeções por Vírus do Papiloma Humano. www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i010243.pdf
- (12) Direção-Geral da Saúde. Norma nº 016/2014, de 29/09/2014 (atualizada a 01/10/2014). Programa Nacional de Vacinação - Alteração do esquema da vacina contra infeções por vírus do Papiloma humano (HPV). www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0162014-de-29092014.aspx
- (13) Direção-Geral da Saúde. A vacinação contra o vírus do papiloma humano (HPV) em Portugal. *Boletim Vacinação.* 2014; 8 (edição especial). www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/boletim-vacinacao-edicao-especial-abril-2014-pdf.aspx
- (14) Direção-Geral da Saúde. Norma nº 016/2016, de 16/12/2016. Novo Programa Nacional de Vacinação - PNV 2017. www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0162016-de-16122016.aspx
- (15) Deleré Y, Remschmidt C, Leuschner J, et al. Human Papillomavirus prevalence and probable first effects of vaccination in 20 to 25 years-old women in Germany: a population-based cross-sectional study via home-based self-sampling. *BMC Infectious Diseases.* 2014; 14:87. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3933406/
- (16) CLART® Papillomavirus Humano 2 – Genotipagem de Papilomavirus Humano por identificação genómica para diagnóstico in vitro. Genomica, S.A.U.; Espanha. 2015; vs13.

Ixodídeos removidos de humanos e agentes infecciosos detetados no âmbito da Rede de Vigilância de Vetores (REVIVE), 2011-2015

Ticks collected from humans and tick-borne agents within the National Network for Vector Surveillance (REVIVE), 2011-2015

Maria Margarida Santos Silva¹, Isabel Lopes de Carvalho¹, Ana Sofia Santos¹, Maria Sofia Núncio¹, Rita de Sousa¹;
Equipa REVIVE²

m.santos.silva@insa.min-saude.pt

(1) Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Águas de Moura, Portugal.

(2) Administrações Regionais de Saúde do Algarve, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo e Norte; Direção-Geral da Saúde; Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

_Resumo

A Rede de Vigilância de Vetores REVIVE – Ixodídeos foi desenvolvida em Portugal para vigiar e aumentar o conhecimento sobre as espécies de ixodídeos presentes e dos agentes patogénicos a estes associados. Esta rede foi estabelecida em 2011 apresentando este estudo os resultados obtidos nos primeiros cinco anos de vigilância nas carraças removidas de humanos, relativamente às espécies ixodológicas, sua abundância, sazonalidade e presença de *Rickettsia* e *Borrelia*.

_Abstract

REVIVE - Ticks is a National Network for Vector Surveillance developed to enhance knowledge about ticks and the pathogens that they may carry. The Network was established in 2011 and this study presents the results obtained during five years of surveillance of ticks removed from humans concerning tick species, relative abundance, seasonality and the presence of *Rickettsia* and *Borrelia*.

_Introdução e objetivo

Os ixodídeos, vulgarmente designados por carraças, são artrópodes hematófagos estritos, ectoparasitas de vertebrados terrestres. A sua importância em saúde pública resulta do facto de serem vetores de agentes patogénicos para o Homem e para outros animais.

Em Portugal, as doenças mais frequentes causadas por agentes transmitidos por ixodídeos são a febre escaro nodular (FEN), também denominada por febre da carraça, e a borreliose de Lyme (BL), ambas doenças de declaração obrigatória. Contudo,

e porque no nosso país estão descritas outras patologias para além das acima citadas, existe a necessidade de vigiar e conhecer a distribuição dos ixodídeos assim como os agentes etiológicos que estes podem transmitir ao Homem. Para responder a essa necessidade foi criada em Portugal a Rede Nacional de Vigilância de Vetores (REVIVE - Ixodídeos) em 2011.

Neste estudo, apresentam-se os resultados obtidos nos primeiros cinco anos do REVIVE referentes à identificação das espécies de ixodídeos removidos de humanos e à caracterização molecular dos dois grupos de agentes patogénicos (*Rickettsia* e *Borrelia*) identificados nestes vetores.

_Material e métodos

Durante o período de maio de 2011 a dezembro de 2015 foram recolhidos e analisados todos os ixodídeos removidos de indivíduos que recorreram às unidades hospitalares, aos centros de saúde das cinco Administrações Regionais de Saúde (ARS) do continente e ao Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (CEVDI-INSA). Os ixodídeos foram identificados no CEVDI-INSA sobretudo com base em chaves taxonómicas, sustentadas pela observação de características morfológicas externas. Posteriormente foi realizada a extração de DNA de cada um desses ixodídeos e realizada a deteção de DNA específico de *Rickettsia* e *Borrelia* pela técnica *polimerase chain reaction* (PCR). As amostras positivas foram sequenciadas para a identificação da espécie do agente etiológico.

_Resultados

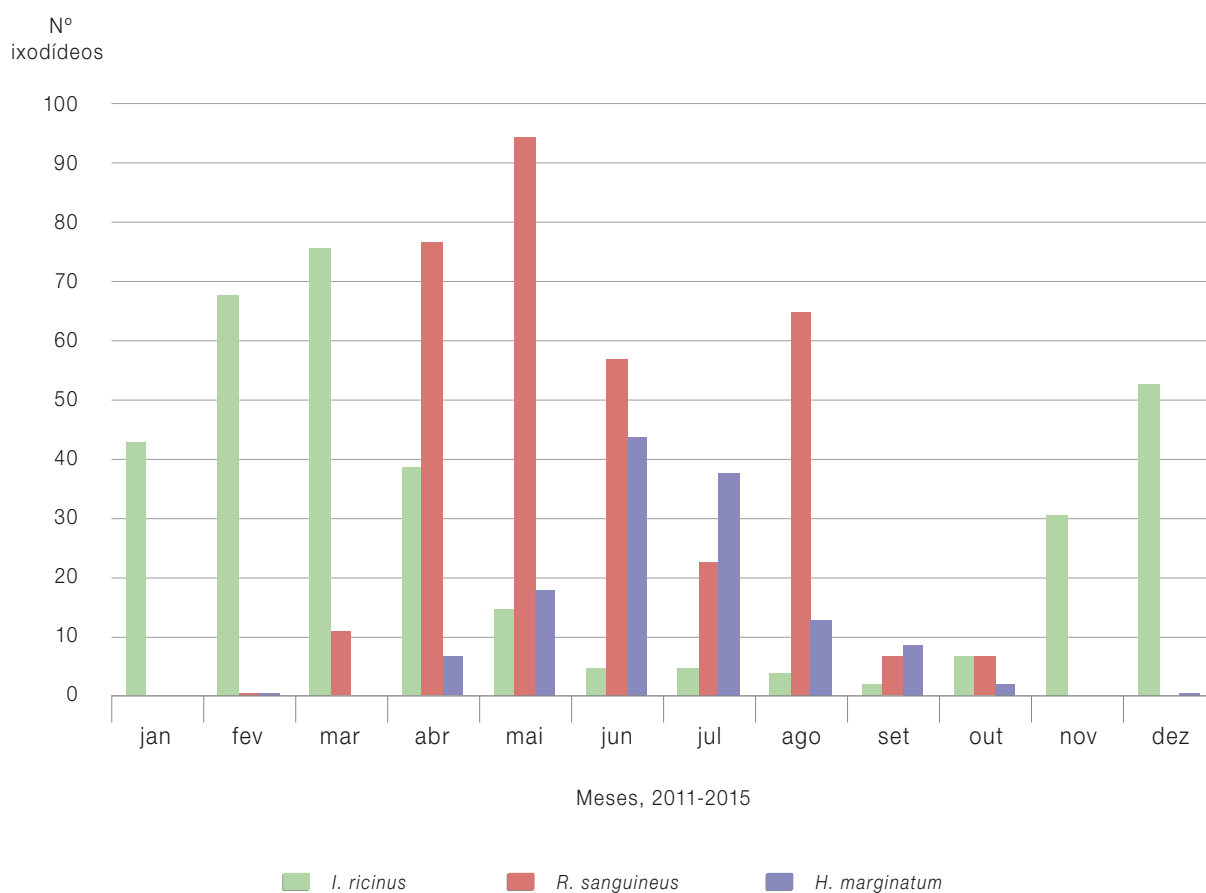
No âmbito da Rede REVIVE, foram removidos 1010 ixodídeos, dos quais 905 (89,6%) eram adultos, 104 (10,3%) ninfas e uma larva (0,1%). As três espécies mais frequentemente encontradas a parasitar o Homem foram *Ixodes ricinus* (n=348; 34,5%), *Rhipicephalus sanguineus* (n=343; 34,0%) e *Hyalomma marginatum* (n=133; 13,2%). A distribuição destas espécies por mês de captura entre 2011 e 2015 é apresentada no gráfico 1.

As espécies menos frequentes foram *H. lusitanicum* (n=74; 7,3%), *Dermacentor marginatus* (n=36; 3,6%), *R. bursa* (n=19; 1,9%), *I. ventalloi* (n=6; <1%), *R. pusillus* (n=6; <1%), *D. reticulatus* (n=1; <1%) e *Haemaphysalis punctata* (n=1; <1%). Foi ainda

identificada uma espécie não autóctone, *Amblyomma* spp. removida de um indivíduo proveniente dos Estados Unidos da América. Em 4% (41/1010) dos ixodídeos não foi possível identificar a espécie em virtude dos exemplares se apresentarem danificados.

Entre 2011 e 2015, a espécie *I. ricinus* apresentou um maior período de atividade parasitária para o Homem entre dezembro e março. Em relação à espécie *R. sanguineus* a maior abundância foi observada entre abril e agosto e a espécie *H. marginatum* foi mais frequente nos meses de junho e julho durante os cinco anos sob observação (gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição das três espécies de ixodídeos mais frequentes que parasitam o Homem, 2011-2015.



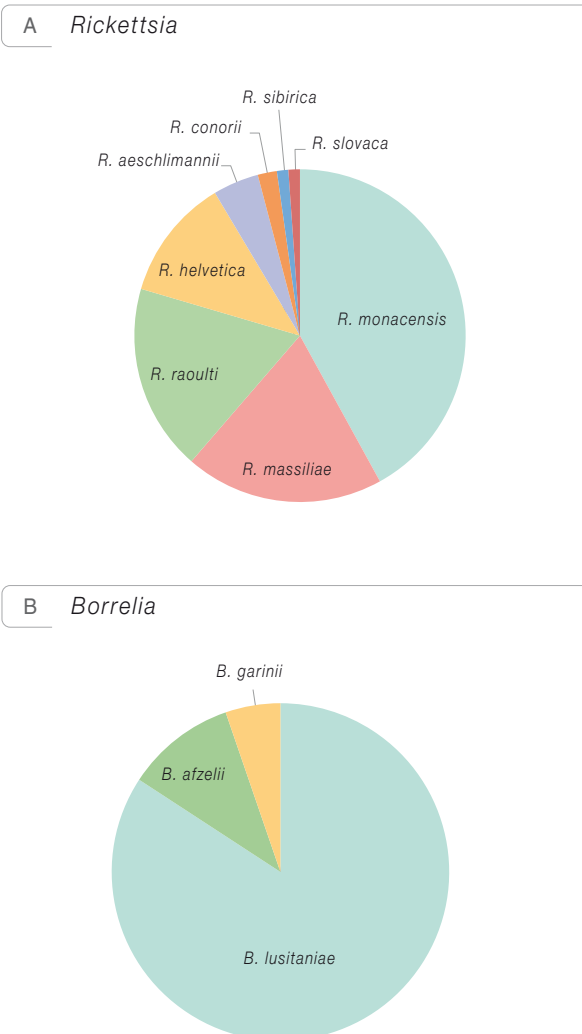
artigos breves_ n. 2

Na pesquisa de agentes etiológicos removidos dos humanos foram identificadas oito espécies de *Rickettsia* e três de *Borrelia* (gráfico 2). Num total de 269 carraças positivas para *Rickettsia* spp., a espécie *R. monacensis* (n=113, 42%) foi a mais frequente, seguida das espécies *R. massiliae* (n= 52; 19%), *R. raoulti* (n= 49; 18%), *R. helvetica* (n= 32; 12%), *R. aeschlimannii* (n=12; 4,4%), *R. conorii* (n=5; 1,8%), *R. sibirica mongolitimona* (n=3; 1,1%) e *R. slovaca* (n=3; 1,1%) (gráfico 2). É contudo de salientar que as espécies menos frequentes, nomeadamente *R. aeschlimannii*, *R. conorii*, *R. sibirica mongol-*

timonae e *R. slovaca*, são as comprovadas como patogénicas para o Homem. Relativamente às espécies de *Borrelia* a mais frequente nas carraças removidas dos humanos foi *B. lusitaniae* (n=32, 84,2%), seguida de *B. afzelii* (n=4; 10,5%) e *B. garinii* (n=2; 5,3%) e todas foram maioritariamente detetadas em *Ixodes ricinus*.

Este estudo confirma a associação já conhecida que existe entre as espécies de agentes patogénicos para o Homem e as espécies de ixodódeos que as podem transmitir (quadro 1).

Gráfico 2: Distribuição das espécies de *Rickettsia* (A) e *Borrelia* (B) encontradas em ixodódeos removidos do Homem, 2011-2015.



Quadro 1: Agentes bacterianos detectados em ixodódeos removidos do Homem, 2011-2015.

Agentes bacterianos detetados	Espécies de ixodódeos infectados
Rickettsia	
<i>R. conorii</i>	<i>R. sanguineus</i>
<i>R. massiliae</i>	<i>R. sanguineus</i>
<i>R. sibirica mongolitimona</i>	<i>R. pusillus</i> , <i>R. sanguineus</i>
<i>R. slovaca</i>	<i>D. marginatus</i> ; <i>D. reticulatus</i>
<i>R. raoulti</i>	<i>D. marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> , <i>H. marginatum</i>
<i>R. helvetica</i>	<i>I. ricinus</i>
<i>R. monacensis</i>	<i>I. ricinus</i>
<i>R. aeschlimannii</i>	<i>H. marginatum</i>
Borrelia	
<i>B. burgdorferi</i> s.s	<i>I. ricinus</i>
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. ventalloi</i> , <i>R. sanguineus</i>
<i>B. garinii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>R. sanguineus</i>
<i>B. valaisiana</i>	<i>I. ricinus</i>
<i>B. lusitaniae</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. hexagonus</i> , <i>D. marginatus</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>H. marginatum</i>
<i>B. spielmanii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>R. sanguineus</i>

_Discussão e conclusões

Dada a diversidade de agentes etiológicos transmitidos por ixodídeos que podem infetar o Homem, as duas espécies mais frequentes em Portugal são *R. sanguineus* e *I. ricinus*. A espécie *R. sanguineus* é a predominante em Portugal continental e está associada à transmissão de *R. conorii*, agente da febre escarionodular. Esta espécie está mais ativa no período da primavera-verão parasitando particularmente os cães, pelo que, e devido à proximidade entre este hospedeiro e o Homem, a sua introdução em ambientes domésticos e o subsequente parasitismo do Homem está facilitado. É também de assinalar a captura de *I. ricinus*, carraça vetor de *B. burgdorferi* s.l., agente etiológico da borreliose de Lyme. Este ixodídeo está habitualmente ativo nos meses mais frios e húmidos, que correspondem aos períodos de atividade das formas adultas que pelas suas dimensões são mais frequentemente detetadas no Homem do que as formas imaturas, revelando ainda o seu carácter antropofílico. A espécie *H. marginatum*, mais ativa entre abril e setembro, aparece neste estudo como a terceira espécie mais importante em termos de parasitismo humano (1). A percentagem de carraças danificadas que chegam ao laboratório é considerável e impede quer a identificação da espécie quer uma informação final completa, pelo que, a remoção atempada da carraça é tão importante como a forma correta de a executar.

O projeto REVIVE tem contribuído para um conhecimento sistemático da fauna de ixodídeos em Portugal, bem como dos agentes patogénicos que estes vetores podem transmitir ao Homem. Apesar de, até à data, o REVIVE - Ixodídeos realizar apenas a pesquisa de agentes bacterianos, os ixodídeos são também vetores de protozoários e de vírus, nomeadamente do vírus da febre hemorrágica Crimeia-Congo (CCHF). Contudo, dada a inexistência de casos humanos de CCHF no País, a pesquisa destes agentes não tem sido considerada prioritária. No entanto, as metodologias de diagnóstico de infeções em humanos e a deteção do agente em ixodídeos já se encontram padronizadas e implementadas no CEVDI-INSA, permitindo assegurar a prevenção e a resposta rápida em caso de surtos de CCHF, pelo que este agente poderá ser rapidamente incluí-

do no programa de vigilância REVIVE. A análise dos resultados obtidos no âmbito de programas de vigilância, permanentes e abrangentes ao território nacional, são essenciais para a deteção em tempo real de qualquer alteração na abundância, distribuição geográfica, na diversidade e na capacidade vetorial, permitindo que as autoridades de Saúde Pública tomem atempadamente as medidas de prevenção adequadas, controlo ou mitigação de surtos deste tipo de doenças.

Agradecimentos

Agradece-se à Rede REVIVE, que integra delegados de saúde, técnicos de saúde ambiental, médicos, enfermeiros e outros técnicos e profissionais de saúde das cinco Administrações Regionais de Saúde, bem como a todos profissionais do CEVDI do INSA I.P. À Doutora Cristina Furtado agradece-se a revisão científica do artigo.

Referência bibliográfica:

- (1) Santos-Silva MM, Sousa R, Carvalho IL, et al. Ixodídeos. In: Relatório REVIVE 2011-2015 - Culicídeos e Ixodídeos: Rede de Vigilância de Vetores. Lisboa: INSA IP, 2016. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3781>

FIND: a importância do diagnóstico no tratamento das mucopolissacaridoses

FIND: the importance of early diagnosis in mucopolysaccharidoses

Paulo Gaspar¹, Sandra Alves², Elisa Leão Teles³, Laura Vilarinho^{1,2}

paulo.gaspar@insa.min-saude.pt

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

(2) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal.

(3) Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo, Sociedade Portuguesa de Pediatria, Porto, Portugal.

_Resumo

As Mucopolissacaridoses (MPS) são um sub-grupo das Doenças Lisossomais de Sobrecarga, causadas por deficiências em enzimas lisossomais, que catalisam a degradação dos glicosaminoglicanos (também designados GAGs ou mucopolissacarídeos), que se acumulam nos lisossomas de diferentes órgãos e tecidos. As MPS têm apresentação multissistémica, com diferentes graus de gravidade, e evolução variável. Sendo patologias de apresentação heterogénea e consequentemente de diagnóstico difícil, o objetivo do estudo FIND, que resulta de uma parceria entre a Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo da Sociedade Portuguesa de Pediatria e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, é alertar os clínicos para sinais e sintomas de risco ao mesmo tempo que disponibiliza uma ferramenta de diagnóstico. Este diagnóstico é efetuado através da determinação enzimática em sangue colhido em cartão, sendo possível a identificação da enzima deficiente, em sete tipos de MPS. O estudo FIND, devido à forma fácil e económica de obtenção de amostra, associada à baixa quantidade necessária para a análise, coloca à disposição dos clínicos, um ótimo meio para a identificação e caracterização de casos sintomáticos de MPS em idade pediátrica.

_Abstract

Mucopolysaccharidoses (MPS) are a sub-group of Lysosomal Storage Disorders, caused by the impairment of lysosomal enzymes, that are responsible for the degradation of Glycosaminoglycans (also known as GAGs or mucopolysaccharides), which are stored in the lysosome. MPS are multissystemic disorders, with different degrees of severity and evolution. Since they have a wide spectrum of presentation, becoming the diagnosis very difficult, it appears the Project FIND, that results from the association between Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo da Sociedade Portuguesa de Pediatria and Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, in order to claim awareness to red flags of MPS and to provide a useful tool to diagnose it. This diagnosis is done by measuring lysosomal enzymatic activities in dried blood spots, in order to detect the deficient one. Project FIND, due to the small amount, inexpensive and easy way to collect the sample, make available to the physicians a good way to identify and characterize symptomatic MPS patients at pediatric age.

_Introdução

As Doenças Lisossomais de Sobrecarga (DLS) são um grupo de mais de 50 doenças hereditárias do metabolismo, caracterizadas pela ausência ou deficiência de uma ou mais proteínas, nomeadamente enzimas lisossomais, envolvidas na degradação e reciclagem de macromoléculas. Como consequência, verifica-se uma acumulação progressiva de diferentes produtos (proteínas, polissacarídeos, lípidos) no interior do lisossoma conduzindo a uma disfunção de células, tecidos e órgãos (1). Embora individualmente raras, no seu conjunto têm uma prevalência de 1/5.000 nados-vivos na população mundial, sendo de 1/4.000 na população portuguesa (2,3).

As Mucopolissacaridoses (MPS) são um sub-grupo de doenças metabólicas de sobrecarga lisossomal, geneticamente heterogéneas, originadas pelo deficiente catabolismo dos mucopolissacarídeos, designados também por glicosaminoglicanos (GAGs). À exceção da MPS II (com modo de transmissão ligada ao cromossoma X), as MPSs são de transmissão autossómica recessiva. Estão descritos 11 tipos de MPSs, de acordo com a enzima deficiente implicada no catabolismo dos glicosaminoglicanos (quadro 1). Apesar do mecanismo não estar completamente descrito, a acumulação de GAGs altera a homeostasia de células e órgãos, assumindo um papel fulcral nos sintomas apresentados e na progressão da doença (4,5). Os GAGs, uma família de glicoconjugados, englobam o sulfato de dermatano, sulfato de queratano, sulfato de heparano, sulfato de condroitina e o ácido hialurónico, que se acumulam, dependendo da deficiência enzimática presente (6).

Quadro 1: ↓ Deficiência enzimáticas e GAGs excretados nas Mucopolissacaridoses.

Mucopolissacaridose	Doença	Deficiência Enzimática	Glicosaminoglicanos excretados
MPS I	Hurler, Scheie, Hurler\Scheie	α - L-iduronidase	DS/ HS
MPS II	Hunter	Iduronato-2-sulfatase	DS/ HS
MPS III - Sanfillipo	A	Heparano-N-sulfatase	HS
	B	N-acetil- α -D-glucosaminidase	
	C	Acetil-CoA- α -glucosaminidase-N-acetiltransferase	
	D	N-acetilglucosamina- 6-sulfatase	
MPS IV	Morquio A	Galactose-6-sulfatase	KS / CS
	Morquio B	β -galactosidase	KS
MPS VI	Maroteaux-Lamy	Ariisulfatase B	DS
MPS VII	Sly	β -Glucuronidase	DS / HS / CS
MPS X	Deficiência em Hialuronidase	Hialuronidase	AH

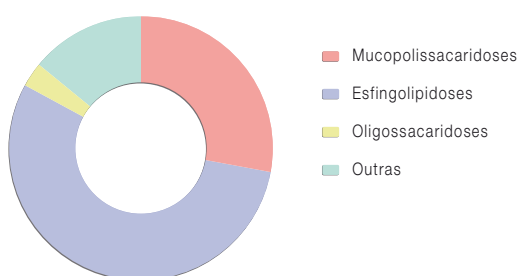
DS – sulfato de dermatano; KS – sulfato de queratano; HS – sulfato de heparano; CS – sulfato de condroitina; AH – Ácido Hialurónico

A prevalência das MPS pode ser superior ao estimado, uma vez que estas doenças nem sempre são clinicamente detetáveis ao nascimento, dado que, os seus sintomas podem só ser percebidos com o decorrer dos primeiros anos de vida, à medida que os produtos tóxicos não eliminados se vão acumulando no organismo (4,5). Em Portugal, as Mucopolissacaridoses representam 28% das Doenças Lisossomais de Sobrecarga, apresentando uma prevalência de 4,8/100.000 (3,7) (gráfico 1).

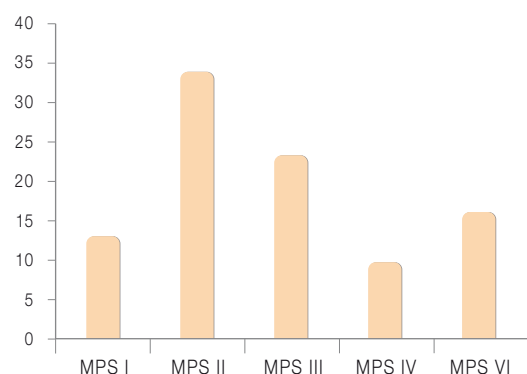
Embora um largo espectro de heterogeneidade fenotípica tenha sido descrito dentro da mesma MPS e entre MPSs, todas elas são crónicas e progressivas, sendo as principais características a presença de nanismo, organomalias, infecções respiratórias recorrentes, hérnias, rigidez articular, disostose múltipla, fâcies grosseiras e em certos casos atraso neurocognitivo. Os sintomas apresentados pelas MPS dependem essencialmente do tipo de GAG que se acumula; as MPS III caracterizam-se

Gráfico 1 (A-B): ↓ Frequência das diferentes doenças lisossomais de sobrecarga (DLS) em Portugal.

A Frequência dos diferentes grupos de DLS



B Frequência das diferentes Mucopolissacaridoses



Adaptado de Pinto et al (9)

pela presença de demência rapidamente progressiva, distúrbios do sono e hiperatividade; já a opacidade da córnea ocorre essencialmente na MPS I e MPS VI; e a MPS IV apresenta essencialmente hiper mobilidade das articulações e displasia esquelética (5). Mas a identificação dos doentes de MPS não é fácil, particularmente para as formas mais atenuadas de MPS. Cimaz *et al* verificou que, menos de 20% das formas atenuadas de MPS I são identificadas corretamente (8). Como consequência, verificam-se atrasos significativos no diagnóstico correto da patologia, impedindo uma intervenção atempada, que poderia evitar a progressão da doença e prevenir a ocorrência de danos irreversíveis (9). No que respeita a Portugal, a idade média de diagnóstico das MPS ronda os 6-7 anos de idade (3). Nos últimos anos, terapias de substituição enzimática têm sido desenvolvidas e aprovadas para algumas MPS, nomeadamente para a MPS I, II, IVA e VI (10, 11). Uma vez que a eficácia terapêutica é maior quando a terapia se inicia antes do aparecimento dos sintomas mais limitantes, torna-se imperativo que o diagnóstico destas patologias se faça o mais cedo possível (12). O diagnóstico das MPS passa por uma caracterização bioquímica e molecular, podendo este ser efetuado em leucócitos, fibroblastos ou mais recentemente em amostras de sangue colhidas em papel de filtro.

A identificação da enzima deficiente e/ou a alteração no gene que a codifica, permite iniciar uma terapia específica e/ou tratamentos mais adequados, receber aconselhamento genético correto e disponibilizar um diagnóstico pré-natal.

_Objetivos

O estudo FIND, resultante de uma parceria entre a Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo da Sociedade Portuguesa de Pediatria (SDHM-SPP) e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), tem como objetivos principais: a divulgação dos sinais de alerta que permitam equacionar o diagnóstico de uma MPS e a disponibilização de uma ferramenta que possibilite o estudo e diagnóstico deste grupo de patologias.

_Material e métodos

Perante a variação fenotípica e sintomatologia inicial, por vezes sobreponível a outras doenças mais comuns, torna-se fundamental alertar os clínicos para estes sinais e sintomas de risco, sendo este o papel da Secção de Doenças Hereditárias do Metabolismo, na informação e formação dos profissionais e população. Para a realização do diagnóstico atempado é então disponibilizado um meio de despiste de fácil acesso e de rápida resposta, que permitirá a identificação dos diferentes tipos de MPS. À semelhança do estudo efetuado em Espanha (13, 14), o clínico, perante uma suspeita de MPS, solicita o envio de um *kit* de diagnóstico através do e-mail projecto.find@gmail.com, fornecendo os seus contactos para o envio do mesmo. Cada *kit* contém o cartão para recolha de amostra, requisição da análise, instruções de colheita e quadro com os sintomas que o doente pode apresentar. Após a colheita da amostra de sangue no cartão apropriado e do formulário preenchido, a amostra é enviada para a Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética do Departamento de Genética Humana do INSA, no Porto, Portugal. O diagnóstico de sete diferentes tipos de MPS, é efetuado através da determinação enzimática em amostra de sangue colhido em cartão, com identificação da enzima deficiente, responsável pela patologia. O ensaio enzimático é realizado em placas de 96 poços, com a incubação de discos de 3,2mm de diâmetro com substratos fluorescentes específicos para cada uma das MPS. No fim do ensaio, a fluorescência é lida (excitação, 345nm; emissão, 460nm), o resultado é obtido com uma curva de calibração do padrão 4-metilumbelliferona e expresso em nmol\hspot.

_Discussão e resultados

O estudo FIND, devido à forma fácil e económica de obtenção de amostra em sangue seco, associada à baixa quantidade necessária para a análise, coloca à disposição dos clínicos, um ótimo meio para a identificação e caracterização de casos sintomáticos de Mucopolissacaridoses em idade pediátrica, conduzindo-os o mais atempadamente possível para um tratamento específico. Por outro lado, permitirá a averiguação mais realista da verdadeira prevalência das Mucopolissacaridoses como um todo e isoladamente.

Referências bibliográficas:

- (1) Neufeld EF. Lysosomal storage diseases. *Annu Rev Biochem.* 1991;60:257-80. Review.
- (2) Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, et al. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA.* 1999;281(3):249-54.
- (3) Pinto R, Caseiro C, Lemos M, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet.* 2004;12(2):87-92.
www.nature.com/ejhg/journal/v12/n2/full/5201044a.html
- (4) Wilcox WR. Lysosomal storage disorders: the need for better pediatric recognition and comprehensive care. *J Pediatr.* 2004;144(Suppl 5):S3-14. Review.
- (5) Clarke LA. Pathogenesis of skeletal and connective tissue involvement in the mucopolysaccharidoses: glycosaminoglycan storage is merely the instigator. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(Suppl 5):v13-8.
- (6) Coutinho MF, Lacerda L, Alves S. Glycosaminoglycan storage disorders: a review. *Biochem Res Int.* 2012;2012:471325. Epub 2011 Oct 5.
www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3195295/
- (7) Coutinho MF, Duarte AJ, Matos L, et al. Doenças lisossomais de sobrecarga em Portugal: 10 anos de experiência em estudos moleculares no INSA (2006-2016). *Boletim Epidemiológico Observações.* 2015;5(Supl 7):16-20.
<http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3787>
- (8) Cimaz R, Coppa GV, Koné-Paut I, et al. Joint contractures in the absence of inflammation may indicate mucopolysaccharidosis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2009;7:18.
www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2775028/
- (9) Lehman TJ, Miller N, Norquist B, et al. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(Suppl 5):v41-8. Review.
- (10) Giugliani R, Federhen A, Vairo F, et al. Emerging drugs for the treatment of mucopolysaccharidoses. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2016;21(1):9-26.
- (11) Giugliani R. The mucopolysaccharidoses. In: Metha A, Winchester B (eds). *Lysosomal Storage Disorders — A Practical Guide.* Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell, 2012, pp. 94-100.
- (12) Giugliani R. Mucopolysaccharidoses: From understanding to treatment, a century of discoveries. *Genet Mol Biol.* 2012;35(Suppl 4):924-31.
www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3571427/
- (13) Colón Mejeras C. Proyecto FIND: la importancia de un diagnóstico precoz. *Acta Pediatr Esp.* 2015;73(3):56-59
- (14) Colón Mejeras C, Álvarez González JV, Couce Pico ML. Proyecto FIND. Resultados del primer año de trabajo en la detección precoz de las mucopolisacaridosis. *Acta Pediatr Esp.* 2015;73(10): 265-267.

Síndromes de deficiência em creatina cerebral: 13 anos de experiência em Portugal

Cerebral creatine deficiency syndromes: 13 years experience in Portugal

Carla Valongo, Altina Lopes, Laura Vilarinho

carla.valongo@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

Os síndromes da deficiência em creatina cerebral são um grupo de erros inatos do metabolismo da creatina que incluem as deficiências de síntese da creatina: arginina:glicina amidinotransferase (AGAT) e S-adenosil-L-metionina:guanidinoacetato metiltransferase (GAMT) e a deficiência no transportador transmembranar (CT1/SLC6A8). O diagnóstico destas patologias pode ser efetuado através da determinação do ácido guanidinoacético e creatina urinária e plasmática e do estudo molecular. Desde 2003 que a Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética (URN) disponibiliza este tipo de diagnóstico que permitiu a identificação de nove doentes com deficiência em GAMT e 20 doentes com deficiência em CT1. O rastreio bioquímico das deficiências em creatina cerebral deve ser realizado em todos os doentes que apresentem encefalopatia epiléptica de causa desconhecida, doença do movimento, alterações cognitivas e comportamento tipo autista.

_Abstract

Cerebral creatine deficiency syndromes are a group of rare inborn errors of creatine metabolism that include arginine:glycine amidinotransferase (AGAT) deficiency, S-adenosyl-L-methionine:guanidinoacetate methyltransferase (GAMT) deficiency, and the creatine transporter (CT1/SLC6A8) deficiency. All creatine disorders can be investigated through measurement of creatine metabolites in body fluids, and molecular genetics techniques. Since 2003, we have been performing the diagnosis of this group of disorders and encountered nine patients with GAMT deficiency and 20 with CT1 deficiency in the Portuguese population. Biochemical screening for creatine deficiency syndromes should be part of diagnostic workup for all patients presenting with epileptic encephalopathy of unknown origin, movement disorders, mental disability, and autistic-like behavior.

_Introdução

O sistema creatina/fosfocreatina exerce um papel fundamental no metabolismo energético através da regeneração de ATP, mantendo a hemóstase energética nos tecidos e órgãos de elevada necessidade energética, tal como o músculo e o cérebro (1).

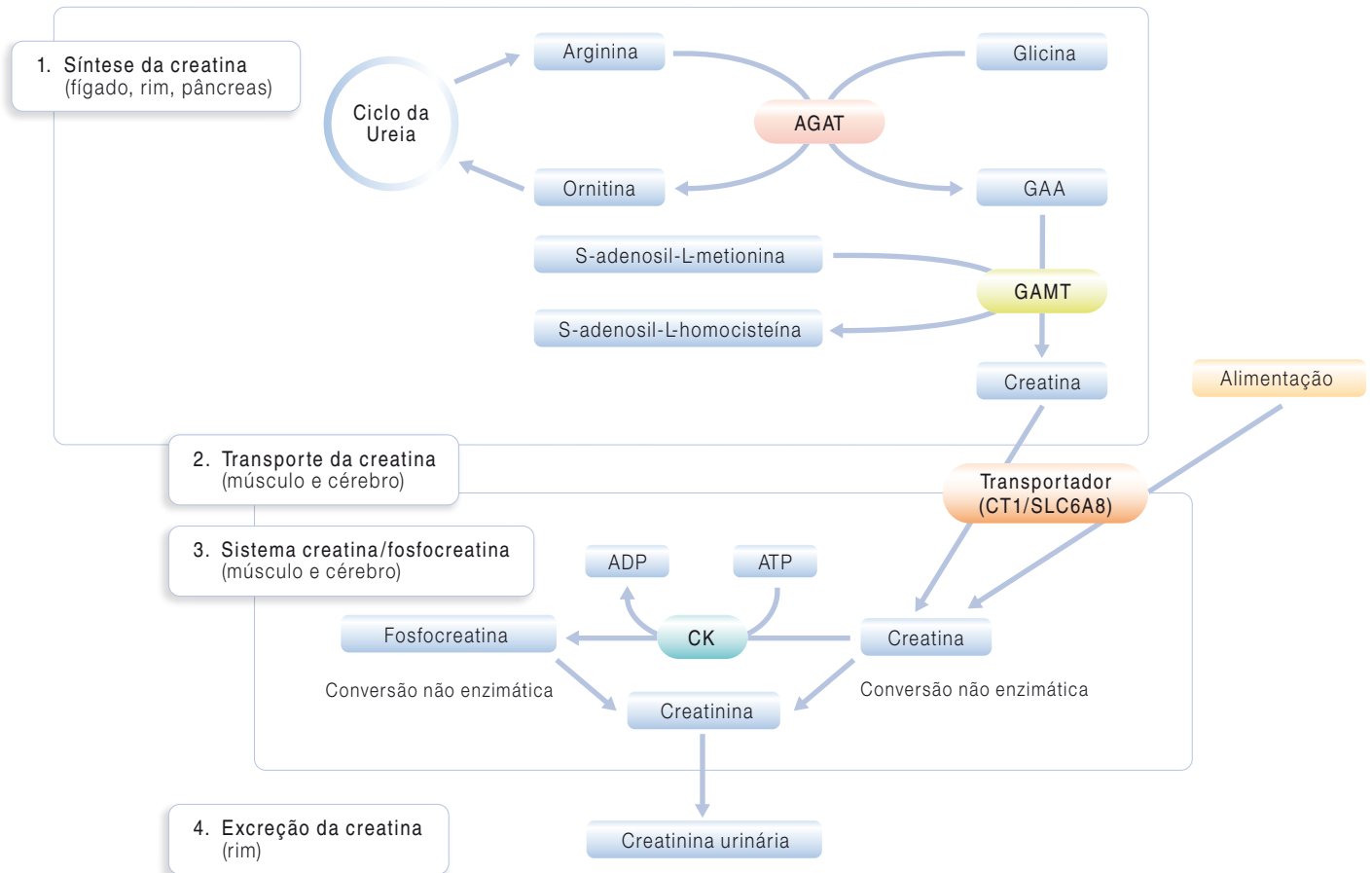
A creatina (cr) pode ser adquirida por via alimentar ou sintetizada através de duas reações enzimáticas (figura 1): a arginina:glicina amidinotransferase (AGAT), responsável pela formação do ácido guanidinoacético (GAA) a partir de arginina e glicina e a S-adenosil-L-metionina:guanidinoacetato metiltransferase (GAMT), responsável pela metilação do GAA em cr. Os principais órgãos onde se realiza a síntese de creatina são o fígado, o pâncreas e os rins. Apesar do cérebro poder sintetizar este composto, a grande maioria é fornecida pelo sangue através de um transportador transmembranar Na^+/Cl^- dependente (CT1, SLC6A8) (1,2).

São doenças neurometabólicas raras e têm em comum a ausência ou diminuição de pico de cr detetado por ressonância magnética cerebral com espectroscopia de próton (^1H -RMN) (3) e um quadro clínico caracterizado por deficiência cognitiva, atraso de linguagem, comportamento autista e em alguns casos convulsões (2-3).

Deficiência em GAMT (MIM #601240)

É uma doença de transmissão autossómica recessiva, cujo gene GAMT se localiza no cromossoma 19p13.3 (3,4). Clinicamente caracteriza-se por um desenvolvimento normal nos primeiros meses de vida, os quais podem reverter abruptamente com paragem/regressão do desenvolvimento psicomotor e das aquisições com ou sem convulsões (4). Estão descritas duas formas de apresentação: uma moderada e outra grave (4,5).

Figura 1: ↓ Via metabólica da creatina.



A creatina (cr) é sintetizada principalmente no fígado, rins e pâncreas através de uma reação de duas etapas. A primeira etapa é catalisada pela arginina:glicina amidinotransferase (AGAT, EC 2.1.4.1), responsável pela transferência do grupo amidino da arginina para a glicina dando origem ao ácido guanidinoacético (GAA) e ornitina (passo limitante da síntese de cr). O segundo passo é regulado pela S-adenosil-L-metionina:guanidinoacetato metiltransferase (GAMT, EC 2.1.1.2) e há a transferência do grupo metilo da S-adenosil-L-metionina para o GAA dando origem a cr e S-adenosil-L-homocisteína. A cr entra na circulação sanguínea e é utilizada em tecidos de elevada atividade da creatina cinase (CK), tal como o músculo e cérebro. O transporte para o interior das células é efetuado por intermédio de um transportador (CT1/SLC6A8). Uma vez nas células a cr é convertida em fosfocreatina pela ação da CK através de uma reação reversível. A cr e a fosfocreatina intracelulares são transformadas em creatinina, que é excretada por via urinária.

O fenótipo moderado é caracterizado por défice cognitivo, atraso de linguagem, doença do movimento e perturbações do espectro autista, por sua vez o fenótipo grave apresenta precocemente um quadro epiléptico que não responde à terapêutica e um atraso de desenvolvimento marcado (4-6).

Bioquimicamente caracterizada por um aumento do GAA nos fluídos biológicos (marcador patognomónico) e concentrações baixas de cr no plasma, urina, líquido céfalo-raquidiano,

(quadro 1) (4-6). Os portadores de mutações no gene GAMT podem revelar ligeiros aumentos de GAA no plasma e/ou urina (7,8).

O tratamento tem como objetivo restabelecer os níveis de cr cerebral através da suplementação com cr monohidratada e diminuir a acumulação do GAA (composto neurotóxico) no sistema nervoso central. A dieta destes doentes consiste na suplementação com ornitina e restrição em arginina (4,6).

Quadro 1: ↓ Aspectos bioquímicos e moleculares dos doentes diagnosticados com deficiência em GAMT.

Doente	Idade ao diagnóstico (anos)	Género	GAA (urina) (μmol/mmol crn)	Creatina (urina) (μmol/L)	Análise genética
D-1	16	Masculino	827	456	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-2	20	Masculino	406	366	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-3	21	Masculino	423	337	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-4	19	Masculino	546	462	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-5	15	Masculino	1230	78	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-6	9	Feminino	1064	110	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-7	12	Feminino	911	129	c.59G>C/c.521G>A p.Trp20Ser/p.Trp174X
D-8	6	Masculino	1480	206	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser
D-9	9	Feminino	844	43	c.59G>C/c.59G>C p.Trp20Ser/p.Trp20Ser

Valores de referência (urina): 5-11 anos: GAA: 18-130 μmol/mmol crn; creatina: 146-8560 μmol/L;
>12 anos: GAA: 18-130 μmol/mmol crn; creatina: 142-5952 μmol/L.

Deficiência em AGAT (MIM #602360)

Tal como a deficiência em GAMT, a deficiência em AGAT tem uma transmissão autossómica recessiva e o gene *GATM* localiza-se no cromossoma 15q15.3. Os indivíduos afetados apresentam atraso de desenvolvimento psicomotor, défice na linguagem e em alguns casos pode-se igualmente observar ligeira patologia do movimento e epilepsia.

Os níveis de GAA e cr podem encontrar-se normais-baixos quer no plasma quer na urina, com exceção da cr plasmática que se encontra baixa (quadro 1).

O tratamento pretende repor os níveis de cr cerebral através da suplementação com cr monohidratada. O início precoce de uma terapêutica demonstrou uma normalização do desenvolvimento cognitivo, melhoria do relacionamento inter-pessoal e da fraqueza muscular (4, 6).

Deficiência do transportador transmembranar da creatina (CT1/SLC6A8, MIM #300036)

Esta patologia tem uma hereditariedade ligada ao cromossoma X (Xq28). Os doentes do sexo masculino podem apresen-

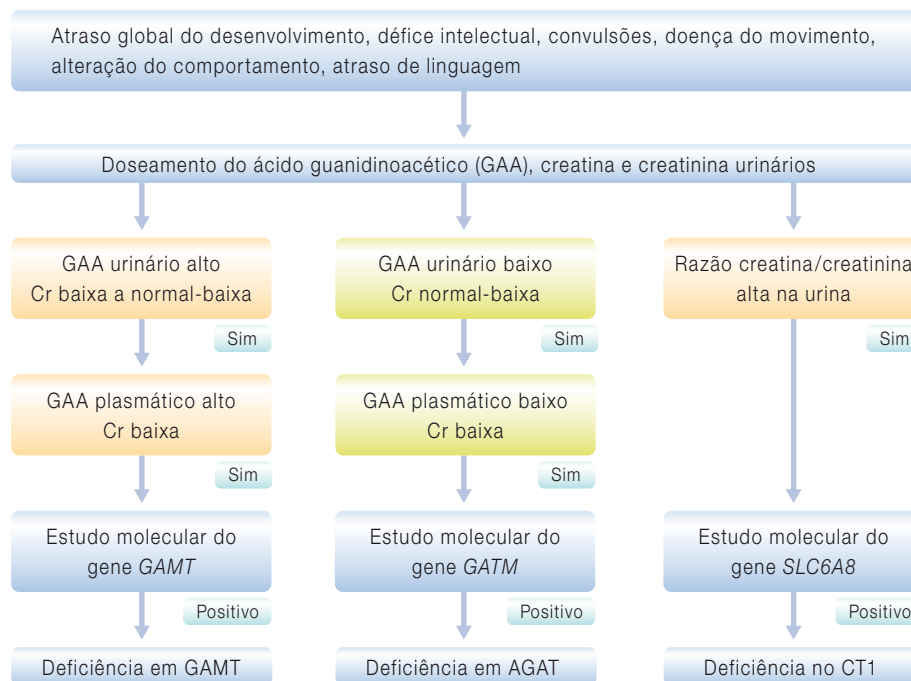
tar um fenótipo moderado a grave, dependendo do fenómeno da inativação aleatória do cromossoma X. As portadoras de mutações no gene *SLC6A8* podem manifestar sintomatologia neurológica, ainda que ligeira (5).

A apresentação clínica mais comum engloba o atraso de desenvolvimento, de linguagem e autismo. De referir que as convulsões respondem aos anti-epilépticos mais usados e os indivíduos afetados apresentam estatura inferior à normal para a idade (3,5).

A análise bioquímica dos doentes com deficiência no CT1 revela um aumento da razão cr/creatinina, podendo estar normal-alta no caso das portadoras (quadro 2).

O tratamento tem como objetivo normalizar os níveis de cr cerebral, no entanto a suplementação com cr monohidratada não é muito eficaz quer nos doentes, quer nas portadoras (4,6). Ainda assim, diversos autores recomendam iniciar um tratamento com cr monohidratada, arginina e glicina em crianças jovens para atrasar a progressão da doença (6).

Figura 2: ▾ Aspectos bioquímicos e moleculares dos doentes diagnosticados com deficiência em GAMT.



AGAT - arginina:glicina amidinotransferase; Cr- creatina; CT1 - transportador da creatina; GAA – ácido guanidinoacético; GAMT - S-adenosil-L-metionina:guanidinoacetato metiltransferase.

Os síndromes da deficiência em creatina cerebral apresentam uma clínica semelhante (atraso cognitivo, da linguagem, comportamento tipo autista) e diferentes graus de severidade. A análise laboratorial é fundamental para a obtenção de um diagnóstico correto. Seguidamente apresentam-se os resultados bioquímicos e moleculares das deficiências do metabolismo da creatina em Portugal, diagnosticados na nossa Unidade.

_Material e métodos

O estudo bioquímico do metabolismo da creatina é efetuado sobre amostras de urina (ocasional ou 24 horas) e sangue (plasma colhido em EDTA/heparina de lítio) proveniente de diferentes hospitais distribuídos em Portugal. O método de extração e análise utilizado foi previamente descrito pelo nosso grupo (9). A análise simultânea do GAA e da cr é realizada num cromatógrafo gasoso com deteção por espectrometria de massa. A concentração da creatinina urinária é determinada através do método de Jaffé modificado.

Os estudos genéticos, para confirmação/exclusão dos casos suspeitos, foram efetuados por sequenciação direta de Sanger. Os fragmentos foram amplificados por PCR, a partir de ADN genómico extraído de sangue. Todos os exões dos genes *GATM*, *GAMT* e *SLC6A8*, e respetivas regiões intrónicas flangeadoras, foram sequenciados por procedimentos *standard*.

_Resultados e discussão

As deficiências em cr cerebral podem ser diagnosticados através do estudo do GAA e da cr urinários e/ou plasmáticos. Níveis sistematicamente baixos de GAA e cr plasmáticos são indicativos de possível deficiência em AGAT (figura 1). Até à data não foi diagnosticado nenhum doente em Portugal.

A deficiência em GAMT, mais frequente que a anterior, é caracterizada por um aumento de GAA na urina e plasma, com níveis de creatina normais-baixos (tabela 1). Foram identificados nove doentes bioquimicamente compatíveis com esta

deficiência e cujo estudo genético revelou uma mutação prevalente no nosso país (c.59G>C). Este dado é indicativo da existência de um efeito fundador na nossa população (**quadro 1**). Os doentes que iniciaram terapia com restrição em arginina e suplementação com creatina e ornitina demonstraram melhoria em alguma sintomatologia e diminuição dos níveis de GAA urinários e plasmáticos (dados não publicados).

A deficiência do transportador transmembranar da creatina é a patologia mais comum deste grupo de doenças. A suspeita inicial estava relacionada com um aumento da razão creatina/creatinina urinária. Num total de 20 doentes o estudo genético em 17 revelou a mutação causal (**quadro 2**). O estudo molecular de dois doentes encontra-se em curso no entanto a ausência de pico de creatina cerebral é sugestivo deste diagnóstico bioquímico.

Quadro 2: ↓ Aspectos bioquímicos e moleculares dos doentes com deficiência em CT1.

Doente	Idade ao diagnóstico (anos)	Creatina (µmol/L)	Creatina/creatinina	Análise genética (ligada ao X)	Creatina (urina) (µmol/L)
CT-1	4	12 337	5,87	c.1597G>A p.Met532Ile	ND
CT-2	8	19 684	3,45	c.1261G>C p.Gly421Arg	ND
CT-3	3	4 680	4,25	c.1A>G p.Met1Val	ND
CT-4	12	11 889	2,90	c.1169C>T p.Pro390Leu	ND
CT-5	4	5 922	4,93	c.1222_1224delTTC p.Phe408del	ND
CT-6	2	5 371	3,58	c.1432dupG p.Ala478GlyfsX24	ND
CT-7	2	10 092	2,80	c.884_885delCT p.Pro295ArgfsX169	ND
CT-8	15	4 932	2,24	c.1456C>T p.Gln476X	Ausente
CT-9	15	5 891	1,84	c.1456C>T p.Gln476X	ND
CT-10	6	6 098	2,26	c.1661C>T p.Pro554Leu	Ausente
CT-11	2	20 475	9,31	c.986G>T p.Ser329Ile	Diminuição
CT-12	5	27 807	7,72	c.321_323delCCT p.Phe107del	Ausente
CT-13	4	30 996	6,20	c.1299_1309del p.Pro434LeufsX27	ND
CT-14	6	4 009	2,00	c.355G>T p.Gly119Cys	ND
CT-15	4	10 590	2,71	ND	Ausente
CT-16	4	20 608	4,91	c.983G>A p.Gly328Asp	ND
CT-17	16	7 421	1,69	c.304G>A p.Gly102Arg	ND
CT-18	12	25 944	1,92	ND	Ausente
CT-19	2	3 901	5,57	c.1519_1543del Ile507Lfs*5	Diminuição
CT-20*	28	ND	ND	c.304G>A p.Gly102Arg	ND

Valores de referência (urina): <4 anos: creatina: 140-7910 µmol/L; razão creatina/creatinina: 0,04-1,51;
5-11 anos: creatina: 146-8560 µmol/L; razão creatina/creatinina: 0,04-1,07;
>12 anos: creatina: 142-5952 µmol/L; razão creatina/creatinina: 0,04-0,56.
ND – não disponível; * – irmão de CT-17



_Conclusões

O estudo do metabolismo da creatina deve ser considerado em todos os doentes que apresentem deficiência cognitiva, atraso global do desenvolvimento psicomotor ou da linguagem, comportamento tipo autista com ou sem epilepsia e doença do movimento. As deficiências de síntese são tratadas através da suplementação com cr monohidratada de modo a tentar restabelecer os níveis de cr cerebrais. O início precoce do tratamento numa fase assintomática da doença previne o aparecimento de sintomatologia (6). É importante igualmente realizar avaliações de rotina da função renal de modo a detetar nefropatias associadas ao tratamento com cr.

Agradecimentos

Os autores agradecem a colaboração dos clínicos que fazem o *follow-up* dos doentes identificados.

Referências bibliográficas:

- (1) Braissant O. Creatine and guanidinoacetate transport at blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *J Inher Metab Dis.* 2012;35(4):655-64.
- (2) Stöckler S, Braissant O, Schulze A. Creatine Disorders. In: Thöny B, Duran M, Gibson KM, et al. (eds). *Physician's Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases.* New York: Springer, 2014, pp. 529-40.
- (3) Stockler S, Schutz PW, Salomons GS. Cerebral creatine deficiency syndromes: clinical aspects, treatment and pathophysiology. *Subcell Biochem.* 2007;46:149-66. Review.
- (4) Leuzzi V, Mastrangelo M, Battini R, et al. Inborn errors of creatine metabolism and epilepsy. *Epilepsia.* 2013;54(2):217-27. Epub 2012 Nov 13. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epi.12020/epdf>
- (5) Valongo C, Almeida L, Cardoso ML, et al. Défices do metabolismo da creatina - o emergir de um novo grupo de doenças neurometabólicas. *Nascer e Crescer.* 2003;12(2):66-73.
- (6) Mercimek-Mahmutoglu S, Salomons GS. Creatine Deficiency Syndromes. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. (eds). *GeneReviews® [Em linha].* Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993-2017. [consult.28/3/2017]. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3794/
- (7) Caldeira Araújo H, Smit W, Verhoeven NM, et al. Guanidinoacetate methyltransferase deficiency identified in adults and a child with mental retardation. *Am J Med Genet A.* 2005;133A(2):122-7.
- (8) Carducci C, Birarelli M, Leuzzi V, et al. Guanidinoacetate and creatine plus creatinine assessment in physiologic fluids: an effective diagnostic tool for the biochemical diagnosis of arginine:glycine amidinotransferase and guanidinoacetate methyltransferase deficiencies. *Clin Chem.* 2002;48(10):1772-8. <http://clinchem.aaccjnl.org/content/48/10/1772.long>
- (9) Valongo C, Cardoso ML, Domingues P, et al. Age related reference values for urine creatine and guanidinoacetic acid concentration in children and adolescents by gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chim Acta.* 2004;348(1-2):155-61.

Evolução da atividade de transplantação renal em Portugal: dados públicos de 2003 a 2015

Evolution of renal transplantation activity in Portugal: public data from 2003 to 2015

Bruno A Lima¹, Helena Alves²

balima78@gmail.com

(1) Oficina de Bioestatística, Ermesinde, Portugal

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

_Resumo

Para doentes insuficientes renais, o transplante de rim, quando possível, é a terapia de substituição da função renal que garante uma menor mortalidade, a redução de problemas cardiovasculares e uma melhor qualidade de vida em comparação com a diálise, mesmo em doentes com idade avançada e com morbilidades. A análise sistemática de indicadores associados à actividade da transplantação renal permite a melhor caracterização e conhecimento dos problemas existentes. O objectivo deste trabalho é o de descrever a evolução da actividade de transplantação renal em Portugal com a informação de acesso livre que está disponível para análise. Este estudo tem por base a informação do Observatório Global em Doação e Transplantação, recolhida e produzida pela colaboração entre a Organização Mundial de Saúde e a *Organización Nacional de Trasplantes*, de onde recolhemos os dados disponíveis respeitantes a Portugal, para os anos entre 2003 e 2015. No período em análise verificamos que 2009 foi o ano que registou um maior número de transplantes renais. Em 2012 registou-se a maior queda do número de transplantes de rim com dador cadáver (-20.8%) em relação ao ano predecessor. Só com a disponibilização de dados para análise é possível fazer o melhor escrutínio de políticas a implementar.

_Abstract

For patients with renal insufficiency, renal transplantation, when possible, is the renal replacement therapy that guarantees a lower mortality, a reduction of cardiovascular problems, and a better quality of life compared to dialysis; even in patients with advanced age and morbidities. The systematic analysis of indicators associated with renal transplantation activity allows a better characterization and understanding of inherent problems. The objective of this study is to describe the evolution of kidney transplant activity in Portugal with free access information that is available for analysis. This study is based on information from the Global Observatory on Donation and Transplantation, collected and produced by the collaboration between the World Health Organization and the *Organización Nacional de Trasplantes*, from where we collected the available data regarding to Portugal for the years between 2003 and 2015. In the analyzed period, 2009 was the year with a higher number of kidney transplants. In 2012 it was registered the highest reduction in kidney transplants from cadaveric donors (-20.8%) compared to the predecessor year.

_Introdução

Portugal tem sido, nos últimos anos, um dos países europeus com as maiores taxas de incidência e prevalência por milhão de habitantes de doentes insuficientes renais em tratamento de substituição renal. De entre os tratamentos de substituição renal, Portugal apresentou de 2011 a 2013 das maiores taxas de prevalência de doentes em hemodiálise na Europa (1-3).

Quando comparado com a hemodiálise, o transplante renal é o tratamento de eleição para muitos doentes insuficientes renais. Um transplante bem-sucedido traduz-se numa vida mais longa e de melhor qualidade (4), enquanto que o tempo de diálise até o transplante é um factor de aumento de risco tanto para a mortalidade do doente transplantado como para a rejeição do órgão (5).

Com o envelhecimento e diminuição da população portuguesa projetada nas próximas décadas (6), serão, cada vez mais, usados órgãos de menor qualidade para transplante. Há por isso a necessidade de conhecer a evolução demográfica dos doadores cadáveres usados no transplante de rim para que também se possam definir os melhores critérios para o seu uso (7).

A análise sistemática e competente de indicadores associados com a atividade da transplantação renal permite a melhor caracterização e conhecimento dos problemas existentes. Com o advento de políticas de governação aberta (*Open Government*) (8) e a inevitável disponibilização de dados abertos (*open data*) (9), a análise de dados e indicadores de saúde é também uma responsabilidade da sociedade civil.



_Objetivo

O objectivo deste trabalho é o de descrever a evolução da atividade de transplantação renal em Portugal com a informação de acesso livre que está disponível para análise.

_Material e métodos

Este estudo tem por base a informação do Observatório Global em Doação e Transplantação, recolhida e produzida pela colaboração entre a Organização Mundial de Saúde e a *Organización Nacional de Trasplantes* (10). Os dados disponíveis respeitantes a Portugal, para os anos entre 2003 e 2015, foram recolhidos da publicação *Newsletter Transplant* (11). Recolhemos os números relativos a: dadores cadáver de órgãos, transplantes de rim com dador cadáver, transplante de rim com dador vivo, número de candidatos em lista de espera (LE) para transplante de rim a 31 de dezembro e o número de novos inscritos em LE de rim, para cada ano (tabela 1). Utilizamos o coeficiente de correlação de Spearman para avaliar a relação entre as variáveis. Correlações com valores de $p < 0.05$ foram consideradas estatisticamente significativas. As variações percentuais anuais (VA) foram calculadas pela diferença entre um dado ano e o seu predecessor dividindo pelo valor deste último.

Todas as análises estatísticas tal como as representações gráficas foram realizadas com recurso ao *software* RStudio para a linguagem e ambiente de programação R.

_Resultados

No período em análise verificamos que 2009 foi o ano que registou um maior número de transplantes renais, tanto com dador vivo como com dador cadáver. A partir de 2009 houve uma diminuição de transplantes realizados com alguma estabilização nos anos de 2013, 2014 e 2015. Embora tanto para 2009 como 2015 haja registo de 31 dadores cadáver pmh, o número de transplantes de rim por milhão de habitantes (pmh) em 2015 foi de apenas 40.9 enquanto em 2009 foi de 50.

Em 2012 regista-se a maior queda do número de transplantes de rim com dador cadáver (-20.8%) em relação ao ano predecessor (tabela 1), sendo este número inferior aos registados em todos os anos a partir de 2007. Já para os transplantes de rim com dador vivo as variações anuais com quedas mais acentuadas registaram-se em 2004 e 2010, respectivamente -31% e -20%. Em 2015, os transplantes de rim com dador vivo representaram 12.8% do total de transplantes renais realizados nesse ano, sendo esta percentagem o valor mais alto no período entre de 2003 a 2015.

O número de candidatos em lista de espera a 31 de dezembro para transplante renal de dador cadáver diminui de forma ligeira mas consistente de 2006 a 2010, a partir deste ano verifica-se que a lista de espera não tem tido oscilações relevantes.

Quando testamos as possíveis correlações entre as variáveis em estudo (gráfico 1) verificamos a quase total correlação entre o número total de transplantes e o número de transplantes com dador cadáver, bem como com o número anual de dadores cadáver. Também a correlação entre o número total de transplantes e o número de transplantes com dador vivo é estatisticamente significativa ($p=0.03$), embora o coeficiente de correlação seja apenas de 0.59. Não encontramos qualquer relação estatisticamente significativa entre o número de candidatos em lista de espera a 31 de dezembro e o número de transplantes realizados, independentemente do tipo de dador. A falta de dados quanto ao número de candidatos em lista entre 2003 e 2005 pode também ter tido influência neste resultado.

De salientar ainda, e como seria de esperar, a forte correlação entre o número anual de dadores cadáver e o número de transplantes renais com dador cadáver realizados. O coeficiente de correlação de 0.81 ($p < 0.01$) entre o número de transplantes com dador vivo e o número anual de dadores cadáver não seria expectável, no entanto poderá ser justificado por um eventual desempenho global atribuível às unidades de transplante.

Tabela 1: ↓ Valores relativos por milhão de habitantes para Portugal e recolhidos da publicação *Newsletter Transplant* (11).

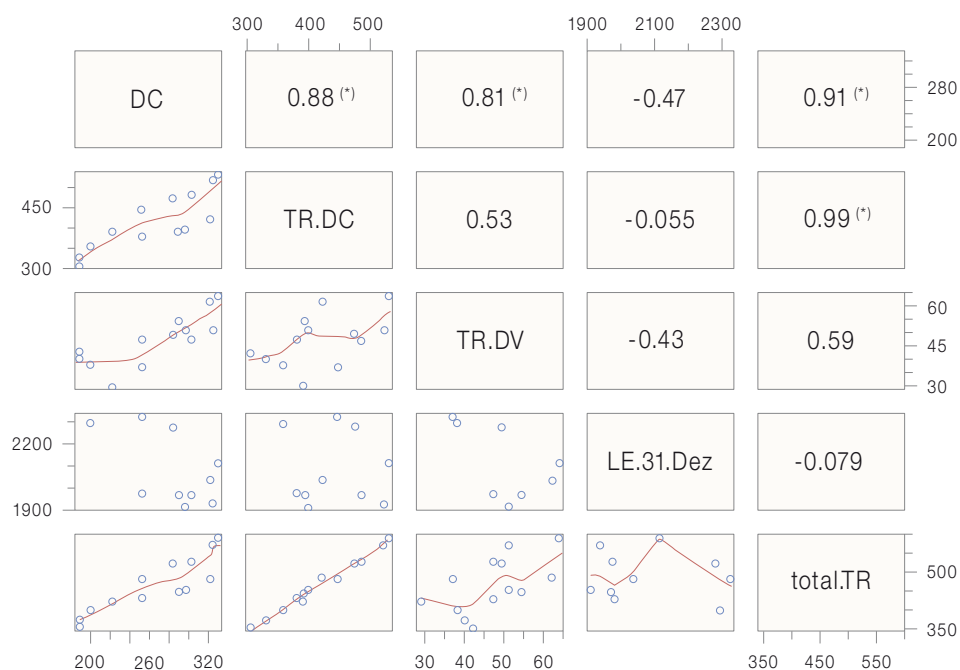
Ano	DC (pmh)	VA de DC por (pmh)	TR com DC (pmh)	VA TR com DC (pmh)	TR com DV (pmh)	VA TR com DV (pmh)	total de TR (pmh)	VA de total de TR (pmh)	Inscrições em LE (1)	Doentes em LE (2)	Pop
2003	19	-	30,5	-	4,2	-	34,7	-	-	-	10
2004	22,2	16,8%	39,2	28,5%	2,9	-31,0%	42,1	21,3%	-	-	10
2005	19	-14,4%	33	-15,8%	4	37,9%	37	-12,1%	-	-	10
2006	20,1	5,8%	35,8	8,5%	3,8	-5,0%	39,6	7,0%	595	2293	20
2007	23,9	18,9%	42,2	17,9%	3,5	-7,9%	45,7	15,4%	650	2324	10,6
2008	26,7	11,7%	44,8	6,2%	4,6	31,4%	49,4	8,1%	-	2275	10,6
2009	31	16,1%	50	11,6%	6	30,4%	56	13,4%	579	2111	10,6
2010	30,2	-2,6%	48,8	-2,4%	4,8	-20,0%	53,6	-4,3%	597	1935	10,7
2011	28,1	-7,0%	45,1	-7,6%	4,4	-8,3%	49,5	-7,6%	366	1973	10,7
2012	23,6	-16,0%	35,7	-20,8%	4,4	0,0%	40,1	-19,0%	343	1977	10,7
2013	27,8	17,8%	37,6	5,3%	4,8	9,1%	42,4	5,7%	320	1910	10,6
2014	27,3	-1,8%	37,2	-1,1%	5,1	6,3%	42,3	-0,2%	609	1970	10,6
2015	31,0	13,6%	40,9	9,9%	6,0	17,6%	46,9	10,9%	472	2035	10,3

DC - dadores cadáver; DV - dadores vivos; LE - lista de espera; Pop - população em milhões de habitantes; TR - transplantes de rim; VA - variação anual percentual (pmh) por milhão de habitantes

(1) novas inscrições em lista de espera para transplante de rim com dador cadáver

(2) doentes em lista de espera para transplante de rim de dador cadáver a 31 de dezembro de cada ano

Gráfico 1: ↓ Matriz com gráficos de dispersão e valores da correlação de Spearman entre as variáveis identificadas na diagonal.



(*) valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos.

DC - número de dadores cadáver; TR.DC - número de transplantes com dador cadáver; TR.DV - número de transplantes com dador vivo; LE.31.Dez - número de candidatos a transplante em lista de espera a 31 de dezembro; total.TR - número total de transplantes renais.

Discussão

O aumento de dadores cadáver para transplante deve ser também acompanhado por políticas que potenciem o aumento do número de dadores vivos para transplante renal (12).

Este trabalho foi feito com dados publicados por terceiros e a precisão e qualidade dos mesmos depende necessariamente da sua fonte. Sem mais dados disponíveis ficam por analisar outros factores que estarão associados com a evolução do transplante aqui apresentada. Dados relativos a reinscrições em lista de espera, após o primeiro transplante ou a percentagem de doentes que necessitam de repetir transplante e o peso destes doentes em lista de espera também não estão disponíveis (13, 14).

A análise sistemática da informação disponível pode e deve ser comum tanto às entidades públicas com responsabilidades na área e como à sociedade civil. Só assim se poderão tomar as melhores decisões quando se discutem temas como a distribuição de bens tão escassos como são os órgãos para transplante (15).

Referências bibliográficas:

- (1) Noordzij M, Kramer A, Abad Diez JM, et al. Renal replacement therapy in Europe: a summary of the 2011 ERA-EDTA Registry Annual Report. *Clin Kidney J.* 2014;7(2):227-38. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC437783/
- (2) Pippias M, Stel VS, Diez JMA, et al. Renal replacement therapy in Europe: a summary of the 2012 ERA-EDTA Registry Annual Report. *Clin Kidney J.* 2015;8(3):248-61. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4440462/
- (3) Kramer A, Pippias M, Stel VS, et al. Renal replacement therapy in Europe: a summary of the 2013 ERA-EDTA Registry Annual Report with a focus on diabetes mellitus. *Clin Kidney J.* 2016;9(3):457-69. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4886899/
- (4) Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999;341(23):1725-30. www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199912023412303
- (5) Meier-Kriesche HU, Port FK, Ojo AO, et al. Effect of waiting time on renal transplant outcome. *Kidney Int.* 2000;58(3):1311-7. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0085253815472229
- (6) Instituto Nacional de Estatística. Projeções de população residente 2012-2060 [Em linha]. 2014. [consult. 19/7/2016]. www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=208819970&DESTAQUESmodo=2&xlang=pt
- (7) Wohlfahrtova M, Viklicky O. New strategies for evaluating the quality of kidney grafts from elderly donors. *Transplant Rev (Orlando).* 2015;29(4):212-8.
- (8) Lifelong Learning Programme of the European Union. Open Government In Europe [Em linha]. 2016. [consult. 17/3/2017]. www.opengoveu.eu/index.php
- (9) Kostkova P, Brewer H, de Lusignan S, et al. Who Owns the Data? Open Data for Healthcare. *Front Public Health.* 2016;4:7. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00007>
- (10) WHO-ONT. Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT) [Em linha]. 2014 [consult. 10/3/2016]. <http://data.transplant-observatory.org/>
- (11) Council of Europe and Organización Nacional de Trasplantes. Newsletter Transplant: international figures on donation and transplantation 2014. Strasbourg: EDQM/ONT, 2015 (vol. 20). www.ont.es/publicaciones/Documents/NEWSLETTER_2015_CE.pdf
- (12) Lima BA, Mendes M, Alves H. Kidney transplantation in the north of Portugal: donor type and recipient time on dialysis. *Port J Nephrol Hypert.* 2013;27(1):23-30. www.scielo.mec.pt/pdf/nep/v27n1/v27n1a05.pdf
- (13) Lima BA, Mendes M, Alves H. Measuring kidney transplantation activity. *Port J Nephrol HypertHypert.* 2014;28(3):171-6. www.bbg01.com/cdn/clientes/spnephro/pjnh/49/artigo_13.pdf
- (14) Lima BA, Mendes M, Alves H. Hypersensitized candidates to kidney transplantation in Portugal. *Port J Nephrol Hypert.* 2013;27(2):77-81. www.scielo.mec.pt/pdf/nep/v27n2/v27n2a02.pdf
- (15) Lima B A, Mendes M, Alves H. Kidney Transplant allocation in Portugal. *Port J Nephrol Hypert.* 2013;27(4):313-6. www.bbg01.com/cdn/clientes/spnephro/pjnh/46/artigo_14.pdf

sdLDL como potencial biomarcador no diagnóstico e prevenção de doença cardiovascular em diabéticos

sdLDL as a potential biomarker in the diagnosis and prevention of cardiovascular disease in diabetics

Ana Raimundo, Cibelle Mariano, Ana Catarina Alves, Pedro Aguiar, Mafalda Bourbon

ana.raimundo@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morbilidade e mortalidade a nível mundial. De entre os fatores de risco conhecidos para as DCV, destacam-se a dislipidemia, a hipertensão, a diabetes e o excesso de peso/obesidade. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) constituem um dos marcadores bioquímicos recomendados para diagnosticar as DCV. No entanto, as lipoproteínas mais pequenas e mais densas - *small dense LDL (sdLDL)* - parecem ter um efeito mais aterogénico, refletindo-se num risco acrescido de DCV. O doseamento de sdLDL tem demonstrado em diferentes estudos um aumento da sua concentração em indivíduos com Diabetes Mellitus do tipo 2. Este estudo pretende investigar esta associação na população portuguesa, tendo por base uma população do estudo e_COR. Foram determinados alguns parâmetros bioquímicos no sangue e reunidos dados clínicos através de questionários. As análises estatísticas foram realizadas através do programa *IMB SPSS Statistics 22*. Os resultados deste estudo evidenciaram que os indivíduos diabéticos apresentam níveis de sdLDL superiores aos não diabéticos, registando-se uma forte associação entre o rácio sdLDL/LDL e a diabetes. A determinação deste rácio pode vir assim a ser considerada como um potencial biomarcador para diagnóstico de DCV em diabéticos, embora sejam necessários mais estudos epidemiológicos para uma conclusão mais definitiva.

_Abstract

Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of morbidity and mortality worldwide. Among the known risk factors for CVD we highlight dyslipidemia, hypertension, diabetes and overweight. The Low-density lipoproteins (LDL) are one of the recommended biochemical markers to diagnose CVD. However, the small dense lipoproteins (sdLDL) appears to have a more atherogenic effect, reflecting increased risk of CVD. Quantification of sdLDL have demonstrated in different studies an increase of its concentration in individuals with Type 2 Diabetes Mellitus. In the present study, we propose to investigate this association in the Portuguese population, using the e_COR sample. The biochemical parameters were determined in the blood and clinical data was collected through questionnaires. Statistical analyzes were performed using the IMB SPSS 22 Statistics program. Results showed that diabetic subjects have higher levels of sdLDL than non-diabetics, with a strong association between the sdLDL/LDL ratio and diabetes. Determination of this ratio may thus be considered as a potential biomarker for diagnosis of CVD in diabetics, although more epidemiological studies are needed for a more definitive conclusion.

_Introdução

A diabetes constitui um fator de risco independente para a doença cardiovascular (DCV), aumentando em cerca de duas vezes o risco de Acidente Vascular Cerebral (AVC) ou de Doença Arterial Coronária (DAC), quando comparado com indivíduos não diabéticos (1). O padrão lipémico mais comum nos indivíduos com Diabetes Mellitus do tipo 2 (DMT2) caracteriza-se por níveis aumentados de triglicéridos e níveis mais baixos de lipoproteínas de elevada densidade (HDL), quando comparados com indivíduos não diabéticos. Os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são semelhantes, mas as partículas de LDL nos diabéticos são mais pequenas e mais densas - *small dense LDL (sdLDL)* -, tornando-as mais aterogénicas do que as partículas de LDL nos indivíduos não diabéticos (2, 3).

_Objetivo

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação entre a maior proporção de partículas de sdLDL no soro e a DMT2 na população portuguesa, tendo por base a população do estudo e_COR (Prevalência de fatores de risco cardiovascular na população portuguesa).

_Materiais e métodos

Participaram no estudo e_COR 1688 indivíduos, distribuídos pelas regiões Norte, Centro, Lisboa, Alentejo e Algarve. Como critério de exclusão para o presente trabalho foi considerada a terapêutica para a dislipidemia, na medida em que pode alterar, de forma diferenciada, os parâmetros bioquímicos considerados. Neste contexto, a população final do estudo consistiu em 1215 indivíduos (610 homens e 605 mulheres), com idade

entre os 18 e os 79 anos. A colheita de sangue foi realizada com os participantes em jejum. Os níveis séricos de sdLDL foram determinados através de um ensaio colorimétrico enzimático de dois passos (kit sLDL-EX"SEIKEN"), no analisador automático Daytona (Randox). Por outro lado, os níveis séricos de Colesterol LDL (C-LDL), Colesterol HDL (C-HDL), Colesterol Total e Triglicéridos foram determinados no analisador automático, modelo COBAS 400 Plus (Roche) através de um ensaio colorimétrico enzimático. Para o cálculo da prevalência da diabetes, foi determinada a glicémia através do método da hexoquinase, no mesmo analisador automático COBAS Integra e a hemoglobina glicada (HbA1C) no Cromatógrafo de Elevada Performance (HPLC), modelo HA8160 (Menarini). Foram considerados diabéticos (DMT2) os indivíduos que apresentavam um valor de glicose em jejum igual ou superiores a 126 mg/dL (determinado em 2 ocasiões distintas), ou abaixo deste valor, desde que a cumprir terapêutica para a diabetes; ou que apresentavam valores de HbA1C em jejum iguais ou superiores a 6,5% (determinado em 2 ocasiões distintas), ou abaixo deste valor, desde que a realizar terapêutica para a diabetes.

Os restantes dados (Idade, Índice de Massa Corporal ou IMC, Hipertensão e Medicação) foram agregados numa base de dados através da análise dos questionários realizados a cada participante.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa *IMB SPSS Statistics 22*. O teste de χ^2 foi utilizado para analisar as variáveis discretas. Paralelamente, as variáveis contínuas foram analisadas segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar o tipo de distribuição. Destas, as que apresentaram uma distribuição normal foram analisadas na comparação diabéticos *versus* não diabéticos através do Teste T de *Student* e as que não apresentaram uma distribuição normal foram analisadas através do teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Foi considerado um nível de significância estatística de 5% (p -value <0,05). Foram determinados OR (*Odds Ratio*) ajustados e respetivos intervalos de confiança a 95% como medidas de associação com a diabetes. Foram introduzidas no modelo as variáveis que revelaram associação estatisticamente significativa com a diabetes na análise bivariável sem evidência de

colineariedade (como acontece por exemplo entre as variáveis sdLDL e sdLDL/LDL). O modelo de regressão logística múltiplo foi otimizado por um método *Backward selection*.

_Resultados

As características clínicas e bioquímicas da população estudada encontram-se resumidas na [tabela 1](#). A população diabética tem um IMC significativamente superior ao da população não diabética, uma idade média mais alta e uma maior prevalência de Hipertensão Arterial (HTA). Os níveis de sdLDL são igualmente superiores na população diabética (34,85 mg/dL *versus* 28,84 mg/dL), assim como a razão sdLDL/LDL (27,64% *versus* 23,08%).

A análise das variáveis com diferença estatística entre os dois grupos (p -value <0,05) numa regressão logística com a diabetes como variável dependente (e onde foram retiradas as variáveis que não contribuíam para melhorar o modelo final), demonstrou que a presença de uma maior proporção de partículas de LDL mais pequenas e mais densas no soro (razão sdLDL/LDL) está fortemente associada à diabetes (OR=27,39), independentemente de potenciais efeitos da idade, IMC e HTA ([tabela 2](#)).

O grau de desempenho deste modelo foi avaliado através de uma análise ROC (*Receiver Operating Characteristic*), designadamente através da área abaixo da curva ROC. Aplicando os dados no programa SPSS, é obtida a área de 0,87, que comprova que este modelo é adequado ⁽⁴⁾ ([gráfico 1](#)).

Tabela 1: Características clínicas e bioquímicas da população estudada, dividida em dois grupos – não diabéticos e diabéticos.

	Não diabéticos (n = 1140)	Diabéticos (n = 75)	p-value
Idade (anos)	42,97 (±16,63)	63,32 (±13,93)	<0,001
IMC (Kg/m ²)	25,87 (±4,77)	29,58 (±4,42)	<0,001
Sexo, M/F	563/577 (49,4%/50,6%)	47/28 (62,7%/37,3%)	0,017
HTA, com/sem	351/789 (30,8%/69,2%)	67/8 (89,3%/10,7%)	<0,001
Colesterol total (mg/dL)	196,89 (± 36,81)	198,27 (± 45,48)	0,838
C-HDL (mg/dL)	56,72 (± 15,30)	50,57 (± 15,89)	<0,001
Triglicéridos (mg/dL)	101,43 (± 66,62)	145,56 (± 87,18)	<0,001
C-LDL (mg/dL)	122,55 (± 33,22)	124,77 (± 37,33)	0,616
sdLDL (mg/dL)	28,84 (±14,13)	34,85 (±16,20)	<0,001
sdLDL/LDL (%)	23,08 (±7,83)	27,64 (±9,09)	<0,001

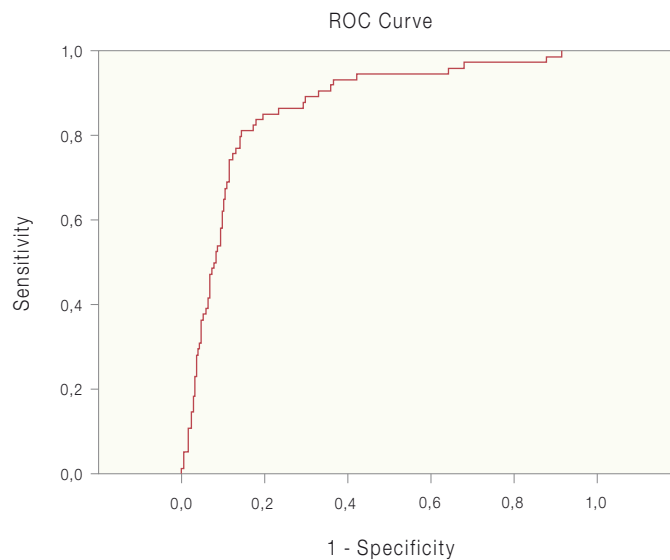
Os dados são apresentados como sendo a média ± o desvio padrão, com exceção para os dados de frequência.

Tabela 2: Regressão logística binária após otimização relativamente à presença de diabetes.

Variável	OR	95% IC	p-value
Idade	1,05	1,03-1,08	<0,001
IMC	1,07	1,02-1,13	0,009
HTA	4,96	2,14-11,52	<0,001
sdLDL/LDL	27,39	2,08-360,85	0,012

OR – Odds ratio; IC – intervalo de confiança

Gráfico 1: Curva ROC (Receiver Operating Characteristic) de um modelo estatístico que mostra uma forte associação entre a diabetes e a razão de sdLDL/LDL (AUC = 0,87, p < 0,001).



_Discussão

Os resultados deste estudo evidenciaram que os indivíduos diabéticos (DMT2) apresentam níveis de sdLDL superiores aos não diabéticos, numa população sem terapêutica para a dislipidemia. Os indivíduos diabéticos apresentam também mais casos de hipertensão arterial, apresentam em média um IMC superior e caracterizam-se por níveis de triglicéridos mais elevados, quando comparados com os indivíduos não diabéticos. Pelo contrário, apresentam níveis de C-HDL inferiores aos indivíduos não diabéticos. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos níveis de colesterol total e C-LDL entre os dois grupos. Estes resultados encontram-se de acordo com o já estabelecido internacionalmente (2,3,5-7). A regressão logística apresentou uma forte associação entre o rácio sdLDL/LDL e a diabetes, razão pela qual a análise destes dois parâmetros clínicos deve ser recomendada em indivíduos diabéticos como forma de prevenção de DCV, em particular em indivíduos com outros fatores de risco associados (obesidade, hipertensão, tabagismo).

_Conclusões

Os indivíduos diabéticos (DMT2) apresentam um maior risco de terem partículas aterogénicas de sdLDL, pelo que o seu doseamento pode vir a ser considerado como um potencial biomarcador para diagnóstico, juntamente com outros biomarcadores tradicionais da dislipidemia. Não obstante, este estudo é ainda insuficiente para concluir que o doseamento de sdLDL é crucial como preditor de uma DCV nos diabéticos, embora constitua um importante ponto de partida para futuros estudos epidemiológicos.

Referências bibliográficas:

- (1) Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, et al.; Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9733):2215-22. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2904878/
- (2) Hammoud T, Tanguay JF, Bourassa MG. Management of coronary artery disease: therapeutic options in patients with diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(2):355-65. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109700007324
- (3) Haffner SM; American Diabetes Association. Management of dyslipidemia in adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2003 ;26(Suppl 1):S74-77. http://care.diabetesjournals.org/content/26/suppl_1/s83.long
- (4) Tape Thomas G. The area under an ROC curve. In: *Interpreting Diagnostic Tests [Em linha]*. University of Nebraska Medical Center. [consult. 29/3/2017]. <http://gim.unmc.edu/dxtests/Default.htm>
- (5) Suh S, Park HD, Kim SW, et al. Smaller Mean LDL Particle Size and Higher Proportion of Small Dense LDL in Korean Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Metab J*. 2011;35(5):536-42. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3221030/
- (6) Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al.; Authors/Task Force Members; Additional Contributor. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2999-3058. [www.atherosclerosis-journal.com/article/S0021-9150\(16\)31267-9/pdf](http://www.atherosclerosis-journal.com/article/S0021-9150(16)31267-9/pdf)
- (7) Grupo de trabalho da European Society of Cardiology e da European Association for the Study of Diabetes para a diabetes e doenças cardiovasculares. Orientações relativas a diabetes, pré-diabetes e doenças cardiovasculares: sumário executivo. *Rev. Port. Cardiol*. 2007;26(11):1213-74. www.spc.pt/DL/RPC/artigos/871.pdf

Determinação do ergosterol no cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*) cultivado em borras de café e palha de trigo

Determination of ergosterol in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivated in coffee grounds and wheat straw

Sofia Ricardo¹, Ana Sanches-Silva^{2,3}, Fernando Ramos^{1,4}, Maria Conceição Castilho¹

ana.silva@insa.min-saude.pt

(1) Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

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

(3) Centro de Estudos de Ciência Animal, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

(4) Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Resumo

Um dos cogumelos comestíveis que tem suscitado maior interesse nos últimos anos é o *Pleurotus ostreatus*, conhecido como cogumelo ostra, devido à facilidade de cultivo e ao seu grande potencial económico e qualidade nutricional. Existe, assim, a necessidade de estudar a sua composição em nutrientes e compostos bioativos para valorizar o seu cultivo. Este estudo teve por objetivo determinar o teor de ergosterol, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detetor de Ultravioleta-Visível, do cogumelo *Pleurotus ostreatus* cultivado em diferentes substratos, nomeadamente, borras de café e palha de trigo. Verificou-se que as amostras de cogumelo *P. ostreatus* cultivadas em borras de café apresentaram uma concentração de ergosterol superior ($4,06 \pm 0,32$ mg/g de matéria seca) relativamente às amostras da mesma espécie de cogumelo cultivadas em palha de trigo ($3,34 \pm 0,19$ mg/g de matéria seca). O uso das borras de café no substrato de crescimento de cogumelos ostra permitiu um aumento da concentração de ergosterol. No futuro seria de todo o interesse avaliar a influência do uso deste subproduto no substrato de crescimento de outras espécies comestíveis de cogumelos e no teor de outros compostos bioativos.

Abstract

One of the edible mushrooms that have attracted more interest in recent years is *Pleurotus ostreatus*, known as the oyster mushroom, due to the ease of cultivation and its great economic potential and nutritional quality. Therefore there is the need to study its composition in nutrients and bioactive compounds to enhance its cultivation. This study aimed to determine the ergosterol content by high-performance liquid chromatography coupled to the ultraviolet-visible detector of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown on different substrates, namely coffee grounds and wheat straw. Samples of *P. ostreatus* mushroom cultivated in coffee grounds showed a higher concentration of ergosterol ($4.06 / g \pm 0.32$ mg dry matter) than the samples of the same species of mushroom grown on wheat straw ($3.34 / g \pm 0.19$ mg dry matter). The use of coffee grounds on the oyster mushroom growth substrate allowed obtaining an increase in ergosterol concentration. In the future it would be of great interest to evaluate the influence of the use of this by-product on the growth substrate of other edible mushrooms species and on the content of other bioactive compounds.

Introdução

Os cogumelos comestíveis são apreciados em todo o mundo não só pela sua textura e sabor, mas também pelas suas propriedades nutricionais e funcionais.

Estas propriedades devem-se ao facto dos cogumelos possuírem compostos bioativos, nomeadamente, ergosterol (precursor da vitamina D2), compostos fenólicos, tocoferóis, ácido ascórbico e carotenoides, responsáveis pela atividade antioxidante, pelo que podem ser associados à promoção da saúde (1,2).

Um dos cogumelos comestíveis que tem suscitado maior interesse nos últimos anos é o *Pleurotus ostreatus*, conhecido como cogumelo ostra (figura 1), devido à facilidade de cultivo e ao seu grande potencial económico e qualidade nutricional. Existe, assim, a necessidade de estudar a sua composição em nutrientes e compostos bioativos para valorizar o seu cultivo.

Figura 1: Cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*)



Tabela 1: ⬇️ Condições do método de HPLC-UV-Vis para a determinação do ergosterol em amostras de cogumelo *Pleurotus ostreatus*.

Equipamento	HPLC-UV-Vis composto por uma bomba Gilson modelo 307 (Gilson Medical Electronics, Villiers-le-Bel, França)
Fase estacionária	Coluna de fase normal de Sílica Nucleosil 100-5 (25 cm x 4,6 mm; diâmetro de partícula 5 µm) da HICHROM® (Inglaterra)
Fase móvel	Isooctano
Fluxo da fase móvel	1,5 ml/min
Eluição	Modo isocrático
Volume de injeção	20 µL
Temperatura da Coluna	Temperatura ambiente
Temperatura do Injetor	Temperatura ambiente
λ	282 nm

_Resultados e discussão

O método cromatográfico desenvolvido para a determinação de ergosterol provou ser específico, seletivo e rápido, apresentando a deteção de ergosterol um tempo de retenção de aproximadamente 3,2 minutos (8). A linearidade do método foi satisfatória ($r^2 = 0,9969$) num intervalo de 200 a 2000 µg/mL. A precisão intra-dia e inter-dia para a amostra de cogumelo cultivado em borras de café, apresentou valores de desvio padrão relativo (% RSD) de 4,9% e 7,8%, respetivamente (8). No caso da amostra de cogumelo cultivado em palha de trigo, os valores de precisão intra-dia e inter-dia foram de 2% e de 5,8%, respetivamente (8). A metodologia de extração desenvolvida apresentou resultados de recuperação do ergosterol entre 78,2 e 101% para os três níveis de concentração estudados (8).

Segundo Savón *et al.* (9), o teor de ergosterol no cogumelo depende de fatores ambientais, principalmente, da luz, temperatura, humidade, concentração de acetato de sódio e do tipo de substrato utilizado.

No presente estudo verificou-se que as amostras de cogumelo *P. ostreatus* cultivado em borras de café apresentaram uma concentração de ergosterol superior ($4,06 \pm 0,32$ mg/g matéria seca) relativamente às amostras de cogumelo *P. ostreatus* cultivado em palha de trigo ($3,34 \pm 0,19$ mg/g matéria seca), sendo

que os resultados indicam que o substrato à base de borras de café poderá ter influência no aumento da concentração de ergosterol (8).

Na literatura existem vários dados sobre o teor de ergosterol de outras espécies de cogumelos comestíveis, bastante procuradas, como é o caso dos cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake) e *Agaricus bisporus* (cogumelo de Paris). No caso do cogumelo *Lentinula edodes* os valores do teor de ergosterol encontrados variam entre 5,51 mg/g a 6,79 mg/g em matéria seca (10-12). Enquanto no cogumelo *Agaricus bisporus* o teor variou entre 3,06 mg/g a 7,80 mg/g em matéria seca (11, 12).

De acordo com o estudo de Jasinghe *et al.* (11), os cogumelos *Lentinula edodes* (6,05 mg/g) e *Agaricus bisporus* (7,80 mg/g) apresentaram um teor de ergosterol superior relativamente ao cogumelo *P. ostreatus*, o que também se verifica no presente estudo. Gil-Ramirez *et al.* (12) verificaram também que o cogumelo *Lentinula edodes* (5,51 mg/g) apresentou um teor de ergosterol superior ao cogumelo *P. ostreatus*. Porém, o cogumelo *Agaricus bisporus* (3,06 mg/g) apresentou um teor de ergosterol bastante próximo do *P. ostreatus* quer no mesmo estudo quer no presente trabalho.

Verificou-se, também, que a espécie *P. ostreatus* possui um teor de ergosterol superior em comparação a outras espécies

artigos breves_ n. 7

de cogumelos comestíveis, obtidas comercialmente, bastante apreciadas, tais como, *Lactarius deliciosus* (1,60 mg/g), *Ganoderma lucidum* (0,69 mg/g), *Agaricus blazei* (1,73 mg/g), *Cantharellus cibarius* (2,61 mg/g) e *Flammulina velutipes* (0,53 mg/g) (11, 12).

Conclusão

O conhecimento científico de determinados compostos, como o ergosterol, em cogumelos ostra cultivados em Portugal é escasso, pelos que os resultados deste estudo são importantes para valorizar e incentivar o cultivo e o consumo deste alimento funcional, que constitui, também, uma fonte promissora de compostos bioativos para suplementos alimentares e fórmulas farmacêuticas.

Por outro lado, o reaproveitamento de subprodutos da indústria alimentar, como as borras de café, é importante para a sustentabilidade de toda a cadeia alimentar. Assim, no futuro seria de todo o interesse a avaliação da influência deste subproduto no substrato de crescimento de outras espécies comestíveis de cogumelos e no teor de outros compostos bioativos.

Referências bibliográficas:

- (1) Ferreira IC, Barros L, Abreu RM. Antioxidants in wild mushrooms. *Curr Med Chem.* 2009;16 (12):1543-60.
- (2) Barros L, Dueñas M, Ferreira IC, et al. Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(6):1076-9.
- (3) Schwadorf K, Müller HM. Determination of ergosterol in cereals, mixed feed components, and mixed feeds by liquid chromatography. *J Assoc Off Anal Chem.* 1989;72(3):457-62.
- (4) Abreu V. Comparação de dois métodos para avaliação da qualidade micológica da matéria-prima utilizada na indústria do concentrado de tomate. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, 1998.
- (5) Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Reviewer guidance: validation of chromatographic methods. Rockville, MD: US FDA Federal Register, 1994. www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM134409.pdf
- (6) International Conference on Harmonization. Guidance for industry: Q2B validation of analytical procedures: methodology. Rockville, MD: US FDA Federal Register, 1996. www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm073384.pdf
- (7) The United States pharmacopeia (29th revision). Validation of Compendial Methods [Em linha]. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, Inc. [Consul. 20/7/ 2013]. www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1225.html

- (8) Ricardo SCN. Quantificação do teor de ergosterol por HPLC-UV e determinação da actividade antioxidante no cogumelo *Pleurotus ostreatus* comercializado e cultivado em borras de café e palha de trigo. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2013.
- (9) Savón RCB, Fernández CD, Manrique CEM, et al. Efecto de la luz en la concentración de micosteroles de *Pleurotus ostreatus* var. Florida. *Rev Cubana Aliment Nutr.* 2002;16(1):13-8. http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali02102.pdf
- (10) Mattila PH, Lampi AM, Ronkainen R, et al. Sterol and vitamin D2 contents in some wild and cultivated mushrooms. *Food Chem.* 2002;76(3):293-98.
- (11) Jasinghe VJ. Conversion of ergosterol in edible mushrooms to vitamin D2 by irradiation. Tese de doutoramento apresentada ao Department of Chemistry of the National University of Singapore, 2005.
- (12) Gil-Ramirez A, Clavijo C, Palanisamy M, et al. Edible mushrooms as potential sources of new hypocholesterolemic compounds. *Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*, 2011. www.wsbmp.org/proceedings/7th%20international%20conference/2/P13.pdf

Conhecimento, perceção e preferências dos consumidores relativamente aos produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada

Knowledge, perception and preferences of consumers on agricultural products and foodstuffs with registered name

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

helen.a.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

O atual conhecimento da população portuguesa sobre os produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada nomeadamente, como Denominação de Origem Protegida (DOP), Indicação Geográfica Protegida (IGP) e Especialidade Tradicional Garantida (ETG), pode ser determinante nas preferências de consumo, podendo influenciar a sustentabilidade regional, social e económica de zonas rurais. O conhecimento sobre estes produtos e estas designações, bem como os hábitos de consumo e razões de escolha por parte dos consumidores portugueses foram objeto deste trabalho. Desta forma, foi elaborado um questionário sobre a temática e foi aplicado a 91 indivíduos em território nacional. Constatou-se que apesar da maioria dos inquiridos conhecer os produtos certificados e os símbolos associados a essa certificação, o consumo é relativamente baixo, não assumindo a preferência por estes produtos. No entanto, os inquiridos consideram que a informação e a divulgação, através dos meios adequados de publicidade e *marketing*, pode contribuir para o destaque e valorização destes produtos, entendidos pela maioria como sendo de elevada qualidade.

_Abstract

The current knowledge of the Portuguese population on quality schemes for agricultural products and foodstuffs, namely Protected Designation of Origin (PDO) products, Protected Geographical Indication (PGI) and Traditional Speciality Guaranteed (TSG), can be crucial in consumer preferences, and may influence the regional, social and economic sustainability of rural areas. The aims of this study were to assess consumers' perception concerning these products and designations, as well as consumer habits and reasons of choice. Therefore, a quantitative study was designed, which was based on a questionnaire, applied to 91 individuals in Portugal. It was found that although the majority of respondents recognize the certified products and the symbols associated with this certification, the consumption of these products is low, indicating the low preference for choosing these products regularly. However, a better and more assertive information and dissemination, through appropriate means of advertising and marketing could contribute to the prominence and value of these products considered by most as high quality products.

_Introdução

A importância estratégica na proteção dos produtos agrícolas e géneros alimentícios portugueses, nomeadamente os produtos sob os regimes de qualidade Denominação de Origem Protegida (DOP), Indicação Geográfica Protegida (IGP) e Especialidade Tradicional Garantida (ETG) (figura 1) e, o seu potencial económico e social, quer pela origem quer pela forma tradicional de produção, garantem a distinção relativamente aos outros produtos similares no mercado, constituindo um desafio permanente à sua divulgação inovadora (1). Os DOP representam, os produtos originários de um determinado local ou região, cuja qualidade ou características se devem essencialmente ou exclusivamente a um meio geográfico específico incluindo os fatores naturais e humanos e cuja produção, transformação e elaboração, ocorrem na área geográfica delimitada. O que distingue estes últimos dos produtos agrícolas e géneros alimentícios com a designação IGP é que pelo menos uma das fases de produção deve ter lugar na área geográfica delimitada. A designação ETG é atribuída quando um produto resulta de um modo de produção, transformação ou composição que correspondam a uma prática tradicional. Para além disso devem ser produzidos a partir de ingredientes utilizados tradicionalmente (2). O desenvolvimento, a produção, a certificação e a comercialização de um produto requer um conhecimento apurado acerca do consumidor e obriga a testar, ouvir e questionar para garantir o sucesso desse produto (3). A aquisição de um produto certificado deverá garantir a qualidade e a sua autenticidade (4). Estes produtos só serão considerados como vantajosos e competitivos caso os promotores e comerciantes, promovam uma gestão virada cada vez mais para o exterior apoiada em competências de *marketing* (5).

Figura 1: Símbolos relativos a Denominação de Origem Protegida (DOP), Indicação Geográfica Protegida (IGP) e Especialidade Tradicional Garantida (ETG).



© União Europeia

Contudo, faltam estudos sobre o nível atual de conhecimento da população portuguesa acerca da identidade, importância e qualidade destes produtos. Para além disso, torna-se essencial identificar hábitos de aquisição e consumo destes produtos por forma a determinar as razões associadas à sua valorização.

_Objetivos

Este trabalho teve como objetivo conhecer o perfil do consumidor de produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada de acordo com os regimes de qualidade existentes ao abrigo do Regulamento (UE) n.º 1151/2012, em Portugal, bem como, caracterizar a população quanto aos hábitos de aquisição e consumo destes produtos.

_Material e métodos

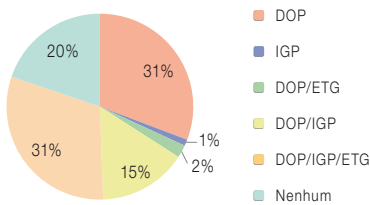
Neste trabalho foi desenvolvido e aplicado em agosto e setembro de 2016, um questionário *online*, de resposta anónima. O questionário continha 25 questões, incluindo dados sociodemográficos e informações gerais para avaliação dos conhecimentos sobre os produtos agrícolas e/ou géneros alimentícios com denominação registada. Os resultados obtidos foram tratados com recurso ao Microsoft Office Excel® (2007).

_Resultados e discussão

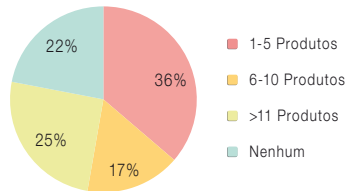
Para caracterizar a população definindo um perfil de consumidor, é fundamental considerar os fatores sociodemográficos que, aliados aos fatores culturais exercem uma ampla influência sobre os comportamentos individuais e por consequência, coletivos (6). O perfil sociodemográfico analisado neste questionário, realizado a 91 indivíduos, demonstra que a maioria é representada pelo género feminino (69%), reside no distrito de Lisboa (45,1%), com uma média de idades de 40 anos. Constatou-se que 80,2% dos inquiridos reconhece pelo menos um dos símbolos relativos aos regimes de qualidade, e 36% afirma conhecer 1 a 5 produtos DOP, IGP e/ou ETG. Dos inquiridos que conhecem este tipo de produtos, 32,4% refere o seu consumo pelo menos uma vez por semana, pela sua qualidade e sabor. Relativamente ao local onde habitualmente adquirem este tipo de produtos, 46,8% dos indivíduos referiu os hiper- e supermercados e 31% indicaram o comércio local. Dos vários produtos apresentados no questionário, os mais conhecidos foram, o Queijo da Serra da Estrela (DOP), a Pêra Rocha do Oeste (DOP), a Alheira de Mirandela (IGP) e os Ovos Moles de Aveiro (IGP) sendo que estes são igualmente os consumidos com maior frequência (figura 2). A informação e divulgação foram os aspetos referidos como importantes para a maioria (94,5%) dos indivíduos, dos quais 86% consideram que deveria ser disponibilizada através dos meios de publicidade habituais. De acordo com este trabalho, 56% dos inquiridos estaria disposto a pagar um valor superior por este tipo de produtos.

Figura 2: Respostas a algumas das questões abrangidas no questionário sobre o conhecimento da população portuguesa relativamente aos produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada.

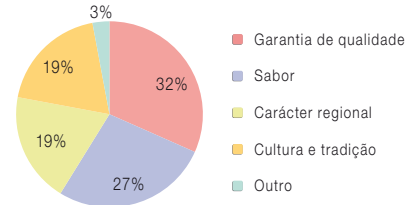
Relativamente aos símbolos apresentados (figura 1), qual(ais) conhece?



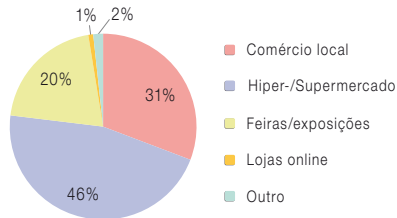
Quantos produtos agrícolas e/ou géneros alimentícios com denominação registada (DOP, IGP, ETG) conhece?



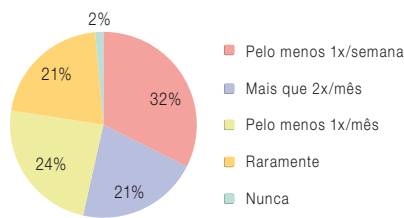
Porque consome este tipo de produtos (DOP, IGP, ou ETG)?



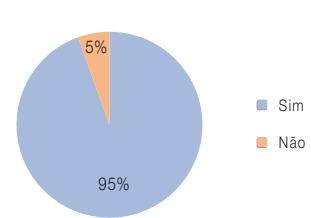
Onde costuma adquirir este tipo de produtos (DOP, IGP, ou ETG)?



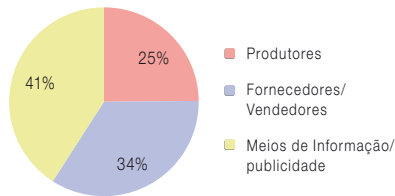
Costuma consumir este tipo de produtos (DOP, IGP, ou ETG)?



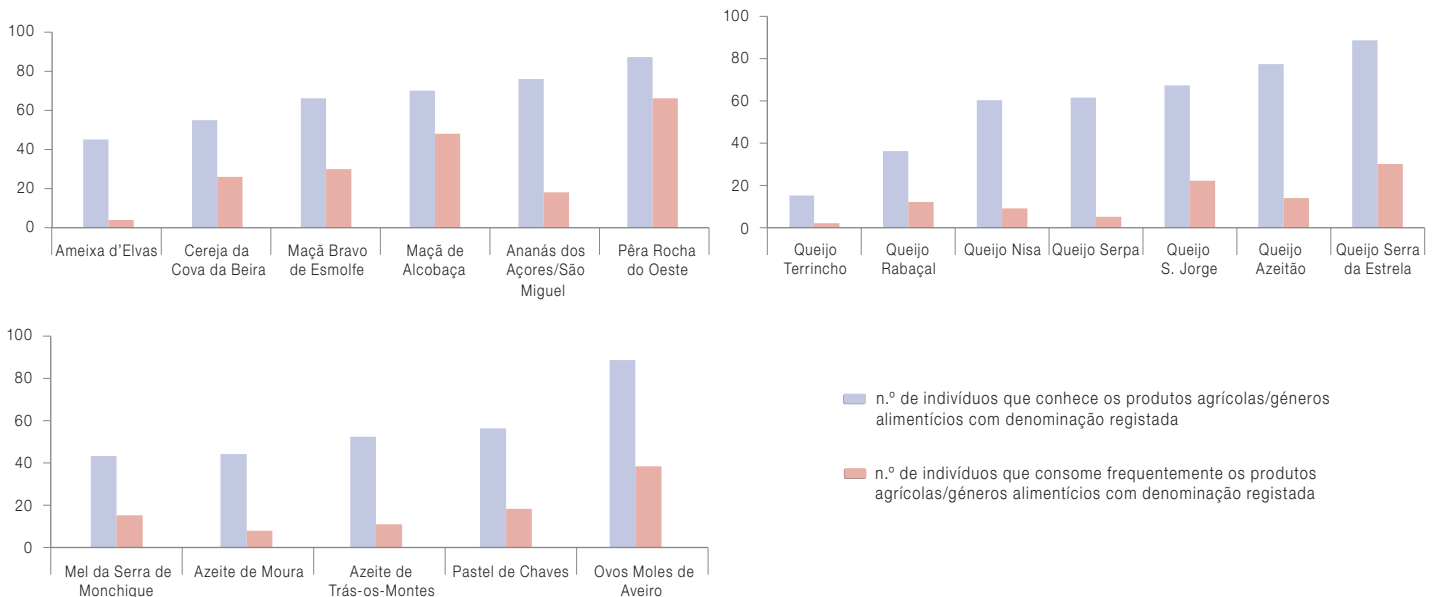
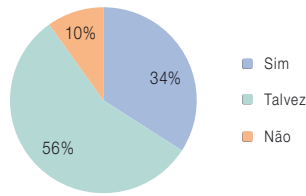
Considera que deveria existir mais informação/divulgação destes produtos (DOP, IGP, e ETG)?



Quem deveria disponibilizar mais informação ou divulgar estes produtos?



Estaria disposto a pagar um valor superior por um produto DOP, IGP, ou ETG?



Conclusões

Na análise dos resultados, o perfil sociodemográfico assume uma correspondência com os comportamentos de aquisição e consumo de produtos agrícolas e géneros alimentícios com denominação registada, revelando a existência de um conhecimento elevado sobre os mesmos, não se traduzindo no entanto em hábitos equivalentes de escolha e consumo frequente. O valor dos produtos não foi considerado como uma preocupação para a maioria dos indivíduos, mostrando-se na disponibilidade de adquiri-los por valores superiores caso considerassem que a qualidade seria justificável. Este aspeto suporta a ideia de que a sustentabilidade através da continuação do investimento dos produtores e entidades certificadoras nacionais, pode ser assegurada desde que esteja garantido o desenvolvimento de futuros trabalhos de investigação e divulgação adequada, potenciando as suas mais-valias e as suas características únicas e diferenciadoras.

Agradecimentos

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

Referências bibliográficas:

- (1) Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro. Produtos tradicionais da Beira Litoral. Lisboa: DRAP Centro, 2016.
- (2) União Europeia. Regulamento nº 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>
- (3) McWatters K, Chinnan M, Philip R, et al. Consumer-guided development of a peanut butter tart: implications for successful product development. *Food Qual Prefer.* 2006;17(6):505-12.
- (4) 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.
- (5) Serralvo FA, Ignacio CP. O comportamento do consumidor de produtos alimentícios: um estudo exploratório sobre a importância das marcas líderes. In: VII SEMEAD - Seminário em Administração (Marketing). FEA-USP, 2004, São Paulo.
<http://sistema.semead.com.br/7semead/>
- (6) van den Bree MB, Przybeck TR, Robert Cloninger C. Diet and personality: associations in a population-based sample. *Appetite.* 2006 Mar;46(2):177-88.

Estudo-piloto para avaliação do estado de conservação de coberturas de fibrocimento

Evaluation of the state of conservation of asbestos cement sheets: pilot study

Fátima Aguiar, Pedro Sardinha, Nuno Rosa, Maria do Carmo Proença

fatima.aguiar@insa.min-saude.pt

Unidade de Ar e Saúde Ocupacional. Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

_Resumo

O amianto, agente cancerígeno, foi aplicado em mais de 3000 produtos diferentes, sendo um deles o fibrocimento, material largamente utilizado na construção civil até 2005. Sendo o fibrocimento facilmente reconhecido pela população em geral, a preocupação sobre o seu estado de conservação e eventual libertação de fibras para o ar ambiente, tem aumentado significativamente, o que se tem traduzido pela remoção sem critérios e/ou procedimentos de segurança de muitos dos locais onde estava aplicado. Pretendeu-se com o atual estudo testar uma grelha de avaliação do estado de conservação do fibrocimento, desenvolvida em Itália, simultaneamente com a avaliação da contaminação do ar por fibras respiráveis para, com base nos resultados, tomar a decisão de manter e monitorizar, ou remover o material.

_Abstract

Asbestos is a carcinogenic agent, applied in more than 3000 different products, such as asbestos cement sheets widely used in building materials until 2005. Since cement sheets are well recognized by the population, there is a growing concern about its state of conservation, and eventual fibre release to ambient air, increasing the removal of these materials without criteria or safety precautions. The present study aimed to test an evaluation grid for asbestos cement sheets state of conservation, developed in Italy, simultaneously with air monitoring for respirable fibres using the results to decide when to keep and monitor or remove the material.

_Introdução

Amianto ou asbesto é o termo genérico utilizado para designar um grupo de seis silicatos naturais de magnésio e/ou ferro que apresentam formas fibrosas e que, dadas as suas excelentes qualidades, nomeadamente, elasticidade, incombustibilidade, fraca condutibilidade térmica e resistência a altas temperaturas, aos produtos químicos, à putrefação e à corrosão, foi largamente utilizado até à sua proibição, na União Europeia, em 2005.

Os tipos de amianto mais utilizados na indústria foram a Crocidolite (amianto azul), a Amosite (amianto castanho) e o Crisólito (amianto branco). Outros tipos de amianto, com menor significado industrial, são a antofilita, a tremolite e a actinolite.

Estudos epidemiológicos revelaram que a exposição a qualquer tipo de fibras de amianto está associada ao desenvolvimento de asbestose (fibrose pulmonar), lesões pleurais, cancro do pulmão e mesotelioma, um tipo de cancro raro, que afeta a pleura ou o peritoneu. Outras patologias igualmente associadas à exposição ao amianto são o cancro do trato gastrointestinal do rim e laringe, placas pleurais e verrugas de amianto (lesão benigna da pele) (1).

O reconhecimento do amianto como agente cancerígeno só foi possível muitos anos após a sua vasta utilização na construção civil, no pós-guerra, dado o longo período de latência (20-40 anos) antes do aparecimento das patologias associadas.

Embora a utilização do amianto esteja atualmente proibida, estima-se que se encontra aplicado em cerca de 3000 produtos diferentes, o que obriga a que se mantenha uma vigilância adequada dos locais onde se encontra, por forma a reduzir o risco de exposição a este agente cancerígeno.

O risco de exposição ao amianto depende do tipo e material que o contém (friável ou não friável) e do local onde se encontra aplicado (acessível ou confinado).

O fibrocimento, aplicado no nosso país em inúmeras coberturas, é um material que contém fibras de amianto (15 a 20%) que se encontram fortemente aglutinadas por cimento. Trata-se, por isso, de um material não friável, cuja probabilidade de libertação de fibras para o ar ambiente é muito baixa, considerando-se que a sua ocorrência será ocasional e em caso de degradação do material ou de agressão direta.

artigos breves_ n. 9

Atualmente, apesar do conhecimento e divulgação de informação sobre o fibrocimento, tem-se verificado um aumento muito significativo no número de pedidos à Unidade do Ar e Saúde Ocupacional do Departamento de Saúde Ambiental do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), não só para a monitorização da contaminação do ar por fibras respiráveis, provenientes destas coberturas, como para a avaliação do seu estado de conservação, apoiando na tomada de decisão para manter ou remover as placas.

_Objetivo

Com o presente estudo pretendeu-se testar o algoritmo italiano Amleto (2013) (2) para avaliação do estado de conservação do fibrocimento e comparar com os resultados de avaliação da contaminação do ar por fibras respiráveis, para, com base nos resultados, tomar a decisão de manter e monitorizar, ou remover o material.

_Material e métodos

No ano de 2016 a Unidade do Ar e Saúde Ocupacional do INSA desenvolveu um estudo-piloto, onde foi adaptado e testado o algoritmo Amleto, para avaliação do estado de conservação das telhas de fibrocimento (aplicadas entre 1990 e 1999) com o objetivo de auxiliar na tomada de decisão de manutenção ou remoção das mesmas.

Durante o período entre julho e setembro de 2016 foi avaliado um total de 42 edifícios, onde foram efetuadas 42 amostragens

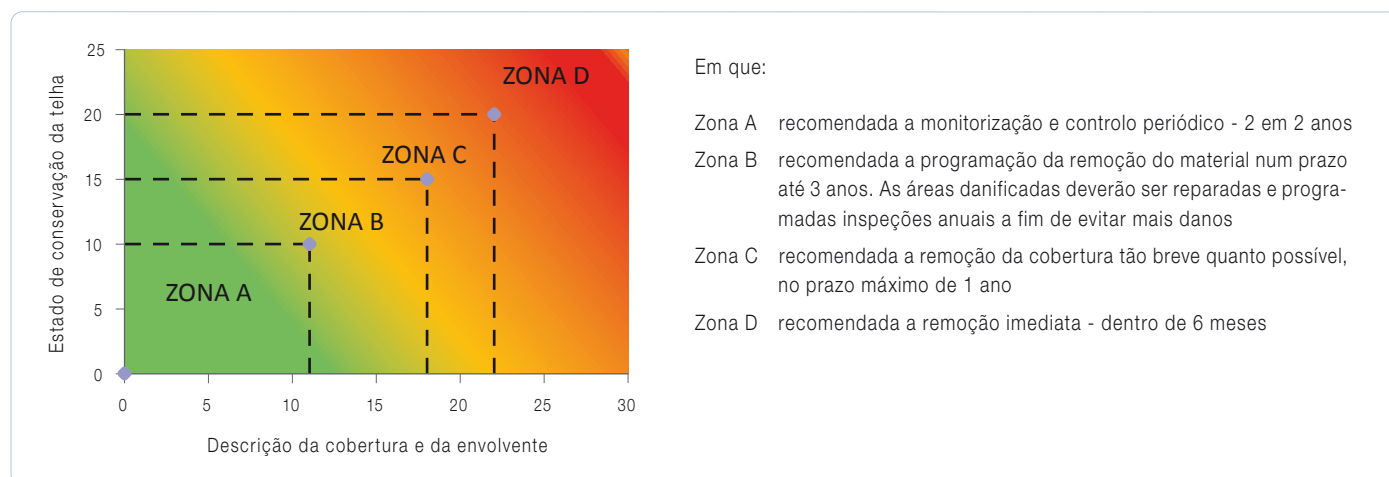
de ar para determinação da concentração ambiental de fibras respiráveis em suspensão e 26 amostragens de material para identificação do tipo de fibras de amianto presentes no material de fibrocimento das coberturas.

A amostragem de fibras respiráveis em suspensão no ar e a sua posterior determinação seguiu o preconizado no método "Determination of airborne fibre number concentrations: a recommended method, by phase-contrast optical microscopy (membrane filter method)" (3). Efetuaram-se colheitas de amostras de ar estáticas, com a duração média de 5 horas, utilizando filtros de membrana montados em porta-filtros antiestáticos da Millipore, recorrendo a bombas de amostragem colocadas ao nível das coberturas. Os filtros foram posteriormente tratados em laboratório e as fibras contadas utilizando a microscopia óptica de contraste de fase, de acordo com o preconizado no método atrás referido.

A recolha das amostras de material das coberturas de fibrocimento seguiu as indicações do guia HSG248, do HSE Inglaterra "Asbestos: The analysts' guide for sampling, analysis and clearance procedures" (4).

A avaliação do estado de conservação das coberturas de fibrocimento, foi efetuada com a aplicação do referido algoritmo, que entra em linha de conta com a Classificação da Cobertura e da envolvente (revestimento ou tratamento da superfície, acessibilidade, proximidade de áreas públicas, edifício desocupado ou em uso, entre outras) e Classificação do estado de conservação da Telha (compactação, observação de fibras, descamação e fissuras, pó nas calhas e estalactites).

Gráfico 1: Interpretação do resultado





Resultados e discussão

Os resultados obtidos, revelaram a presença de fibras de amianto do tipo crisótilo nas 26 amostras de material recolhidas. A concentração de fibras respiráveis em suspensão no ar foi inferior a $0,01 \text{ f/cm}^3$ em todas as amostras de ar (42).

De acordo com o recomendado pela Organização Mundial de Saúde, em contexto de exposição ambiental, para que um determinado local possa ser considerado seguro para ocupação/reocupação a concentração de fibras respiráveis em suspensão no ar deverá ser igual ou inferior a $0,01 \text{ fibra/cm}^3$, valor considerado como indicador de “área limpa”.

A classificação, resultante da aplicação do algoritmo, é efetuada com a atribuição de determinada pontuação a características específicas que podem influenciar a degradação do material da cobertura. A soma das classificações relativas a cada parâmetro é analisada num gráfico de interpretação do resultado (**gráfico 1**), dividido por 4 zonas que correspondem às intervenções recomendadas.

Aplicando o algoritmo, obtiveram-se:

- 2 locais classificados na Zona B – previsão de remoção no prazo de cerca de 3 anos;
- 2 locais classificados entre a Zona A e a Zona B – recomendação para intervenções de melhoria e monitorização a dois anos;
- 7 locais classificados na Zona A – monitorização recomendada a cada dois anos.

Conclusão

Os resultados obtidos, na aplicação do algoritmo Amleto e na determinação de fibras respiráveis no ar, permitiram confirmar que o fibrocimento, desde que em bom estado de conservação, é um material de muito baixo risco no que concerne à exposição a fibras de amianto.

De um modo geral, o material que se encontra em boas condições, não liberta fibras de amianto para o ar, sendo baixo o risco de exposição ao referido agente.

O algoritmo de avaliação testado, demonstrou ser uma ferramenta muito útil para avaliação *in loco* do estado de conservação das coberturas de fibrocimento, facilitando a tomada de decisão.

Referências bibliográficas:

- (1) Asbestos (Chrysotile, Amosite, Crocidolite, Tremolite, Actinolite, and Anthophyllite), IARC Monograph, 2012, pp219-294.
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C-11.pdf>
- (2) Regione Lazio. Laboratorio di Igiene Industriale - Centro Regionale Amianto. AMLETO: Algoritmo per la valutazione dello stato di conservazione delle coperture in cemento-amianto e del contesto in cui sono ubicate. In: L'amianto nella Regione Lazio: report 2013. Itália: Dipartimento di Prevenzione AUSL Viterbo, 2013. (Allegato 2).
http://www.prevenzioneonline.net/pdf/reportcralazio/allegato_2.pdf
- (3) World Health Organization. Determination of airborne fibre number concentrations: a recommended method, by phase-contrast optical microscopy (membrane filter method). Geneva: WHO, 1997.
www.who.int/occupational_health/publications/en/oehairbornefibres.pdf?ua=1
- (4) UK Health and Safety Executive. Asbestos: the analysts' guide for sampling, analysis and clearance procedures. HSG248 (1st ed., 2006).
www.hse.gov.uk/pUbns/priced/hsg248.pdf (version online)

Acidentes domésticos e de lazer: resultados do sistema de vigilância EVITA apurados para o período 2013-2015

Home and leisure accidents: results of the EVITA surveillance system for the period 2013-2015

Tatiana Alves, Emanuel Rodrigues, Mariana Neto, Ricardo Mexia, Carlos Matias Dias

tatiana.alves@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

A vigilância dos Acidentes Domésticos e de Lazer (ADL) notificados pelas urgências de unidades de saúde do Serviço Nacional de Saúde (SNS) é a base do sistema EVITA - Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismos e Acidentes, coordenado pelo Departamento de Epidemiologia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, em colaboração com a Administração Central dos Sistemas de Saúde, desde 2000. Os resultados apresentados reportam-se aos dados recolhidos pelo sistema EVITA entre 1 de janeiro de 2013 e 31 de dezembro de 2015, num total de 26681 ADL. A análise dos dados é descritiva, tendo sido utilizado o software estatístico SPSS 20.0 (SPSS inc.). As lesões causadas por “queda” e verificadas em “Casa” foram as mais frequentemente registadas por EVITA entre 2013 e 2015. Os grupos etários mais registados foram os correspondentes aos grupos de indivíduos dos 0 aos 14 anos e com 65 e mais anos. O padrão de distribuição etária e por sexo de ADL revelado por este sistema entre 2013 e 2015 indica alguns grupos de idade como potencial alvo para programas de intervenção. O facto de a informação sobre a lesão ser obtida sem triagem nem diagnóstico médico prévio numa amostra de conveniência de serviços de urgências do SNS, aconselham precaução na interpretação. Ainda assim, EVITA é único e a informação que recolhe não é obtida nem divulgada atualmente por outra via em Portugal.

_Abstract

The surveillance of home and leisure accidents (HLA) reported by health units of the National Health Service (NHS) is the basis of the injury surveillance system EVITA, coordinated by the Department of Epidemiology of the National Institute of Health Doctor Ricardo Jorge, in collaboration with the Central Administration of Health Systems, since 2000. During the period 2013 to 2015, EVITA collected data on 26681 ADL. The analysis of the data is descriptive, using statistical software SPSS 20.0 (SPSS inc.). Injuries caused by “fall” and “Home” were the most frequently recorded and the groups of individuals from 0 to 14 years and with 65 and more years. The age and sex distribution of ADL revealed by this system between 2013 and 2015 indicates some age groups as a potential target for intervention programs. The fact that information about the injury is obtained without screening or prior medical diagnosis on a convenience sample of emergency department of the NHS, advises caution in the interpretation. However, EVITA is unique and the information it collects is not currently obtainable through any other means in Portugal.

_Introdução e objetivo

Considerando que os Acidentes Domésticos e de Lazer (ADL) afetam os indivíduos ao longo da vida, os dados e a informação sobre este fenómeno são vitais para o planeamento, implementação e monitorização de estratégias de prevenção e controlo.

De acordo com a Associação EuroSafe (*European Association for Injury Prevention and Safety Promotion*) as lesões intencionais e não intencionais (acidentes) representam um problema de saúde pública previsível e amplamente evitável na Europa (1).

Dados publicados por esta associação sobre “Lesões na União Europeia” referente ao período de 2012 a 2014, sustentados na base de dados a nível europeu - Injury Database (EU-IDB) revelam que a maioria das lesões que implicam recorrência ao serviço de urgência dos hospitais e eventual internamento ocorrem em âmbito doméstico e de lazer (1).

Estima-se que por cada lesão fatal na Europa (23.2000, por ano) ocorrem aproximadamente 163 recorrências ao Serviço de Urgências (38 milhões de casos por ano), das quais 23 (5.3 milhões de casos por ano) resultam em internamento hospitalar e uma grande proporção em incapacidade permanente. Os custos diretos com a saúde para tratar as vítimas que recorreram ao hospital na EU rondam pelo menos 80 biliões de euros, por ano. De referir, que os acidentes domésticos e de lazer representam a maior parcela destes custos.

Com quase um quarto de um milhão de fatalidades, por ano, as lesões são a 4.ª causa de morte na EU, depois das doenças cardiovasculares, cancro e doenças respiratórias. Nas crianças, adolescentes e jovens adultos os acidentes são a principal causa de morte.

O registo e sistema de vigilância EVITA - Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismos e Acidentes, criado em 2000 na continuidade do sistema ADELIA - Acidentes Domésticos e de Lazer - Informação Adequada, coordenado pelo Departamento de Epidemiologia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), tem como objetivo determinar frequências e tendências relativas à ocorrência deste tipo de acidentes, cuja causa direta não seja doença, acidente de viação, acidente de trabalho ou violência, bem como, obter a caracterização das vítimas, das situações, agentes envolvidos e identificar situações de risco e de produtos perigosos envolvidos (2).

Assim, o presente trabalho destaca alguns resultados respeitantes aos dados apurados a partir deste sistema referentes à situação nacional, no período de 2013 a 2015.

_Materiais e métodos

O sistema EVITA é alimentado pelo registo de ADL recolhidos nos serviços de urgência do Serviço Nacional de Saúde (SNS) participantes neste sistema. ADL são todos os acidentes domésticos ou de lazer registados nas urgências do SNS, cuja causa não seja doença, acidente de viação, acidente de trabalho ou violência. O registo dos ADL é feito durante o ato administrativo de inscrição na urgência, através de uma apli-

cação eletrónica, sendo os funcionários administrativos objeto de uma formação específica. É recolhida informação sobre variáveis de caracterização demográfica: data de nascimento, sexo, caracterização do acidente: data, hora, local, atividade no momento do acidente, mecanismo da lesão, tipo de lesão, parte do corpo lesada, descrição do acidente e seguimento do sinistrado.

Os resultados apresentados reportam-se aos dados recolhidos pelo sistema EVITA entre 1 de janeiro de 2013 e 31 de dezembro de 2015, um total de 26681 ADL (3).

_Resultados e discussão

Entre 2013 e 2015, o número total de acidentes domésticos e de lazer registados pelo sistema EVITA foi de 26681.

A distribuição percentual por sexo dos ADL revela uma percentagem mais elevada no sexo masculino (52,6) em relação ao sexo feminino (47,4), observada nos grupos etários entre os 0 e 54 anos. Todos os grupos etários seguintes (≥ 55 anos) revelaram um padrão inverso, tendência que se tem vindo a verificar em análises anteriores, o que poderá estar relacionado com o facto de nos grupos etários mais idosos existir uma prevalência superior de indivíduos do sexo feminino (Tabela 1) (4).

Tabela 1: ▾ Distribuição dos ADL por sexo e grupo etário.

Grupo etário	Sexo				Total	
	Masculino		Feminino		n	%
	n	%	n	%		
0 - 4	1392	56,1	1089	43,9	2481	9,3
5 - 9	1492	59,6	1011	40,4	2503	9,4
10 - 14	1945	58,1	1405	41,9	3350	12,6
15 - 19	1272	58,8	893	41,2	2165	8,1
20 - 34	2162	64,0	1218	36,0	3380	12,7
35 - 44	1428	61,9	880	38,1	2308	8,7
45 - 54	1218	55,6	971	44,4	2189	8,2
55 - 64	961	43,7	1237	56,3	2198	8,2
65 - 74	943	41,0	1356	59,0	2299	8,6
≥ 75	1223	32,1	2585	67,9	3808	14,3
Total	14036	52,6	12645	47,4	26681	100

artigos breves_ n. 10

Observando os mecanismos de lesão que mais contribuíram para o número de ADL, as quedas (68,8) destacam-se como a causa de ADL mais frequente (gráfico 1).

A análise da distribuição das quedas por grupo etário e sexo permite verificar que nos grupos etários 0 a 44 anos existe uma maior percentagem de quedas no sexo masculino, enquanto

que nos grupos etários 45 e mais anos, existe uma percentagem maior deste tipo de ocorrência no sexo feminino.

A análise do local de ocorrência do acidente revelou, durante os anos analisados, a “Casa” (46,1), seguido da “Ar livre” (18,3) e “Escola” (15,6) como os locais de ocorrência com percentagem mais elevada de ADL (gráfico 2).

Gráfico 1: Distribuição dos ADL por mecanismo de lesão no momento do acidente.

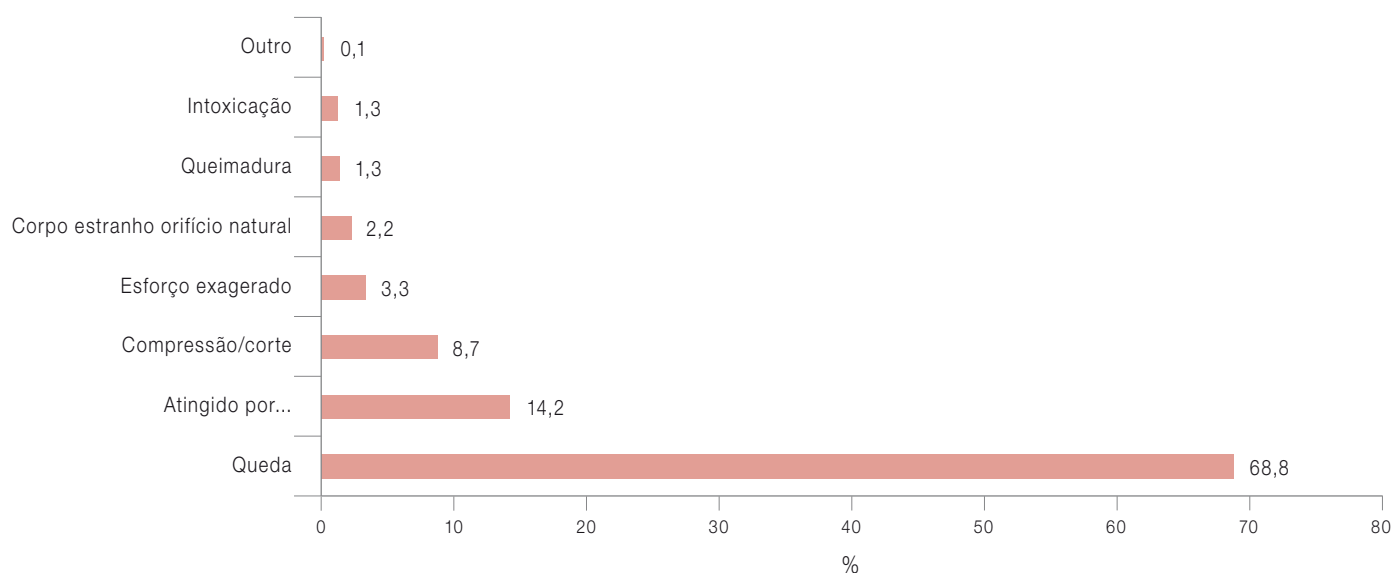
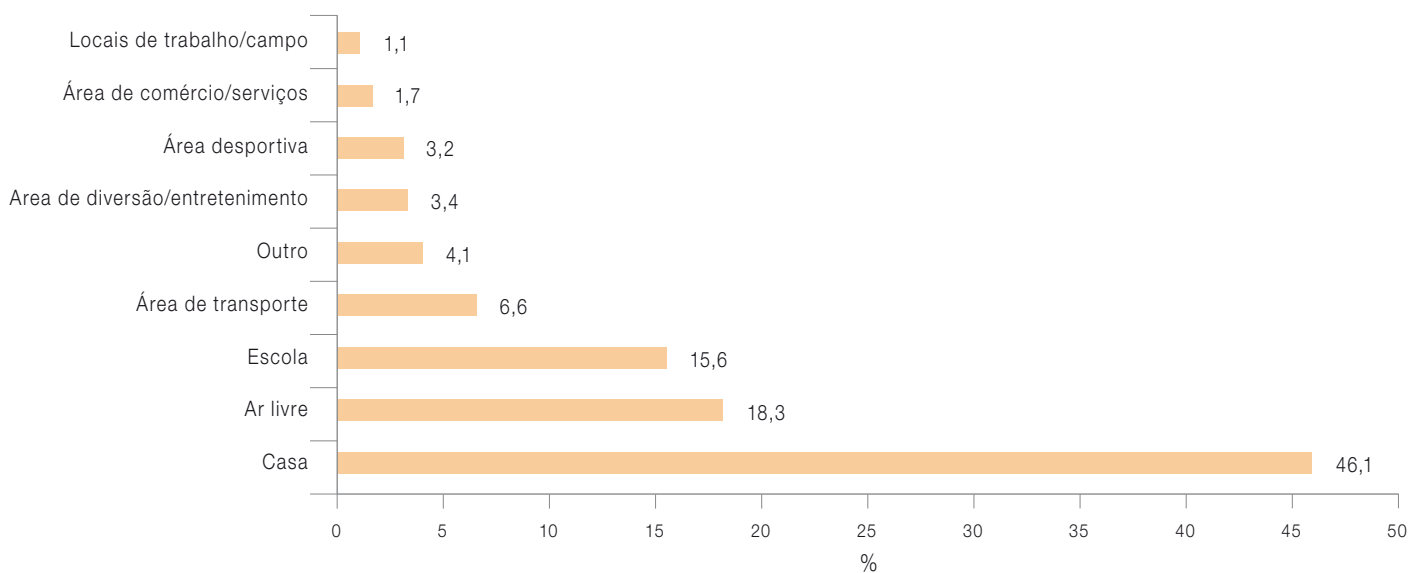


Gráfico 2: Distribuição dos ADL por local de ocorrência.





artigos breves_ n. 10

A manutenção do sistema EVITA, com reportes regulares sobre a magnitude deste fenómeno, revela-se de elevada utilidade também do ponto de vista dos profissionais de saúde, na medida em que demonstra a necessidade de reforço da sua capacidade de intervir junto de grupos e cenários de maior risco, mediante formação, treino, desenvolvimento profissional tendo em vista a prestação de cuidados efetivos.

Os dados apresentados justificam a importância do desenvolvimento e expansão do atual sistema EVITA a outras unidades e níveis de saúde, dada a provável sub-representação das lesões decorrentes de acidentes cujas vítimas recorrem a esses níveis e regiões.

_Conclusões

Os resultados do sistema EVITA ilustram a importância que os serviços de urgência têm enquanto local de registo e detalhe dos dados de ADL, na medida em que produz informação relativa ao acidentado, acidente, suas circunstâncias e características da lesão, fundamental para a adoção de iniciativas e medidas de prevenção da ocorrência deste tipo de acidentes.

Esta análise sobre a caracterização da ocorrência dos ADL na população estudada, no período de 2013 a 2015, revela os grupos mais vulneráveis, como por exemplo, crianças, adolescentes, pessoas que praticam desportos e pessoas idosas, e locais de maior risco para a ocorrência de ADL.

Importa lembrar o papel deste sistema na monitorização do programa nacional de prevenção de acidentes actualmente em avaliação e reformulação. Assim sendo, reiteramos a importância da manutenção e ampliação deste sistema de registo de acidentes domésticos e de lazer (EVITA), no qual a informação produzida é única e fundamental para o conhecimento deste fenómeno a nível nacional.

Referências bibliográficas:

- (1) European Association for Injury Prevention and Safety Promotion. Injuries in the European Union: summary of injury statistics for the years 2012-2014. Amsterdam: EuroSafe, 2016. www.eurosafe.eu.com/uploads/inline-files/EuropeSafe.MasterWeb.02112016%20%282%29.pdf
- (2) Contreiras T, Rodrigues E. EVITA – Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismo e Acidentes: relatório 2009-2012. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, 2014. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/2449>
- (3) Rodrigues E, Mexia R, Neto M, et al. EVITA- Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismo e Acidentes: relatório 2013-2015. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, 2016. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4380>
- (4) Neto M, Rodrigues E. Em casa ou no lazer o acidente pode acontecer: resultados preliminares do sistema EVITA apurados para o período 2010-2014. Boletim Epidemiológico Observações. 2015;4(13):3-6. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3099>

ficha técnica

_ Título: Boletim Epidemiológico Observações

_ Periodicidade: Quadrimestral

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

_ Numeração: 2ª série
Volume 6, número 18
Janeiro - Abril 2017

_ 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 2017.

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