



2026
número

39

2ª série



Lisboa_INSA, IP

publicação quadrimestral_ janeiro - abril

ISSN: 2182-8873 (em linha)

Observações

Boletim Epidemiológico

sumário_

_ Editorial

A importância da consignação de receitas fiscais para a saúde pública e o papel estruturante do INSEF no INSA p03
The importance of earmarking tax revenues for public health and the structural role of INSEF within INSA
Carlos Matias Dias, Ana Paula Rodrigues

_ Artigos breves

_ Doenças infecciosas

1_ Da tipagem clássica à genómica: reforço da vigilância de Legionella pneumophila com uma nova metodologia p06
From classical typing to genomics: Strengthening the surveillance of Legionella pneumophila with a new methodology
Vítor Borges, Verónica Mixão, João Rodrigues, Raquel Rodrigues, Jorge Machado, João Paulo Gomes

2_ Vírus Nipah: estará Portugal preparado para o diagnóstico de um caso importado? p11
Nipah virus: Is Portugal prepared to diagnose an imported case?
Rita Cordeiro, Ana Pelerito, Isabel Lopes de Carvalho, Maria Sofia Nuncio

3_ Infeções fúngicas: estudo retrospectivo sobre casos de infeção e colonização por leveduras diagnosticados no INSA entre 2019 e 2025 p17
Fungal infections: A retrospective study on cases of yeast infection and colonization diagnosed at INSA between 2019 and 2025
Alexandru-Marian Papuc, Márcia Pimenta, Helena Simões, Cristina Veríssimo, Raquel Sabino, Maria João Gargaté

_ Vacinação e comportamentos preventivos

4_ Fatores psicossociais associados à confiança nas vacinas: um estudo exploratório em profissionais de saúde p25
Psychosocial factors of vaccine confidence: An exploratory study among Portuguese healthcare workers
Vânia Gaio, Ana Leonor Saraiva, Ana João Santos, Ana Palmira Amaral, Ausenda Machado

_ Saúde oral

5_ Autoapreciação do estado de saúde oral na população portuguesa: resultados do painel ECOS (Em Casa Observamos Saúde) p30
Self-assessment of oral health status in the Portuguese population: Results from the ECOS (Em Casa Observamos Saúde) panel
Helena Krippahl, Teresa Fernandes, Mariana Neto, Ausenda Machado, Cristina Ferreira, Ana Paula Rodrigues

_ Doenças genéticas

6_ Aplicação do peixe-zebra como modelo para a investigação das doenças mitocondriais p35
Use of zebrafish as a model for mitochondrial diseases research
Luís Ferreira, Mateus Laranjeira, Jorge M.A. Oliveira, Laura Vilarinho, Célia Nogueira

_ Alimentação e nutrição

7_ Perfil nutricional de produtos panados ultraprocesados congelados disponíveis no mercado português em 2025 p42
Nutritional profile of frozen ultra-processed breaded products available on the Portuguese market in 2025
Roberto Brazão, Paulo Fernandes, Maria da Graça Dias

8_ Características nutricionais e saudabilidade global de alimentos processados de base vegetal: análise do mercado português em 2025 p50
Nutritional characteristics and overall healthiness of plant-based processed foods: An analysis of the Portuguese market in 2025
Roberto Brazão, Paulo Fernandes, Maria da Graça Dias



Instituto **Nacional de Saúde**
Doutor Ricardo Jorge



2026

número

39

2ª série



Lisboa_INSA, IP

publicação quadrimestral_ janeiro - abril

ISSN: 2182-8873 (em linha)

Observações

Boletim Epidemiológico

9_ Potencial toxigénico de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* em estirpes isoladas em larvas de mosca soldado negro alimentadas com resíduos alimentares p 61

Toxigenic potential of Bacillus cereus and Escherichia coli in strains isolated from black soldier fly larvae fed with food waste

Joana Oliveira, Ana Margarida Pires, Daniel Murta, Ricardo Assunção

_ Qualidade laboratorial

10_ Avaliação das boas práticas para garantia da qualidade em laboratórios clínicos de países de língua oficial portuguesa p 68

Assessment of good practices for quality assurance in laboratories in Portuguese-speaking countries

Flávia Martinello, Alice Berlanda Seidler, Maria Elisabeth Menezes, Helena Correia, Silvania Leal, Armandina Miranda, Ana Faria

editorial_

A importância da consignação de receitas fiscais em saúde pública e o papel estruturante do Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico

The importance of earmarking tax revenues in public health and the structural role of the National Health Examination Survey

A publicação em *Diário da República* dos Despachos n.º 2193/2026 e n.º 2230/2026 reflete decisões de política pública com significado estruturante para o sistema de saúde em Portugal (1,2). Estes instrumentos determinam a consignação de 2% da receita do imposto sobre o tabaco à execução de políticas ativas de prevenção e controlo do tabagismo, da qual 7,5% para a realização pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) do Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF), bem como para projetos de investigação epidemiológica e comportamental.

Espera-se, assim, que a natureza desejavelmente periódica do INSEF seja agora possibilitada através deste financiamento público que se espera possa repetir-se em anos subsequentes. O País ganhará uma infraestrutura pública que sirva a produção de conhecimento epidemiológico e apoie o planeamento e avaliação das políticas públicas para o desenvolvimento, com base numa população menos desigual e mais saudável.

Os referidos despachos traduzem uma opção estratégica orientada para o reforço das funções essenciais da saúde pública que se insere na lógica internacional de afetação de receitas (*earmarking*), frequentemente utilizada para assegurar a sustentabilidade da implementação de políticas com elevado potencial de impacto na saúde da população (3).

No contexto dos modernos sistemas de saúde pública, a capacidade de produzir informação epidemiológica robusta, representativa da população e comparável ao longo do tempo,

é um fator crítico e determinante da qualidade das decisões e das intervenções. Os Institutos Nacionais de Saúde Pública desempenham um papel central neste domínio pois, enquanto entidades públicas, articulam, simultaneamente e de forma independente, funções essenciais de observação, monitorização, vigilância, investigação científica, capacitação e disseminação da cultura científica na área da saúde com foco na população (4).

É neste quadro que assume particular relevo o financiamento agora atribuído ao INSA para a repetição do INSEF. Este inquérito epidemiológico, promovido pelo INSA, foi realizado pela primeira vez em 2015 tendo beneficiado do cofinanciamento em 85% do mecanismo financeiro do espaço económico europeu (EEA Grants) sendo os restantes 15% assegurados pelo estado português (5). Apoiado, também, pela capacidade instalada no Departamento de Epidemiologia, INSEF2015 iniciou uma infraestrutura que se mantém relevante para as funções de observação em saúde e de investigação científica, atribuídas a este Instituto, como demonstrado pelo volume de publicações científicas que gerou ao longo dos anos.

O primeiro INSEF, cujo trabalho de campo decorreu durante 2015, estudou uma amostra de 4911 pessoas residentes em Portugal continental e as Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira, representativa da população portuguesa com idade entre os 25 e os 74 anos de idade, da qual recolheu dados autorreportados, medições antropométricas e biométricas e amostras biológicas, de acordo com métodos alinhados com os melhores padrões internacionais (5).

Os inquéritos de saúde com exame físico, tal como preconizados no âmbito do *European Health Examination Survey*, demonstraram que a combinação de dados obtidos por questionário, medições físicas padronizadas e análises laboratoriais permite obter informação mais completa e fiável sobre o estado de saúde das populações, incluindo condições frequentemente desconhecidas pelos próprios indivíduos (6,7).

editorial_

A componente de dados autorreportados permite caracterizar escolhas e comportamentos, condições de vida e utilização de cuidados de saúde, fundamentais para compreender os determinantes sociais da saúde (7). A realização simultânea, na mesma pessoa, de medições antropométricas e biométricas — como o peso e a altura, ou a pressão arterial — permite quantificar de forma mais rigorosa a prevalência de determinantes de saúde, fatores de risco e protetores, na nossa população (7). Paralelamente, as análises laboratoriais realizadas sobre as amostras biológicas colhidas possibilitam quantificar a distribuição de marcadores biológicos, fatores de risco e protetores e validar a informação obtida (7).

Ao utilizar uma amostra probabilística representativa da população residente, o INSEF procura a validade externa dos resultados e a sua generalização ao nível nacional e regional, condição relevante para o planeamento e a avaliação dos planos e programas de saúde (6). Esta base metodológica aproxima o INSEF de inquéritos internacionais como o *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), realizado nos Estados Unidos da América há várias décadas ou o *Health Survey for England*, referências internacionais e pilares da observação em saúde e vigilância epidemiológica nos respetivos países.

Espera-se que a natureza periódica do INSEF, tal como da maior parte dos inquéritos gerais de saúde de âmbito nacional, seja agora iniciada com este financiamento público que se deseja repetido em anos subsequentes, já que a preparação, implementação e obtenção de resultados tem um horizonte temporal mínimo de três anos (6,7).

A repetição ao longo dos anos deste processo de recolha de dados com instrumentos e métodos estáveis permitirá a construção de séries temporais de dados, a monitorização de tendências e a identificação precoce de alterações nos padrões de distribuição de determinantes, doença e incapacidade na população.

Esta capacidade é crucial para avaliar os efeitos epidemiológicos e o impacto populacional de políticas públicas ou alterações verificadas na sociedade, como crises de saúde ou de outra natureza, de que foi exemplo a pandemia da COVID-19, ou outras que, pela natureza dos fatores e problemas em questão, se devem medir em ciclos longos, nunca inferiores a quinquênios, e não apenas no curto prazo de um ou dois anos.

Dos poucos exemplos disponíveis em Portugal de fontes de informação de saúde com base populacional, apenas o Inquérito Nacional de Saúde por entrevista (conduzido primeiro pelo Ministério da Saúde nas suas primeiras três edições (1987, 1995/1996, 1998/1999) e depois numa parceria formal INSA/INE (2005/2006) e desde 2014 pelo Instituto Nacional de Estatística, com a colaboração científica do INSA), atualmente integrado no Inquérito Europeu de Saúde (EHIS) mantém, desde a década de 80 do século XX, uma série temporal com alguma comparabilidade (8).

Adicionalmente, o INSEF constitui um instrumento importante para a análise das desigualdades em saúde, como revelado pelos seus quatro relatórios publicados pelo INSA em 2017, em linha com a melhor evidência internacional que demonstrou já que a distribuição dos fatores de risco e dos resultados obtidos em saúde seguem gradientes sociais marcados, exigindo intervenções específicas orientadas para a equidade (9-11).

A recolha sistemática de amostras biológicas cria, também, condições para o desenvolvimento e consolidação do biobanco do INSA, e da sua desejável base populacional. Este é um importante ativo estratégico para a promoção da investigação biomédica e em saúde pública ao integrar dados epidemiológicos, biométricos e antropométricos com dados resultantes da análise laboratorial. Permitem-se, assim, abordagens de investigação mais complexas, incluindo o estudo das interações genéticas, ambientais e comportamentais numa ótica de combate às desigualdades e iniquidades (12).

editorial_

O início da preparação de um segundo INSEF remonta a 2017, imediatamente após a publicação dos resultados do INSEF2015, e prévia à realização conjunta com o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, entretanto contratado enquanto inquérito isolado, e com o Inquérito Serológico Nacional. Essa preparação foi interrompida em 2020 pela pandemia da COVID-19, numa fase crucial de acordo estabelecido entre diversos *stakeholders*, pelo que a situação atual abre uma janela de oportunidade que importa aproveitar como relevante para consolidar esta infraestrutura, reforçar a sua comparabilidade temporal, expandir a capacidade científica do INSA e contribuir para o reforço do reconhecimento nacional e internacional como Instituto de Saúde Pública de âmbito nacional.

Em síntese, a consignação de recursos agora estabelecida representa um investimento estratégico na produção de conhecimento epidemiológico de base populacional e no reforço da capacidade do sistema de saúde pública para apoiar decisões informadas. INSEF afirma-se, neste contexto, como uma infraestrutura capaz de contribuir ao longo dos anos para o desenvolvimento científico e técnico nacional e apoiar políticas eficazes, equitativas.

Carlos Matias Dias

Coordenador

Ana Paula Rodrigues

Responsável da Unidade de Observação em Saúde e Vigilância Epidemiológica

Departamento de Epidemiologia

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Referências bibliográficas:

- (1) Despacho n.º 2193/2026, de 20 de fevereiro. DR n.º 36/2026, Série II de 2026-02-20. Fixa em 2 % a percentagem da receita do imposto sobre o tabaco a consignar à execução de políticas ativas de prevenção e controlo do tabagismo e define as entidades e programas do setor da saúde aos quais os fundos podem ser alocados. <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/2193-2026-1054811950>
- (2) Despacho n.º 2230/2026, de 20 de fevereiro. DR n.º 36/2026, Série II de 2026-02-20. Define a distribuição da receita consignada do imposto sobre o tabaco pelas entidades e programas do setor da saúde no ano de 2026. <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/2230-2026-1054966394>
- (3) World Health Organization. Earmarked tobacco taxes: lessons learnt from nine countries. Geneva: WHO, 2016. <https://iris.who.int/handle/10665/206007>
- (4) Koplan JP, Dusenbury C, Jousilahti P, et al. The role of national public health institutes in health infrastructure development. *BMJ*. 2007 Oct 27;335(7625):834-5. <https://doi.org/10.1136/bmj.39356.406377.be>
- (5) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. 1º Inquérito Nacional de Saúde com Exame Físico (INSEF 2015): relatório metodológico. Lisboa: INSA IP, 2016. <http://hdl.handle.net/10400.18/3832>
- (6) Matias Dias C. O valor da epidemiologia para os Institutos Públicos de Saúde. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2024;13(Supl. 16). https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2025/01/BEO-NE-16-2024_Editorial.pdf
- (7) Nunes B, Barreto M, Gil AP, et al. The first Portuguese National Health Examination Survey (2015): design, planning and implementation. *J Public Health (Oxf)*. 2019 Sep 30;41(3):511-517. <https://doi.org/10.1093/pubmed/fdy150>
- (8) Dias CM. 25 anos de Inquérito Nacional de Saúde. *Rev Port Saúde Pública*. 1999. Suppl. (1999):51-60. <http://hdl.handle.net/10362/4409>
- (9) Tolonen H, Koponen P, Al-Kerwi A, et al. ; EHES Network. European health examination surveys - a tool for collecting objective information about the health of the population. *Arch Public Health*. 2018 Jun 28;76:38. <https://doi.org/10.1186/s13690-018-0282-4>
- (10) Marmot M, Allen J, Goldblatt P, et al. *Fair Society, Healthy Lives*. London: The Marmot Review, 2010. <https://www.instituteofhealthequity.org/resources-reports/fair-society-healthy-lives-the-marmot-review/fair-society-healthy-lives-full-report-pdf.pdf>
- (11) Alwan NA. The Stigma of self-report in health research: Time to reconsider what counts as "Objective". *PLOS Glob Public Health*. 2026 Jan 28;6(1):e0005521. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0005521>
- (12) Sudlow C, Gallacher J, Allen N, et al. UK biobank: an open access resource for identifying the causes of a wide range of complex diseases of middle and old age. *PLoS Med*. 2015 Mar 31;12(3):e1001779. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001779>

Da tipagem clássica à genómica: reforço da vigilância de *Legionella pneumophila* com uma nova metodologia

From classical typing to genomics: Strengthening the surveillance of Legionella pneumophila with a new methodology

Vítor Borges¹, Verónica Mixão¹, João Rodrigues², Raquel Rodrigues³, Jorge Machado⁴, João Paulo Gomes¹

vitor.borges@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Genómica e Bioinformática. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Laboratório Nacional de Referência para Legionella. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(3) Laboratório de Microbiologia de Águas. Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(4) Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

_Resumo

Neste artigo de revisão é abordada a evolução da tipagem molecular de *Legionella pneumophila*, bactéria responsável pela Doença dos Legionários. São discutidas as limitações dos métodos convencionais, frequentemente insuficientes para estabelecer de forma robusta ligações entre casos humanos e fontes ambientais de contaminação, o que tem dificultado a deteção e subsequente investigação de surtos. Revisita-se a aplicação da sequenciação do genoma total (WGS) de *L. pneumophila* em Portugal e as suas vantagens, destacando-se o recente desenvolvimento de uma nova metodologia de análise de dados de WGS (através da bioinformática), que visa reforçar a deteção de surtos, a identificação de fontes de infeção e a avaliação de risco, apoiando o controlo atempado e efetivo de ameaças para a saúde pública a nível local e transfronteiriço.

_Abstract

This article reviews the evolution of molecular typing of *Legionella pneumophila*, the bacterium responsible for Legionnaires' disease. The limitations of conventional methods are discussed, as they are often insufficient to robustly link human cases to environmental sources of contamination, which may hinder outbreak detection and subsequent investigation. The application of whole-genome sequencing (WGS) of *L. pneumophila* in Portugal is revisited, highlighting its advantages, as well as the recent development of a novel typing approach for bioinformatics analysis of WGS data. This approach aims to strengthen outbreak detection, source attribution, and risk assessment, ultimately supporting more timely and effective control of public health threats at local and cross-border levels.

_Doença dos Legionários: introdução à vigilância laboratorial

A Doença dos Legionários é uma forma grave de pneumonia causada por bactérias Gram-negativas do género *Legionella*, particularmente *Legionella pneumophila*, as quais estão amplamente presentes no ambiente, sobretudo em ambientes aquáticos naturais e solos húmidos (1-5). A infeção humana

ocorre principalmente por via respiratória, através da inalação de aerossóis contendo gotículas de água contaminada, podendo, mais raramente, resultar da aspiração pulmonar de água contendo a bactéria (1-5). O quadro clínico da doença caracteriza-se por febre, tosse e mialgias, podendo também incluir cefaleias, dispneia, expetoração, anorexia, náuseas e diarreia (1-5). A letalidade varia aproximadamente entre 5% e 15%, podendo ultrapassar 40% em casos mais graves ou em indivíduos com fatores de risco associados (4,6,7). Entre estes destacam-se a idade avançada, o tabagismo, a imunossupressão e a presença de doenças crónicas, como diabetes ou patologias pulmonares. A crescente incidência desta doença tem sido detetada por vários sistemas de vigilância internacionais e notificada pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e pelo European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), o que reforça a importância da vigilância epidemiológica e laboratorial contínua (7,8).

Entre as fontes ambientais associadas à ocorrência de doença humana destacam-se, sobretudo, sistemas aquáticos artificiais, como instalações de aquecimento de água (por exemplo, cilindros e caldeiras, bem como torneiras e chuveiros), sistemas de ar condicionado com recirculação de água, torres de arrefecimento, dispositivos de evaporação e humidificadores (1,9). Para além da sua ampla distribuição ambiental, a *L. pneumophila* possui uma elevada capacidade de adaptação e sobrevivência numa grande amplitude de condições de temperatura e humidade. A sua capacidade de formar biofilmes estruturados em superfícies aquáticas artificiais constitui um fator determinante para a sua persistência prolongada nestes sistemas, dificultando a sua eliminação e aumentando o risco de exposição

humana (9-11). Como consequência, embora os casos de Doença dos Legionários ocorram maioritariamente de forma esporádica, podem também ocorrer surtos devido à exposição de indivíduos a uma mesma fonte ambiental (3,5,12-14). Historicamente, muitos dos grandes surtos desta doença têm sido associados a sistemas complexos de água, tais como torres de arrefecimento industriais (12-14).

Em Portugal, a Doença dos Legionários foi identificada pela primeira vez em 1979 e passou a integrar a lista de doenças de declaração obrigatória em 1999 (15). Em 2004, foi implementado o Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários, que articula investigação epidemiológica, ambiental e laboratorial (16,17). Neste contexto, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) coordena a componente laboratorial da vigilância, sendo responsável pela caracterização e comparação genética de estirpes humanas, no âmbito do Laboratório Nacional de Referência (LNR) do Departamento de Doenças Infeciosas, e de estirpes ambientais analisadas pelo Laboratório de Microbiologia de Águas do Departamento de Saúde Ambiental. Adicionalmente, o INSA integra atualmente o consórcio do Laboratório de Referência da União Europeia para *Legionella* (EURL-PH-LEGI) (18), contribuindo para o desenvolvimento e harmonização de metodologias laboratoriais e de vigilância a nível europeu. Esta integração permite apoiar a investigação epidemiológica e identificar potenciais fontes ambientais associadas a casos esporádicos ou surtos, contribuindo, assim, para a implementação atempada de medidas de controlo e prevenção. Ao longo das últimas duas décadas, vários surtos de Doença dos Legionários foram identificados em Portugal (14,19), com particular destaque para o ocorrido em 2014 na região de Vila Franca de Xira, um dos maiores surtos registados mundialmente (14,20). Este surto originou mais de 400 casos de doença e 14 mortes, tendo sido uma torre de arrefecimento industrial apontada como provável fonte de contaminação (14,20,21). Acresce que este surto constituiu também um marco científico, tendo sido a primeira vez em Portugal que a sequenciação do genoma total (*Whole-Genome Sequencing*, WGS) de *L. pneumophila* foi aplicada na investi-

gação e resolução de um surto. Esta abordagem laboratorial permitiu confirmar a ligação genética entre isolados humanos e ambientais, bem como identificar características genéticas potencialmente associadas à persistência e evolução da estirpe no meio ambiente (20). No contexto deste surto foi ainda descrito um caso possível de transmissão pessoa-a-pessoa da doença, identificado através da análise comparativa do genoma completo de isolados bacterianos provenientes de dois doentes com contacto próximo e em que um deles não foi exposto à fonte de contaminação ambiental na região de Vila Franca de Xira (22). Estudos posteriores demonstraram que a estirpe responsável pelo surto de 2014, identificada como *L. pneumophila* ST1905, se manteve no ambiente ao longo dos anos seguintes, tendo vindo a ser associada a novos casos de doença em diferentes localizações geográficas, evidenciando a sua capacidade de dispersão e persistência para além do epicentro inicial do surto (23).

Métodos convencionais de tipagem molecular

A investigação de surtos de Doença dos Legionários depende da integração de dados epidemiológicos, ambientais e laboratoriais, sendo a caracterização (tipagem) e comparação microbiológica das estirpes um elemento essencial para estabelecer ligações entre casos humanos e potenciais fontes de infeção (24). Durante mais de duas décadas, o método de tipagem mais utilizado para *L. pneumophila* foi o *Sequence-Based Typing* (SBT) (25,26), uma variante da metodologia de *Multilocus Sequence Typing* (MLST) que analisa sete genes para definir o designado *Sequence Type* (ST) de um dado isolado bacteriano (27). Desenvolvido no início dos anos 2000 pelo *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Study Group for Legionella Infections* (ESGLI), o SBT tornou-se o método de referência para a caracterização genética de isolados desta bactéria, permitindo identificar isolados com o mesmo ST e estabelecer semelhanças genéticas entre eles de suporte à investigação epidemiológica de surtos (28). Para amostras clínicas, uma das principais vantagens da técnica SBT é a possibilidade de gerar informação genética relevante mesmo na ausência de isolamento bacteriano por cultura, um processo frequentemente desafiante

para *L. pneumophila*, moroso e com taxas de sucesso limitadas (29). Esta característica do SBT continua a ser particularmente útil e vantajosa em contexto de investigação de surto, quando a obtenção de respostas rápidas é essencial para apoiar a implementação de medidas de saúde pública. Contudo, a experiência acumulada ao longo dos anos demonstrou que este método apresenta limitações importantes, uma vez que uma proporção significativa de casos está associada a um número relativamente reduzido de STs predominantes, o que limita a sua capacidade para distinguir estirpes sem ligação epidemiológica, mas pertencentes ao mesmo ST (30,31). Acresce que, o SBT é uma metodologia tecnicamente trabalhosa e apresenta baixo poder discriminatório para diferenciar isolados geneticamente muito próximos, o que limita a sua utilidade em análises epidemiológicas de maior resolução, como estudos mais detalhados de persistência ambiental ou na investigação de persistência de casos associados à mesma fonte de infeção (23,30,31).

_Sequenciação do genoma total (WGS)

O desenvolvimento e aumento do acesso à tecnologia de WGS abriu novas possibilidades para a vigilância laboratorial e epidemiológica de *L. pneumophila*, oferecendo um poder discriminatório significativamente superior ao das metodologias convencionais. Ao dar informação ao nível do genoma completo, e não apenas baseada em sete genes como é o caso do SBT, esta abordagem permite estabelecer ligações mais precisas entre isolados humanos e ambientais, melhorando a capacidade de identificação de fontes de infeção e apoiando a implementação de medidas de controlo durante surtos (20,23,32,33). No entanto, a implementação e aplicação da WGS na rotina laboratorial continua a apresentar desafios operacionais significativos, especialmente no que diz respeito à análise bioinformática do enorme volume de informação produzido pelas tecnologias de sequenciação de nova geração (*Next-Generation Sequencing*, NGS). Por exemplo, a análise comparativa de isolados baseadas em *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) (*i.e.*, “mutações”) é uma abordagem que oferece uma elevada resolução. Contudo, além de reque-

rer fluxos de análise bioinformática complexos e dependentes da escolha de genomas de referência, esta abordagem é menos adequada para a comparação sistemática de grandes coleções com uma grande diversidade de isolados, como é o caso das coleções nacionais de *L. pneumophila*. Assim, a aplicação de uma abordagem de SNPs em *L. pneumophila* (e outras bactérias) tem estado reservada à investigação num contexto de surto ou identificação de fontes ambientais onde o número de isolados é reduzido e a sua diversidade é menor, não sendo aplicada à vigilância contínua, que requer uma visão mais ampla de todas as estirpes em circulação independentemente da sua proximidade genética. Neste contexto, a análise por *core-genome* MLST (cgMLST), que é uma metodologia conceptualmente semelhante ao SBT, mas baseada num maior número de genes, pois assenta na utilização de dados de WGS, apareceu como alternativa. Esquemas de cgMLST previamente desenvolvidos para *L. pneumophila*, como o esquema de 1521 genes (32) ou a alternativa baseada em 50 genes (33), contribuíram para melhorar a resolução em alguns contextos epidemiológicos. Ainda assim, estes esquemas apresentam limitações relacionadas com a representatividade genómica, a dependência de plataformas específicas ou a insuficiente capacidade discriminatória (32-34). Estas limitações evidenciam a necessidade de desenvolver abordagens genómicas mais robustas, escaláveis e harmonizadas que possam ser aplicadas de forma consistente na vigilância laboratorial continuada.

_Nova metodologia na vigilância genómica

Neste contexto, foi recentemente estabelecido o grupo de trabalho internacional *Legionella International Typing* (LIT), com o objetivo de desenvolver e disponibilizar um novo esquema de tipagem genómica para *L. pneumophila* baseado numa abordagem combinada de *core-* e *whole-genome* MLST (cg/wgMLST). Este trabalho, recentemente disponibilizado à comunidade científica (35), foi co-liderado pelo INSA em colaboração com o LNR de França (*Hospices Civils de Lyon*) e o CDC dos Estados Unidos da América, e resultou no desenvolvimento de um esquema cg/wgMLST baseado

na diversidade genética de mais de 9600 genomas de *L. pneumophila*, capaz de analisar rapidamente o perfil genético de 4707 genes desta bactéria. Esta abordagem permite capturar uma maior diversidade genómica da espécie e melhorar significativamente a resolução na comparação entre isolados bacterianos. Uma característica central deste sistema é a sua arquitetura em dois níveis: um esquema cgMLST estático (2009 genes partilhados por quase toda a população de *L. pneumophila*), adequado para comparação padronizada em cenários de vigilância laboratorial, e um componente wgMLST dinâmico que permite análises de elevada resolução em *clusters* (grupos de isolados identificados por cgMLST como geneticamente próximos) específicos de potencial interesse epidemiológico (35). Nesta análise dinâmica, o número de genes usado para comparação dos isolados é ampliado, pois, além dos 2009 genes, são também considerados os restantes genes do esquema que, apesar de não estarem presentes na grande maioria da população da espécie, estão presentes em todos os isolados do *cluster* (35). Esta estratégia de “ampliação” genómica (“zoom-in”) é automatizada com o recurso à ferramenta ReporTree (36), na qual a análise inicial identifica potenciais *clusters* de estirpes relacionadas, que são posteriormente investigados pela inclusão automática de genes específicos, aumentando o poder discriminatório. A aplicação do esquema LIT demonstrou ganhos substanciais na capacidade de discriminar isolados epidemiologicamente relacionados, prevendo-se que venha permitir o reforço da capacidade laboratorial para deteção de surtos, identificação de fontes ambientais e rastreio de cadeias de transmissão (35).

Para além do aumento de resolução, o novo esquema cg/wg-MLST foi concebido para facilitar a sua implementação em redes de vigilância internacionais. A compatibilidade com ferramentas bioinformáticas amplamente utilizadas, como o *software* chewBBACA (37) e ReporTree (36), e a disponibilização pública do esquema acompanhado de *guidelines* de implementação e utilização (38) contribuem para promover a harmonização das metodologias de análise entre laboratórios a nível local e global. Esta padronização é particularmente relevante num contexto em que a vigilância baseada em WGS se

torna progressivamente central para a resposta a surtos de Doença dos Legionários. A adoção de abordagens genómicas harmonizadas permitirá reduzir disparidades na análise e interpretação de dados entre diferentes instituições e países, facilitando a comparação internacional de isolados e o rastreio de *clusters* transfronteiriços. Por fim, apesar destes importantes avanços na área da análise de dados genómicos (bioinformática), a implementação de WGS na vigilância de *L. pneumophila* continua a enfrentar desafios, nomeadamente a dependência do isolamento bacteriano em cultura. Neste contexto, o investimento futuro na adoção de abordagens que permitam a realização de WGS diretamente a partir de amostras biológicas, já implementadas com sucesso no INSA para outras bactérias patogénicas (39-42), constitui um passo natural para continuar a reforçar e expandir a vigilância integrada da Doença dos Legionários, promovendo uma identificação mais rápida e fiável das fontes de infeção e contribuindo para respostas de saúde pública mais efetivas.

Referências bibliográficas:

- (1) Phin N, Parry-Ford F, Harrison T, et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *Lancet Infect Dis*. 2014 Oct;14(10):1011-21. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70713-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70713-3)
- (2) Mondino S, Schmidt S, Rolando M, et al. Legionnaires' Disease: State of the Art Knowledge of Pathogenesis Mechanisms of Legionella. *Annu Rev Pathol*. 2020 Jan 24;15:439-66. Epub 2019 Oct 28. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032742>
- (3) Yao XH, Shen F, Hao J, et al. A review of Legionella transmission risk in built environments: sources, regulations, sampling, and detection. *Front Public Health*. 2024 Jul 26;12:1415157. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1415157>
- (4) Pareek A, Singhal R, Pareek A, et al. Global surge of Legionnaires' disease in 2024: urgent call for heightened awareness and preparedness. *Lancet Microbe*. 2025 Apr;6(4):101031. Epub 2024 Nov 26. <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.101031>
- (5) Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Jul;15(3):506-26. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.3.506-526.2002>
- (6) European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires' disease [Internet]. [consult. 2026-03-19]. <https://www.ecdc.europa.eu/en/legionnaires-disease>
- (7) European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires' disease. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2023. Stockholm: ECDC, 2026. 2026. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/LE-GI_AER_2023_Report.pdf
- (8) Barskey AE, Derado G, Edens C. Rising Incidence of Legionnaires' Disease and Associated Epidemiologic Patterns, United States, 1992-2018. *Emerg Infect Dis*. 2022 Mar;28(3):527-38. <https://doi.org/10.3201/eid2803.211435>
- (9) Jules M, Buchrieser C. Legionella pneumophila adaptation to intracellular life and the host response: clues from genomics and transcriptomics. *FEBS Lett*. 2007 Jun 19;581(15):2829-38. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.05.026>

artigos breves_ n. 1

- (10) Hilbi H, Hoffmann C, Harrison CF. Legionella spp. outdoors: colonization, communication and persistence. *Environ Microbiol Rep.* 2011 Jun;3(3):286-96. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2011.00247.x>
- (11) Abu Khweek A, Amer AO. Factors Mediating Environmental Biofilm Formation by Legionella pneumophila. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018 Feb 27;8:38. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00038>
- (12) Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med.* 1977 Dec 1;297(22):1189-97. <https://doi.org/10.1056/NEJM197712012972201>
- (13) García-Fulgueiras A, Navarro C, Fenoll D, et al. Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2003 Aug;9(8):915-21. <https://doi.org/10.3201/eid0908.030337>
- (14) Shivaji T, Sousa Pinto C, San-Bento A, et al. A large community outbreak of Legionnaires disease in Vila Franca de Xira, Portugal, October to November 2014. *Euro Surveill.* 2014 Dec 18;19(50):20991. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.50.20991>
- (15) Portaria n.º 1071/98, de 31 de dezembro. DR n.º 301/1998, Série I-B, 1998-12-31, pp. 7381-82. Aprova a tabela das doenças de declaração obrigatória.
- (16) Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa n.º 05/DEP, de 22 de abril de 2004. Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários: Notificação Clínica e Laboratorial de Casos. <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/circular-normativa-n-5dep-de-22042004-pdf.aspx>
- (17) Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa n.º 06/DT, de 22 de abril de 2004. Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários: Investigação Epidemiológica. <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/circular-normativa-n-6dt-de-22042004-pdf.aspx>
- (18) European Commission. EU Reference Laboratories for public health. [Internet] [consult. 2026/03/19] https://health.ec.europa.eu/health-security-and-infectious-diseases/surveillance-and-early-warning/eu-reference-laboratories-public-health_en
- (19) Freitas IL, Branco AR, Silva F, et al. Clinical Insights From Legionnaires' Disease: A Retrospective Analysis of Severe Cases on Account of a Cluster. *Cureus.* 2025 Aug 29;17(8):e91237. <https://doi.org/10.7759/cureus.91237>
- (20) Borges V, Nunes A, Sampaio DA, et al. Legionella pneumophila strain associated with the first evidence of person-to-person transmission of Legionnaires' disease: a unique mosaic genetic backbone. *Sci Rep.* 2016 May 19;6:26261. <https://doi.org/10.1038/srep26261>
- (21) Russo A, Gouveia CM, Soares PMM, et al. The unprecedented 2014 Legionnaires' disease outbreak in Portugal: atmospheric driving mechanisms. *Int J Biometeorol.* 2018 Jul;62(7):1167-79. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1520-8>
- (22) Correia AM, Ferreira JS, Borges V, et al. Probable Person-to-Person Transmission of Legionnaires' Disease. *N Engl J Med.* 2016 Feb 4;374(5):497-98. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1505356>
- (23) Manageiro V, Borges V, Rodrigues R, et al. Recurrence, Microevolution, and Spatiotemporal Dynamics of Legionella pneumophila Sequence Type 1905, Portugal, 2014-2022. *Emerg Infect Dis.* 2024 May;30(5):1022-25. <https://doi.org/10.3201/eid3005.231383>
- (24) Lück C, Fry NK, Helbig JH, et al. Typing methods for legionella. *Methods Mol Biol.* 2013;954:119-48. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-161-5_6
- (25) Gaia V, Fry NK, Afshar B, et al. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila. *J Clin Microbiol.* 2005 May;43(5):2047-52. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.5.2047-2052.2005>
- (26) Ratzow S, Gaia V, Helbig JH, et al. Addition of neuA, the gene encoding N-acetylneuraminate cytidylyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing Legionella pneumophila serogroup 1 strains. *J Clin Microbiol.* 2007 Jun;45(6):1965-68. <https://doi.org/10.1128/JCM.00261-07>
- (27) Maiden MC. Multilocus sequence typing of bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2006;60:561-88. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.59.030804.121325>
- (28) Mercante JW, Winchell JM. Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. *Clin Microbiol Rev.* 2015 Jan;28(1):95-133. <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-14>
- (29) Quero S, Párraga-Niño N, Sabria M, et al. Legionella SBT applied directly to respiratory samples as a rapid molecular epidemiological tool. *Sci Rep.* 2019 Jan 24;9(1):623. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36924-w>
- (30) Ricci ML, Fillo S, Ciannaruconi A, et al. Genome analysis of Legionella pneumophila ST23 from various countries reveals highly similar strains. *Life Sci Alliance.* 2022 Mar 2;5(6):e202101117. <https://doi.org/10.1038/lsa.202101117>
- (31) Timms VJ, Rockett R, Bachmann NL, et al. Genome Sequencing Links Persistent Outbreak of Legionellosis in Sydney (New South Wales, Australia) to an Emerging Clone of Legionella pneumophila Sequence Type 211. *Appl Environ Microbiol.* 2018 Feb 14;84(5):e02020-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02020-17>
- (32) Moran-Gilad J, Prior K, Yakunin E, et al. Design and application of a core genome multilocus sequence typing scheme for investigation of Legionnaires' disease incidents. *Euro Surveill.* 2015 Jul 16;20(28):21186. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2015.20.28.21186>
- (33) David S, Mentasti M, Tewolde R, et al. Evaluation of an Optimal Epidemiological Typing Scheme for Legionella pneumophila with Whole-Genome Sequence Data Using Validation Guidelines. *J Clin Microbiol.* 2016 Aug;54(8):2135-48. <https://doi.org/10.1128/jcm.00432-16>
- (34) Echahidi F, Park S, Meghraoui A, et al. Comparison of whole genome sequencing typing tools for the typing of Belgian Legionella pneumophila outbreaks isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2025 Mar;44(3):597-607. Epub 2024 Dec 21. <https://doi.org/10.1007/s10096-024-05013-4>
- (35) Mixão V, Ginevra C, Jacqueline C, et al. Advancing Legionella pneumophila genomic surveillance with a high-resolution cg/wgMLST schema for outbreak detection and investigation. *medRxiv* 2026.02.18.26346554 (preprint). <https://doi.org/10.64898/2026.02.18.26346554>
- (36) Mixão V, Pinto M, Sobral D, et al. RepoTree: a surveillance-oriented tool to strengthen the linkage between pathogen genetic clusters and epidemiological data. *Genome Med.* 2023 Jun 15;15(1):43. <https://doi.org/10.1186/s13073-023-01196-1>
- (37) Silva M, Machado MP, Silva DN, et al. chewBBACA: A complete suite for gene-by-gene schema creation and strain identification. *Microb Genom.* 2018 Mar;4(3):e000166. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000166>
- (38) Mixão V, Ginevra C, Jacqueline C, et al. Legionella pneumophila LIT cg/wgMLST schema and necessary resources for its local implementation (Version v1, Feb 18, 2026). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.17871974>
- (39) Pinto M, Borges V, Antelo M, et al. Genome-scale analysis of the non-cultivable Treponema pallidum reveals extensive within-patient genetic variation. *Nat Microbiol.* 2016 Oct 17;2:16190. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.190>
- (40) Macedo R, Isidro J, Ferreira R, et al. Molecular Capture of Mycobacterium tuberculosis Genomes Directly from Clinical Samples: A Potential Backup Approach for Epidemiological and Drug Susceptibility Inferences. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 2;24(3):2912. <https://doi.org/10.3390/ijms24032912>
- (41) Isidro J, Escudero R, Luque-Larena JJ, et al. Strengthening the genomic surveillance of Francisella tularensis by using culture-free whole-genome sequencing from biological samples. *Front Microbiol.* 2024 Jan 5;14:1277468. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1277468>
- (42) Borges V, Cordeiro D, Salas AI, et al. Chlamydia trachomatis: when the virulence-associated genome backbone imports a prevalence-associated major antigen signature. *Microb Genom.* 2019 Nov;5(11):e000313. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000313>

Vírus Nipah: estará Portugal preparado para o diagnóstico de um caso importado?

Nipah virus: Is Portugal prepared to diagnose an imported case?

Rita Cordeiro^{1,2}, Ana Pelerito^{1,2}, Isabel Lopes de Carvalho^{1,2}, Maria Sofia Núncio^{1,2}

rita.cordeiro@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge Lisboa, Portugal

(2) Grupo de Investigação em Ambiente e Doenças Infecciosas. Instituto de Saúde Ambiental. Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

_Resumo

O vírus Nipah é um agente zoonótico emergente, associado a doença respiratória grave e encefalite, e caracterizado por uma elevada taxa de letalidade. Desde a sua identificação em 1998, têm sido notificados surtos em particular no sul e sudeste asiático, nomeadamente em Bangladesh e na Índia. A transmissão para os seres humanos pode ocorrer através do contacto direto com animais infetados, da ingestão de alimentos contaminados ou por transmissão pessoa-a-pessoa, sobretudo em contexto de prestação de cuidados de saúde. O vírus apresenta diversidade genética, com dois principais clades (NiV-M e NiV-B), associados a diferenças no quadro clínico e padrões epidemiológicos.

Apesar de o risco de importação para a Europa ser atualmente considerado baixo, a facilidade de circulação de pessoas pelo Mundo aumenta a probabilidade do aparecimento de casos em regiões não endémicas. Em Portugal, existe capacidade laboratorial para o diagnóstico serológico e molecular, bem como para a sequenciação genómica, integrada numa resposta coordenada com as autoridades de saúde pública e unidades hospitalares de referência. A preparação para um eventual caso importado assenta na vigilância epidemiológica, na suspeita clínica, no diagnóstico laboratorial rápido e na implementação rigorosa e atempada de medidas de prevenção e controlo de infeção.

_Abstract

Nipah virus is an emerging zoonotic pathogen associated with severe respiratory disease and encephalitis, and is characterized by a high case fatality rate. Since its identification in 1998, outbreaks have been reported mainly in South and Southeast Asia, particularly in Bangladesh and India. Human infection may occur through direct contact with infected animals, consumption of contaminated food, or person-to-person transmission, especially in healthcare settings. The virus shows genetic diversity, with two main clades (NiV-M and NiV-B) associated with distinct epidemiological and clinical patterns.

Although the risk of importation into Europe is currently considered low, increasing global mobility raises the likelihood of introduction into non-endemic regions. In Portugal, laboratory capacity in place for molecular and serological diagnosis, as well as whole-genome sequencing, is integrated within a coordinated response involving public health authorities and reference hospitals.

Preparedness for a potential imported case relies on robust epidemiological surveillance, heightened clinical awareness, timely laboratory diagnosis and the implementation of effective infection prevention and control measures.

_Introdução

O vírus Nipah (NiV) é um vírus zoonótico emergente do género *Henipavirus*, da família *Paramyxoviridae* (1). Foi identificado pela primeira vez num surto, ocorrido entre 1998 e 1999 na Malásia e em Singapura, associado a criadores de suínos (2,3). Desde então, têm ocorrido surtos em vários países da Ásia, particularmente em Bangladesh e na Índia, com reemergências documentadas praticamente todos os anos desde 2001 (4-7).

A infeção humana por NiV apresenta um amplo espectro clínico, variando desde infeções assintomáticas até doença grave, incluindo encefalite e infeção respiratória aguda potencialmente fatal. Frequentemente inespecífica na fase inicial, a apresentação clínica dificulta o diagnóstico precoce de casos e, conseqüentemente, a implementação atempada de medidas de controlo, o que constitui um desafio para os sistemas de saúde em todo o Mundo (8-10).

Devido ao potencial para provocar surtos, à transmissão pessoa-a-pessoa e à ausência de vacinas ou terapêutica específica aprovadas, o NiV foi identificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um agente patogénico prioritário para investigação e desenvolvimento, manifestando, assim, a necessidade urgente de desenvolver medidas profiláticas, de tratamento, prevenção e controlo efetivas (11).

O tratamento de suporte assenta, essencialmente, em cuidados intensivos especializados. A prestação precoce destes cuidados, particularmente em casos com complicações respiratórias e neurológicas, pode contribuir para a melhoria da sobrevivência (8-10). Neste contexto, o reconhecimento precoce da doença e a referenciação rápida para centros com cuidados intensivos especializados são determinantes para melhorar o prognóstico dos doentes.

_Situação epidemiológica

Desde a sua identificação, a maioria dos surtos de infeção por NiV tem ocorrido no sul e sudeste asiático, em consonância com a distribuição geográfica dos morcegos frugívoros, os quais constituem o principal reservatório natural, bem como dos padrões de exposição ocupacional e alimentar característicos desta região (2-7). Em Bangladesh e na Índia têm sido registados surtos regulares desde o início dos anos 2000, geralmente de pequena dimensão, frequentemente associados ao consumo de alimentos contaminados por secreções (saliva) e excreções (urina e fezes) de morcegos frugívoros ou à transmissão pessoa-a-pessoa entre doentes e profissionais de saúde, em contexto de prestação de cuidados de saúde (3,4).

O NiV apresenta diversidade genética, estando descritos dois clades principais: o clade associado ao Bangladesh (NiV-B) e o clade associado à Malásia (NiV-M) (12,13). Estes diferem em relação ao modo de transmissão e quadro clínico, sendo o clade NiV-B mais frequentemente associado à transmissão pessoa-a-pessoa e a manifestações respiratórias, enquanto o clade NiV-M apresenta maior associação a envolvimento do foro neurológico (14,15). Esta diferenciação tem implicações relevantes, quer para a interpretação de eventuais casos importados, quer para a avaliação do risco de transmissão.

Em 2026 foram notificados novos casos em Bangladesh e na Índia. Em Bangladesh confirmou-se um caso associado ao consumo de alimentos contaminados, tendo sido implementadas de imediato medidas de saúde pública, nomeadamente monitorização de contactos (16). Na Índia, confirmaram-se dois casos em profissionais de saúde no Estado de Bengala Ocidental, sem deteção de casos secundários após rastreio de contactos (17). Estes surtos reforçam a persistência do vírus nos seus reservatórios naturais, o risco contínuo de transmissão zoonótica e a possibilidade de transmissão em prestação de cuidados de saúde, sublinhando a necessidade da vigilância epidemiológica ativa e da implementação precoce de medidas de controlo.

Embora a distribuição geográfica do vírus se mantenha atualmente limitada, a crescente facilidade de circulação internacional aumenta o risco de introdução de casos em regiões não endémicas, incluindo na Europa, reforçando a necessidade de avaliação contínua da preparação instituída pelos diferentes serviços de saúde destas regiões.

_Transmissão e manifestações clínicas

Os morcegos frugívoros do género *Pteropus* constituem o principal reservatório natural do NiV. Nestes animais a infeção é geralmente assintomática, permitindo a manutenção do vírus na natureza (2,15,18).

A transmissão para os seres humanos pode ocorrer através de diferentes vias: 1) contacto direto com animais infetados, nomeadamente morcegos frugívoros (reservatórios naturais), suínos ou equídeos; 2) consumo de fruta ou produtos derivados contaminados, incluindo seiva crua de palmeira de tâmara contaminada por secreções (saliva) ou excreções (urina, fezes) de morcegos infetados; 3) transmissão pessoa-a-pessoa, documentada em contexto de prestação de cuidados de saúde e entre familiares e profissionais de saúde, geralmente associada ao contacto próximo com secreções respiratórias ou outros fluidos biológicos (figura 1). O vírus pode igualmente causar doença grave em animais de produção, particularmente suínos, que podem atuar como hospedeiros intermediários (8-10,19-22).

A infeção pode ser assintomática, mas a maioria dos doentes desenvolve febre associada a manifestações neurológicas (cefaleia intensa, confusão ou alteração do estado de consciência) e/ou respiratórias (dispneia ou tosse) e até pode igualmente ocorrer envolvimento multissistémico. Os sintomas adicionais mais frequentes incluem arrepios, fadiga, sonolência, tonturas, vómitos e diarreia (20-24).

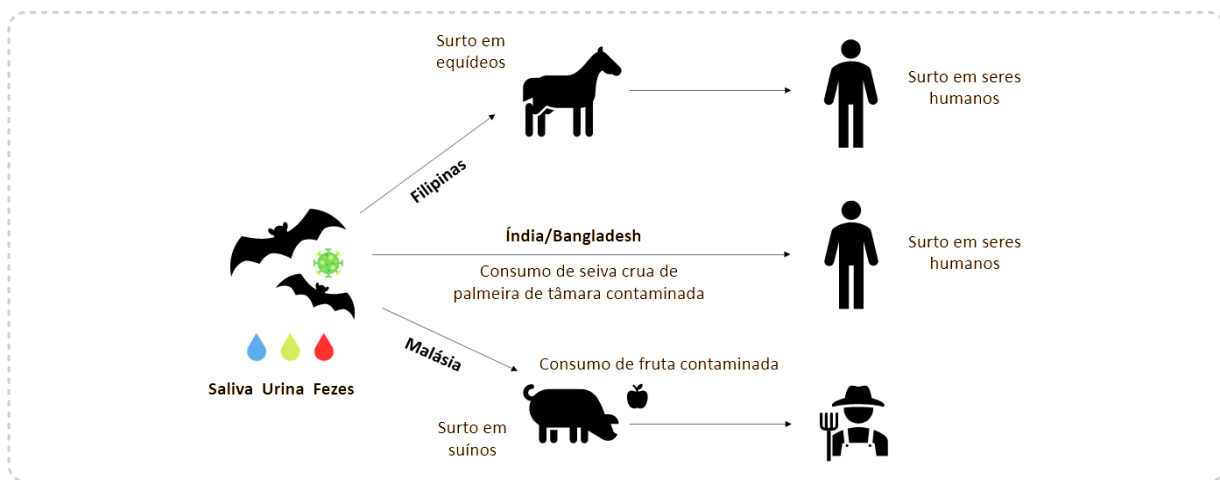
O período de incubação da infeção por NiV varia habitualmente entre 4 e 14 dias, podendo atingir períodos até 45 dias (8,10). A manifestação grave da doença ocorre frequentemente nos doentes com envolvimento neurológico, podendo evoluir para encefalite, coma e morte. A monitorização

clínica rigorosa e a prestação precoce de cuidados de suporte diferenciados são determinantes para a evolução positiva do prognóstico (20-24).

A maioria dos sobreviventes recupera completamente, mas 20% dos doentes apresenta sequelas neurológicas persistentes,

incluindo défice cognitivo, alterações comportamentais ou convulsões (22-24). A taxa de letalidade, geralmente mais elevada no clade NiV-B, varia entre 40% e 75%, em função do contexto epidemiológico, da capacidade dos sistemas de vigilância, da intervenção clínica nas regiões afetadas (25).

Figura 1: Vias de transmissão do vírus Nipah (NiV).



A infeção humana pode ocorrer através da exposição direta a secreções (saliva) e excreções (urina, fezes) de morcegos frugívoros (reservatórios naturais), frequentemente associada ao consumo de alimentos contaminados. A transmissão pode também ocorrer através de hospedeiros intermediários, como suínos ou equídeos, durante o manuseamento ou consumo de carne mal cozinhada de animais infetados. Adicionalmente, a transmissão pessoa-a-pessoa pode ocorrer, sobretudo em contexto de prestação de cuidados de saúde ou por contacto próximo. (Adaptado de: Tan CT, Goh KJ, Wong KT, et al., 2002 (25)).

_Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial da infeção por NiV constitui um elemento fundamental para a investigação epidemiológica e para a gestão clínica de casos suspeitos (tabela 1) (26,27).

A confirmação da infeção ativa baseia-se na deteção do RNA viral por reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa em tempo real (RT-PCR), o método de referência na fase aguda da doença. O RNA viral é geralmente detetável até cerca de duas semanas após o início dos sintomas (26,27).

Podem ser analisadas diferentes amostras biológicas, incluindo sangue, secreções respiratórias (exsudados nasofaríngeo e orofaríngeo), líquido cefalorraquidiano e urina. A colheita, manipulação e transporte destas amostras devem seguir procedimentos rigorosos de biossegurança, tendo em conta o risco biológico associado ao agente etiológico (26,27).

Os testes serológicos para deteção de anticorpos IgM e IgG, realizados em amostras de soro, podem ser utilizados como métodos complementares de diagnóstico. A presença de anticorpos IgM sugere infeção recente, atingindo o pico aproximadamente duas a três semanas após a exposição e persistindo durante algumas semanas posteriores. Os anticorpos IgG podem persistir durante vários meses, sendo particularmente úteis em estudos de seroprevalência e vigilância epidemiológica. De facto, os testes serológicos apresentam utilidade limitada no diagnóstico precoce, devido à sua baixa sensibilidade nas fases iniciais da doença, sendo, por isso, menos adequados para o diagnóstico inicial de casos suspeitos (26,27).

O isolamento viral e a sequenciação genómica são procedimentos laboratoriais reservados a laboratórios altamente especializados na caracterização molecular deste vírus e subsequente rastreio e vigilância genómica de cadeias de transmissão (26,27).

Tabela 1: ↓ Métodos de diagnóstico laboratorial da infeção por vírus Nipah (NiV) (26,27).

Método	Tipo de amostra biológica	Fase da doença	Tempo de deteção	Utilidade/Clinica	Tempo de deteção
RT-PCR	Sangue, secreções respiratórias, LCR, urina	Fase aguda	Até ~14 dias após início dos sintomas	Diagnóstico de referência	Elevada sensibilidade e especificidade
Sequenciação genómica	Sangue, secreções respiratórias, LCR, urina	Fase aguda	Até ~14 dias após início dos sintomas	Caracterização molecular	Vigilância genómica
Serologia IgM	Soro	Fase subaguda	~5-7 dias após início dos sintomas (pico ~20 dias)	Infeção recente	Pode persistir várias semanas
Serologia IgG	Soro	Fase tardia / convalescença	≥10-14 dias após início dos sintomas	Seroprevalência / exposição prévia	Persistência prolongada

_Preparação de Portugal

Embora a infeção por NiV não seja considerada endémica na Europa, a possibilidade de ocorrência de casos importados não pode ser totalmente excluída, face à crescente facilidade de circulação de pessoas a nível mundial.

Em Portugal, existe capacidade instalada no laboratório de referência para o diagnóstico molecular específico, em condições adequadas de contenção biológica (laboratório de segurança biológica de nível 3), e para a realização de testes serológicos associados à infeção por NiV. O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) criou, em 2007, a Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação, integrada no Departamento de Doenças Infecciosas, que é o laboratório nacional de referência para a deteção de agentes patogénicos de elevado risco biológico, incluindo os vírus do género *Henipavirus*. Adicionalmente, o INSA dispõe de capacidade para sequenciação do genoma completo, permitindo a caracterização molecular das estirpes virais, a identificação de variantes e o apoio à vigilância genómica em contexto de saúde pública.

Apesar da infeção por NiV não constar da lista nacional de doenças de declaração obrigatória, a deteção de um caso suspeito ou confirmado será sempre comunicada pelo laboratório de referência às autoridades de saúde pública, permitindo a rápida investigação epidemiológica e implementação de medidas de controlo da transmissão (9).

A deteção precoce depende também da suspeita clínica, sendo fundamental a obtenção de uma história epidemiológica detalhada, incluindo antecedentes de viagem, mais concretamente exposição a áreas onde o vírus é endémico.

_Vigilância e preparação para a deteção de casos importados

Para além da capacidade laboratorial, a resposta a um eventual caso importado depende de mecanismos céleres e efetivos de vigilância e resposta (8-10,28,29).

Neste contexto, a vigilância sindrómica de encefalites e de infeções respiratórias graves de etiologia desconhecida é fundamental para a identificação precoce de casos suspeitos de infeções emergentes. A notificação atempada constitui um passo essencial para desencadear a investigação epidemiológica e implementar medidas de controlo adequadas (8-10,28,29).

A capacidade laboratorial de resposta rápida é essencial para a confirmação do diagnóstico e para o apoio à vigilância epidemiológica. Paralelamente, os serviços de saúde devem dispor de procedimentos de isolamento e controlo de infeção, de forma a reduzir o risco de transmissão em ambiente hospitalar (8-10,28,29).

A resposta a um eventual caso importado depende também da capacidade de referenciação e gestão clínica em unidades hospitalares diferenciadas. Em Portugal, existem hospitais de referência para doenças infecciosas e unidades com capacidade para isolamento de doentes com suspeita de infeções de elevado risco biológico, incluindo unidades de isolamento com pressão negativa e equipas treinadas em controlo de infeção. Estes centros de referenciação hospitalar asseguram a avaliação clínica, a implementação de medidas de isolamento e o tratamento de suporte, em articulação com os laboratórios de referência e as autoridades de saúde pública (30).

A existência de circuitos definidos para referenciação de casos suspeitos, bem como a formação específica das equipas clínicas, constitui um elemento essencial para garantir uma resposta segura e efetiva, minimizando o risco de transmissão em ambiente hospitalar (8-10,28,29).

A resposta a um eventual caso importado depende também de uma comunicação eficaz entre autoridades nacionais de saúde pública e redes internacionais, incluindo a OMS, o *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) e a *Global Outbreak Alert and Response Network* (GOARN).

A experiência adquirida com outras situações de emergências de saúde pública reforça a importância de manter sistemas de vigilância ativos, mesmo perante riscos atualmente classificados como baixos.

_Considerações finais

O vírus Nipah (NiV) constitui um agente infeccioso emergente com potencial impacto relevante na saúde pública, devido à sua elevada taxa de letalidade e à possibilidade de transmissão pessoa-a-pessoa.

Embora o risco de importação para Portugal seja atualmente considerado baixo, a deteção precoce de eventuais casos depende da articulação entre a vigilância epidemiológica, a capacidade de diagnóstico laboratorial e elevada suspeita clínica.

Para além da capacidade técnica instalada, a resposta a um eventual caso exige a existência de protocolos atualizados de colheita, acondicionamento e transporte de amostras, formação contínua em biossegurança e a realização de exercícios de simulacro que permitam testar e otimizar os circuitos de resposta entre os diferentes intervenientes.

A articulação entre profissionais de saúde, laboratório de referência e autoridades de saúde pública é igualmente determinante para garantir uma resposta coordenada, atempada e efetiva.

Do exposto, podemos assegurar que Portugal encontra-se preparado para o diagnóstico laboratorial de um caso importado de infeção por NiV, perante uma suspeita clínica sustentada e o envio atempado de amostras biológicas para o laboratório de referência do Instituto Nacional de Saúde.

Referências bibliográficas:

- (1) Chua KB, Bellini WJ, Rota PA, et al. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science*. 2000 May 26;288(5470):1432-35. <https://doi.org/10.1126/science.288.5470.1432>
- (2) Singh RK, Dhama K, Chakraborty S, et al. Nipah virus: epidemiology, pathology, immunobiology and advances in diagnosis, vaccine designing and control strategies - a comprehensive review. *Vet Q*. 2019 Dec;39(1):26-55. <https://doi.org/10.1080/01652176.2019.1580827>
- (3) I. Nipah virus: epidemiology, pathology, immunobiology and advances in diagnosis, vaccine designing and control strategies - a comprehensive review. *Vet Q*. 2019 Dec;39(1):26-55. <https://doi.org/10.1080/01652176.2019.1580827>
- (4) Rahman M, Chakraborty A. Nipah virus outbreaks in Bangladesh: a deadly infectious disease. *WHO South East Asia J Public Health*. 2012 Apr-Jun;1(2):208-212. <https://doi.org/10.4103/2224-3151.206933>
- (5) World Health Organization. Nipah virus disease - India, 24 September 2021 [Internet]. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/nipah-virus-disease---india>
- (6) Chua KB. Nipah virus outbreak in Malaysia. *J Clin Virol*. 2003 Apr;26(3):265-75. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(02\)00268-8](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(02)00268-8)
- (7) Ching PK, de los Reyes VC, Sucaldito MN, et al. Outbreak of henipavirus infection, Philippines, 2014. *Emerg Infect Dis*. 2015 Feb;21(2):328-31. <https://doi.org/10.3201/eid2102.141433>
- (8) Paton NI, Leo YS, Zaki SR, et al. Outbreak of Nipah-virus infection among abattoir workers in Singapore. *Lancet*. 1999 Oct 9;354(9186):1253-56. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)04379-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)04379-2)
- (9) World Health Organization. Fact sheet: Nipah Virus Infection. 29 January 2026 [Internet]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/nipah-virus>.
- (10) European Centre for Disease Prevention and Control. Factsheet: Disease information on Nipah virus disease. 28 February 2023 [Internet]. <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-disease-topics/nipah-virus-disease/disease-information-nipah-virus-disease>.

artigos breves_ n. 2

- (11) World Health Organization. Technical Brief: Enhancing readiness for a Nipah virus event in countries not reporting a Nipah virus event Interim Document. 27 February 2024 [Internet]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789290211273>
- (12) World Health Organization. Pathogens prioritization: A scientific framework for epidemic and pandemic research preparedness. Health Emergencies Programme. R&D Blueprint, 2024 [Internet]. <https://www.who.int/publications/m/item/pathogens-prioritization-a-scientific-framework-for-epidemic-and-pandemic-research-preparedness>.
- (13) Lo Presti A, Cella E, Giovanetti M, et al. Origin and evolution of Nipah virus. *J Med Virol*. 2016 Mar;88(3):380-88. Epub 2015 Aug 14. <https://doi.org/10.1002/jmv.24345>
- (14) Lo MK, Lowe L, Hummel KB, et al. Characterization of Nipah virus from outbreaks in Bangladesh, 2008-2010. *Emerg Infect Dis*. 2012 Feb;18(2):248-55. <https://doi.org/10.3201/eid1802.111492>
- (15) Singh RK, Dhama K, Chakraborty S, et al. Nipah virus: epidemiology, pathology, immunobiology and advances in diagnosis, vaccine designing and control strategies - a comprehensive review. *Vet Q*. 2019 Dec;39(1):26-55. <https://doi.org/10.1080/01652176.2019.1580827>
- (16) Sun B, Jia L, Liang B, et al. Phylogeography, Transmission, and Viral Proteins of Nipah Virus. *Viol Sin*. 2018 Oct;33(5):385-393. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0050-1>
- (17) World Health Organization. Disease Outbreak News: Nipah virus infection in India. 30 January 2026 [Internet]. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2026-DON593>.
- (18) World Health Organization. Disease Outbreak News: Nipah virus infection in Bangladesh. 6 February 2026 [Internet]. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2026-DON594>.
- (19) Epstein JH, Anthony SJ, Islam A, et al. Nipah virus dynamics in bats and implications for spillover to humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Nov 17;117(46):29190-29201. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2000429117>
- (20) Clayton BA. Nipah virus: transmission of a zoonotic paramyxovirus. *Curr Opin Virol*. 2017 Feb;22:97-104. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.12.003>
- (21) Kumar CPG, Sugunan AP, Yadav P, et al. ; Nivedita Gupta 5th. Infections among Contacts of Patients with Nipah Virus, India. *Emerg Infect Dis*. 2019 May;25(5):1007-10. <https://doi.org/10.3201/eid2505.181352>
- (22) Nikolay B, Salje H, Hossain MJ, et al. Transmission of Nipah Virus - 14 Years of Investigations in Bangladesh. *N Engl J Med*. 2019 May 9;380(19):1804-14. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1805376>
- (23) de Campos GM, Cella E, Kashima S, et al. Updated Insights into the Phylogenetics, Phylodynamics, and Genetic Diversity of Nipah Virus (NiV). *Viruses*. 2024 Jan 24;16(2):171. <https://doi.org/10.3390/v16020171>
- (24) Sejvar JJ, Hossain J, Saha SK, et al. Long-term neurological and functional outcome in Nipah virus infection. *Ann Neurol*. 2007 Sep;62(3):235-42. <https://doi.org/10.1002/ana.21178>
- (25) Tan CT, Goh KJ, Wong KT, et al. Relapsed and late-onset Nipah encephalitis. *Ann Neurol*. 2002 Jun;51(6):703-8. <https://doi.org/10.1002/ana.10212>
- (26) Tan FH, Sukri A, Idris N, et al. A systematic review on Nipah virus: global molecular epidemiology and medical countermeasures development. *Virus Evol*. 2024 Jul 25;10(1):veae048. <https://doi.org/10.1093/ve/veae048>
- (27) Mazzola LT, Kelly-Cirino C. Diagnostics for Nipah virus: a zoonotic pathogen endemic to Southeast Asia. *BMJ Glob Health*. 2019 Feb 1;4(Suppl 2):e001118. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2018-001118>
- (28) Mazzola L, Fru HC, Cherkaoui D, et al. Diagnostic tests for Nipah virus: A landscape analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2026 Jan;114(1):117101. Epub 2025 Sep 6. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2025.117101>
- (29) Anish TS, Aravind R, Radhakrishnan C, et al. Pandemic potential of the Nipah virus and public health strategies adopted during outbreaks: Lessons from Kerala, India. *PLOS Glob Public Health*. 2024 Dec 19;4(12):e0003926. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0003926>
- (30) Paliwal S, Shinu S, Saha R. An emerging zoonotic disease to be concerned about - a review of the nipah virus. *J Health Popul Nutr*. 2024 Oct 28;43(1):171. <https://doi.org/10.1186/s41043-024-00666-5>
- (31) Serviço Nacional de Saúde. Rede de Referência Hospitalar de Infecçciologia. 27 de junho de 2017. [Internet]. <https://www.sns.gov.pt/sns/redes-de-referenciacao-hospitalar/>

Infeções fúngicas: estudo retrospectivo sobre casos de infeção e colonização por leveduras diagnosticados no INSA entre 2019 e 2025

Fungal infections: A retrospective study on cases of yeast infection and colonization diagnosed at INSA between 2019 and 2025

Alexandru-Marian Papuc¹, Márcia Pimenta¹, Helena Simões¹, Cristina Veríssimo¹, Raquel Sabino²⁻⁴, Maria João Gargaté¹

m.joao.gargate@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Research Institute for Medicines, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) Instituto de Saúde Ambiental. Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(4) Laboratório Associado TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal

_Resumo

No presente estudo retrospectivo analisaram-se 1521 casos de infeção/colonização por leveduras diagnosticadas pelo Laboratório Nacional de Referência (LNR) de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) no período compreendido entre 2019 e 2025, dos quais 40 (2,6%) casos corresponderam a infeções mistas. As infeções/colonizações por leveduras afetaram predominantemente indivíduos de idade igual ou superior a 60 anos, tendo-se verificado um aumento de casos diagnosticados em 2024 (n=290/1521; 19,1%). Relativamente ao sexo feminino, a maior parte dos casos teve origem em exsudados vaginais, associando-se a um padrão bimodal de frequência por idade, com um pico durante a idade reprodutiva (18-44 anos) e outro na faixa etária dos 60+ anos, enquanto que no sexo masculino, as secreções respiratórias foram a principal origem biológica.

Relativamente aos agentes etiológicos isolados, *Candida albicans* manteve-se a espécie predominante durante todo o período (51,6%, n=805/1561), e *Candida parapsilosis*, a segunda espécie mais frequente, com 22,7% (n=355/1561). Considerando as atuais espécies emergentes, destaca-se um aumento de isolados de *Candidozyma auris*, atingindo, desde o primeiro caso, isolado em 2022, 0,7% (n=11/1561) do total de isolados. Este perfil epidemiológico dos agentes etiológicos estudados está alinhado com as tendências globais e reforça a necessidade da vigilância contínua, do preciso e específico diagnóstico laboratorial e subsequente classificação taxonómica, tendo em conta o risco de diferentes perfis de resistência aos antifúngicos de espécies emergentes.

_Abstract

This retrospective study analyzed 1521 cases of yeast infections/colonizations diagnosed by the National Reference Laboratory for Parasitic and Fungal Infections at National Institute of Health Dr Ricardo Jorge (INSA), between 2019 and 2025, of which 40 (2.6%) cases corresponded to mixed infections. Yeast infections/colonizations predominantly affected individuals aged 60 or over, with an observed increase in cases diagnosed in 2024 (n=290/1521; 19.1%). Among females, most isolates were obtained from vaginal swabs, associated with a bimodal age distribution, with one peak during reproductive age (18-44 years) and another in the 60+ age group, while among males, respiratory secretions were the primary source.

In terms of etiological agents, Candida albicans remained the predominant species throughout the period (51.6%, n=805/1561), and Candida parapsilosis was the second most frequent species, with 22.7% (n=355/1561). Given the current emerging species, there has been an increase in Candidozyma auris isolates, reaching 0.7% (n=11/1561) of total isolates since the first case was identified in 2022.

This epidemiological profile of the studied etiological agents aligns with global trends and reinforces the need for continuous surveillance, precise and specific laboratory diagnosis, and subsequent taxonomic classification, considering the risk for different antifungal resistance profiles in emerging species.

_Introdução

As infeções fúngicas afetam mais de mil milhões de pessoas por ano a nível global, sendo as candidíases as mais comuns. O género *Candida* é responsável por 75-88% destas infeções, que podem variar desde formas superficiais, afetando unhas, pele, trato gastrointestinal e mucosas (cavidade oral e genital), até infeções profundas ou sistémicas, designadamente as candidemias. Estas manifestações mais graves ocorrem sobretudo em recém-nascidos, idosos e indivíduos imunocomprometidos, grupos nos quais a suscetibilidade à colonização e infeção por estes agentes patogénicos oportunistas é maior. De facto, a candidíase invasiva apresenta taxas de letalidade elevadas, que pode atingir cerca de 40%, especialmente na presença de fatores de risco como internamento hospitalar prolongado, permanência em unidades de cuidados intensivos, toma de antibióticos de largo espetro, presença de cateteres vasculares centrais, nutrição parentérica total e realização de cirurgias abdominais complexas (1-4).

Dada a relevância clínica e epidemiológica das infeções fúngicas, a vigilância destes agentes patogénicos é fundamental. Neste contexto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou uma lista de fungos prioritários, na qual determinadas espécies de *Candida* são classificadas como ameaças de grau crítico ou elevado para a saúde pública (5).

A espécie mais frequentemente associada a estas infeções é *Candida albicans*, embora a incidência de espécies não-*albicans* varie consoante a localização geográfica. Nos últimos anos, tem-se observado um aumento da incidência de *Nakaseomyces glabratus* (*Candida glabrata*), *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*) e *Candidozyma auris* (*Candida auris*) em diferentes continentes. *Nakaseomyces glabratus* é mais frequente no norte da Europa e nos Estados Unidos da América, enquanto *C. parapsilosis* e/ou *C. tropicalis* são mais prevalentes na Índia, no Paquistão, na América Latina e nos países mediterrâneos (6,7).

Em Portugal, apesar da existência de dados epidemiológicos relevantes, a informação disponível sobre a evolução da incidência das infeções por *Candida* permanece incompleta. A nível internacional, estudos retrospectivos baseados em dados laboratoriais de redes de vigilância têm sido utilizados para caracterizar a distribuição das espécies, e os padrões epidemiológicos, incluindo dados demográficos, possibilitando comparações entre diferentes países e regiões (8,9).

Esta abordagem pretende contribuir para uma melhor compreensão da epidemiologia das infeções e colonizações por *Candida*, bem como para o fortalecimento das estratégias de vigilância e controlo em saúde pública (10).

_Objetivo

Este estudo teve como objetivo analisar os resultados do diagnóstico laboratorial efetuado no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde (INSA) em indivíduos com diagnóstico confirmado de infeção/colonização por leveduras no período entre 2019 e 2025.

_Material e métodos

A identificação de espécies foi realizada de acordo com os procedimentos laboratoriais definidos para os diferentes produtos biológicos (11), utilizando: (i) meio cromogénico para distinção entre *Candida albicans* e espécies não-*albicans*; (ii) por *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) quando o espectro proteico permitiu chegar a uma classificação taxonómica; ou (iii) sequenciação da região ITS nos casos em que os métodos anteriores não possibilitaram uma identificação conclusiva. A análise e o tratamento de dados foram realizados utilizando o *software* RStudio, versão 2025.05.1+513.

_Resultados e discussão

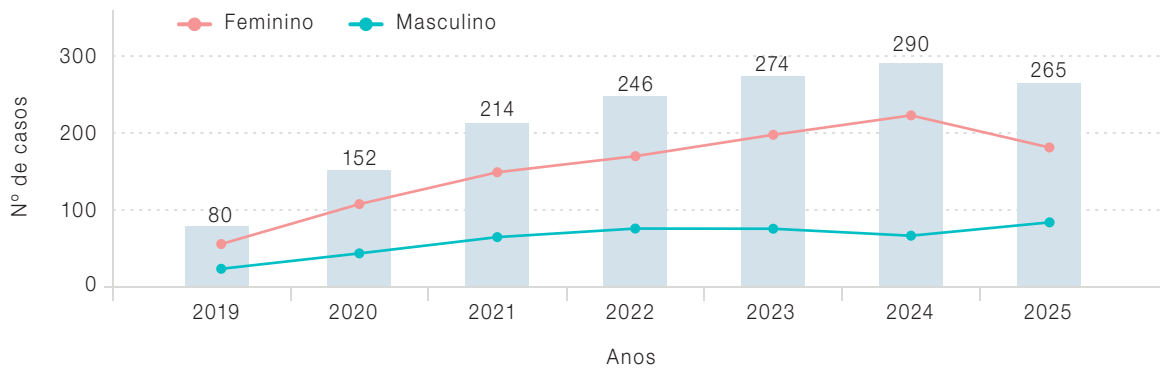
Entre 2019 e 2025 foram diagnosticados 1521 casos (1085 do sexo feminino e 436 do sexo masculino) de infeção/colonização por leveduras no Laboratório Nacional de Referência (LNR) de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) (gráfico 1). O número de isolados apresentou uma tendência crescente, variando entre 80 casos em 2019 e 290 casos em 2024. Este padrão acompanha o que tem vindo a ser descrito em estudos epidemiológicos recentes, que apontam para um aumento progressivo das infeções por leveduras, sobretudo por espécies do género *Candida*, em diferentes contextos clínicos e regiões geográficas (12). Este aumento poderá refletir não apenas uma maior prevalência destas infeções, mas também uma melhoria na capacidade de identificação taxonómica, resultante da utilização de métodos laboratoriais mais precisos e do reforço das estratégias de vigilância epidemiológica, fatores amplamente reconhecidos como fatores associados ao aumento do número de isolados notificados (12,13). De facto, estudos recentes sublinham que a melhoria da capacidade de diagnóstico e a padronização dos procedimentos laboratoriais contribuem significativamente para uma maior deteção destas infeções, nomeadamente em contextos hospitalares e de vigilância (13,14). Em 2025, observou-se uma diminuição do número de isolados, embora os valores tenham permanecido superiores aos re-

artigos breves_ n. 3

gistados no período anterior a 2023, sugerindo que o padrão observado corresponde a uma tendência epidemiológica crescente, em linha com o descrito noutros países (12,15).

A distribuição por sexo ao longo do período em estudo, mostra uma tendência crescente em ambos os sexos, sendo mais acentuada no sexo feminino (gráfico 1).

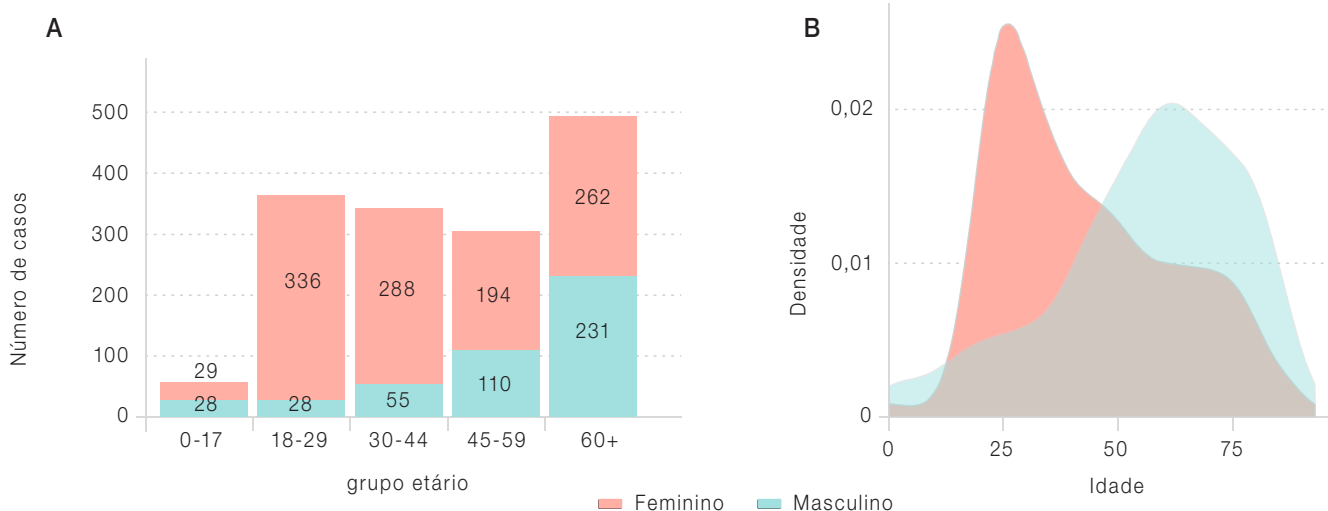
Gráfico 1: Distribuição do número de casos de infeção/colonização por leveduras, por ano de diagnóstico, 2019-2025.



O diagnóstico laboratorial destas infeções/colonizações ocorreu em indivíduos com idades compreendidas entre 0 e 93 anos, com maior predominância nos grupos etários acima dos 60 anos (gráfico 2A). A distribuição etária, alinhada com o descrito na literatura, aponta para um aumento das infeções por leveduras em idades mais avançadas, associado a uma maior frequência de comorbilidades, ao processo de envelhecimento e a maior exposição a ambientes hospitalares e dispositivos médicos invasivos (12,13). Verificou-se, ainda, um padrão de distribuição e de densidade de casos distinto do sexo feminino em comparação com o masculino: um pico du-

rante a idade reprodutiva (18-44 anos) e outro na faixa etária dos 60+ anos (gráfico 2B). A maior frequência de casos nas mulheres já foi amplamente descrita e é, em grande parte, explicada pela elevada prevalência de candidíases vaginais na idade fértil, associada a fatores hormonais, comportamentais e biológicos, nomeadamente alterações do equilíbrio da microbiota vaginal que favorecem o crescimento de *Candida*, um microrganismo comensal oportunista, bem como a recorrência destas infeções ao longo da vida (12,16) (gráfico 3).

Gráfico 2: A - Distribuição do número de casos de infeção/colonização por leveduras, por grupo etário e sexo, 2019 - 2025. B - Distribuição da densidade de casos por idade e sexo, 2019-2025.



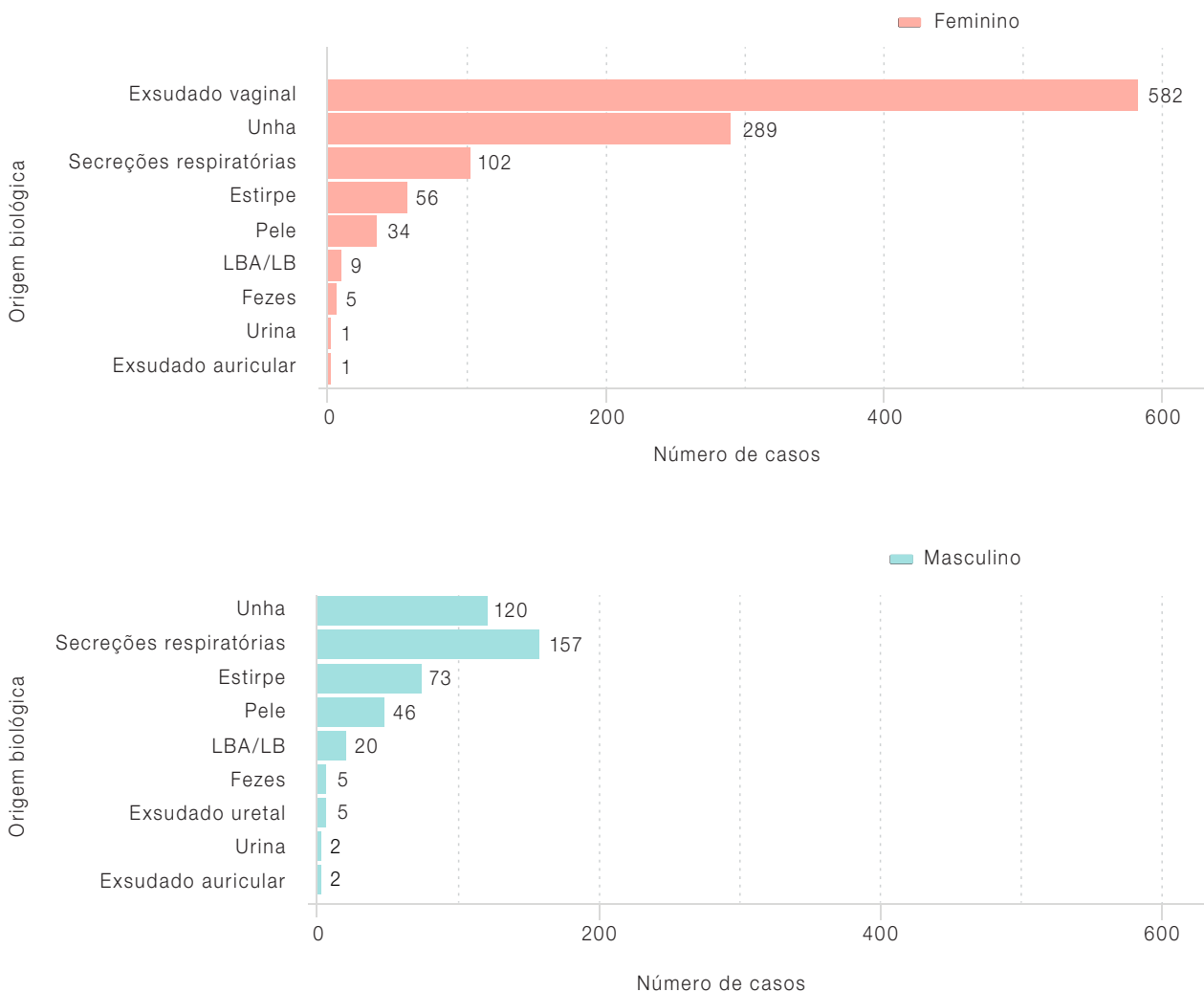
artigos breves_ n. 3

Relativamente à distribuição destas infeções/colonizações pelos diferentes locais anatómicos, constatou-se que, no sexo feminino, a maioria dos isolados é proveniente de exsudados vaginais (582/1085), seguida de isolados de unhas (289/1085) e de secreções respiratórias (102/1085) (**gráfico 3**). Estes resultados são consistentes com a elevada prevalência de candidíase vulvovaginal, amplamente descrita como a forma mais frequente de infeção por *Candida* em mulheres, particularmente durante a idade reprodutiva, mas também recorrente ao longo da vida (12,17,18). Por outro lado, no sexo masculino, verificou-se que a maioria dos iso-

lados tinham como origem biológica secreções respiratórias (157/436) seguida de amostras de unhas (120/436) e de estirpes fúngicas recebidas no INSA (73/436), cujo local anatómico de origem é desconhecido (**gráfico 3**).

Por sua vez, a presença de *Candida* spp. em amostras ungueais é descrita na literatura como associada a onicomicose, sendo estas leveduras reconhecidas como agentes etiológicos frequentes em onicomicoses, sobretudo nas unhas das mãos e em indivíduos adultos, frequentemente associadas a fatores de risco, tais como diabetes mellitus, imunossupressão e microtraumatismos ungueais (19-21).

Gráfico 3: Distribuição do número de casos de infeção/colonização por leveduras, por sexo e amostra biológica, 2019-2025.



artigos breves_ n. 3

Entre os 1521 casos de infeção/colonização por leveduras foram identificados 1561 isolados de diversas espécies, as mais frequentemente isoladas foram *C. albicans* (n=805/1561; 51,6%), *C. parapsilosis* (n=355/1561; 22,7%) e *N. glabratus* (n=77/1561; 4,9%) (gráfico 4). Podemos, ainda, inferir que a predominância de *C. albicans* manteve-se constante ao longo dos sete anos em estudo, seguida de *C. parapsilosis* (gráfico 5). Este padrão já se tinha verificado anteriormente, em 2013, em determinados países da Europa (22,23).

Considerando os grupos etários, as espécies mais frequentes foram *C. albicans* e *C. parapsilosis* (gráfico 6A). Excluindo os isolados identificados a partir de exsudados vaginais e uretrais, verificou-se maior frequência de *C. parapsilosis* em indivíduos até aos 59 anos de idade (gráfico 6B). A frequência mais elevada de *C. albicans* foi observada em indivíduos com idade superior a 60 anos, estando de acordo com dados da literatura (24).

Gráfico 4: Distribuição das 14 espécies mais frequentemente isoladas entre os casos de infeção/colonização por leveduras, 2019-2025.

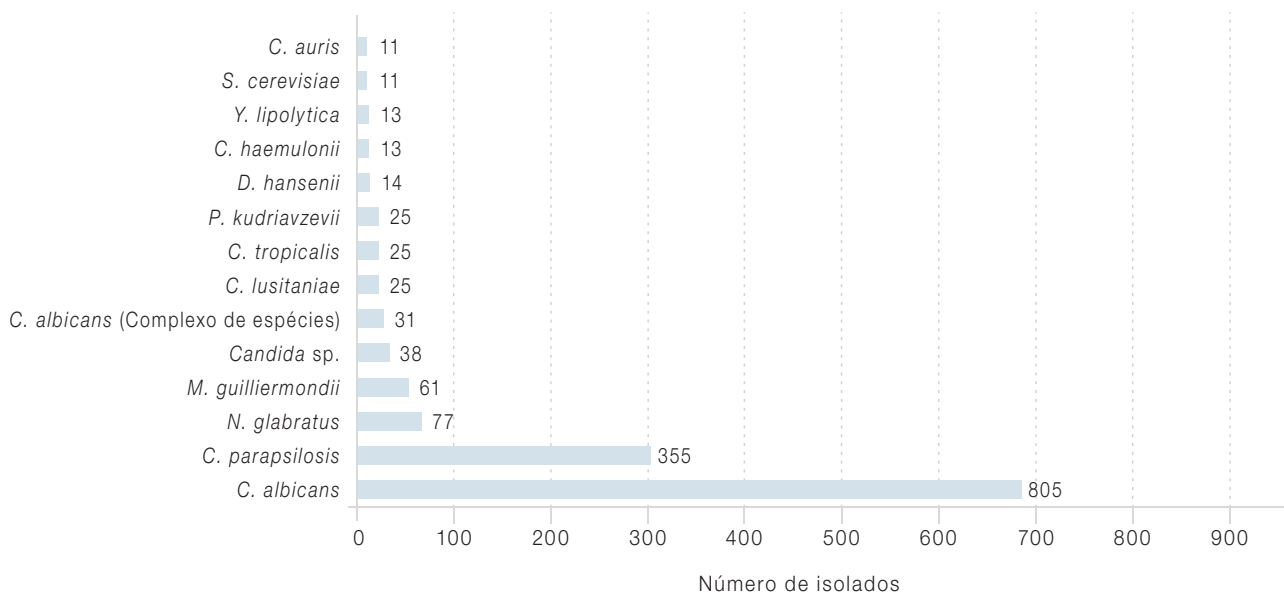


Gráfico 5: Evolução da frequência das espécies *Candida* spp. identificadas, 2019-2025

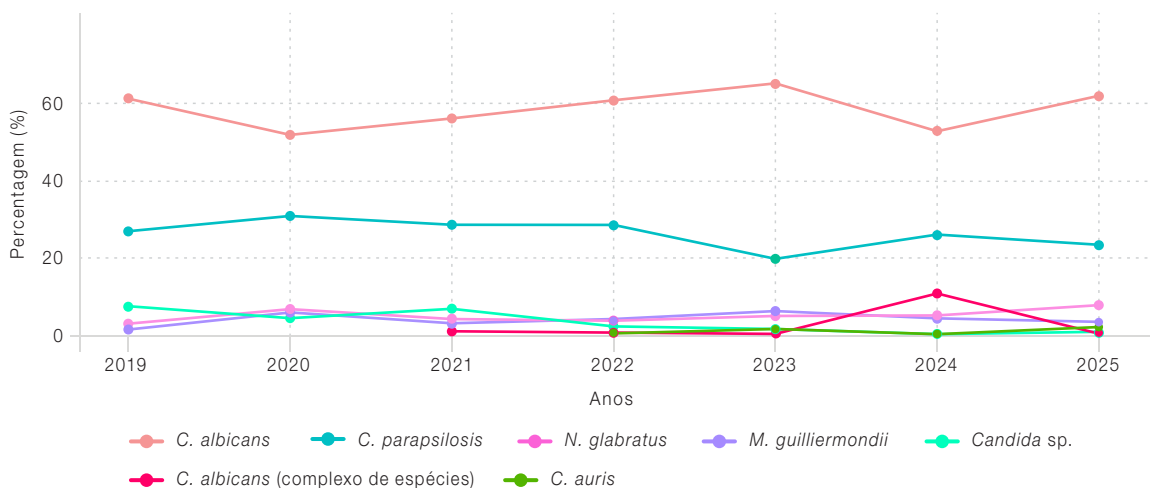
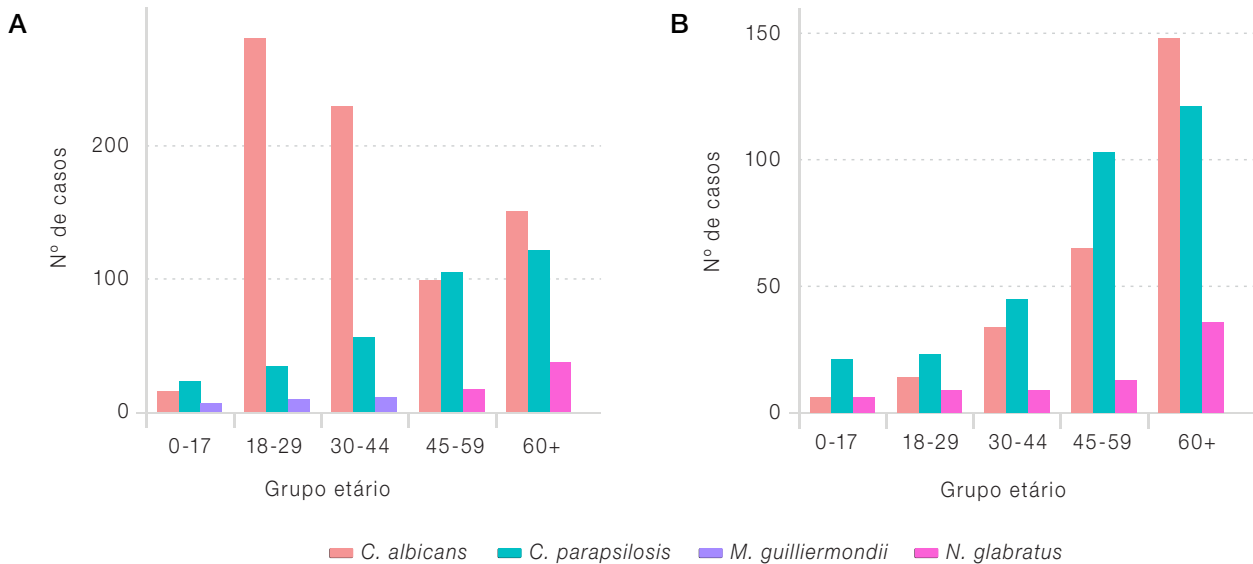


Gráfico 6: Distribuição do número de casos de infeção/colonização por leveduras, por espécie e grupo etário, (A) com isolados identificados e provenientes de todas as amostras biológicas, (B) excluindo os isolados identificados a partir de exsudados vaginais e uretrais.



Nos isolados provenientes de exsudados vaginais e de secreções respiratórias observou-se uma frequência mais elevada de *C. albicans*. Nos isolados de amostras de unhas, a espécie mais frequente foi *C. parapsilosis*, consistente com estudos semelhantes (gráfico 7) (25-27).

As leveduras isoladas a partir de exsudados vaginais representaram mais de metade dos isolamentos de leveduras no sexo feminino, sendo os grupos etários entre os 18-29 anos e entre os 30-44 anos de idade os que apresentaram frequências mais elevadas. A espécie mais frequente foi *C. albicans*, seguida de *C. parapsilosis* e *N. glabratus* (gráfico 8).

Gráfico 7: Distribuição do número de casos de infeção/colonização por leveduras, por espécie identificada nas amostras biológicas de exsudados vaginais, secreções respiratórias e unhas, 2019-2025.

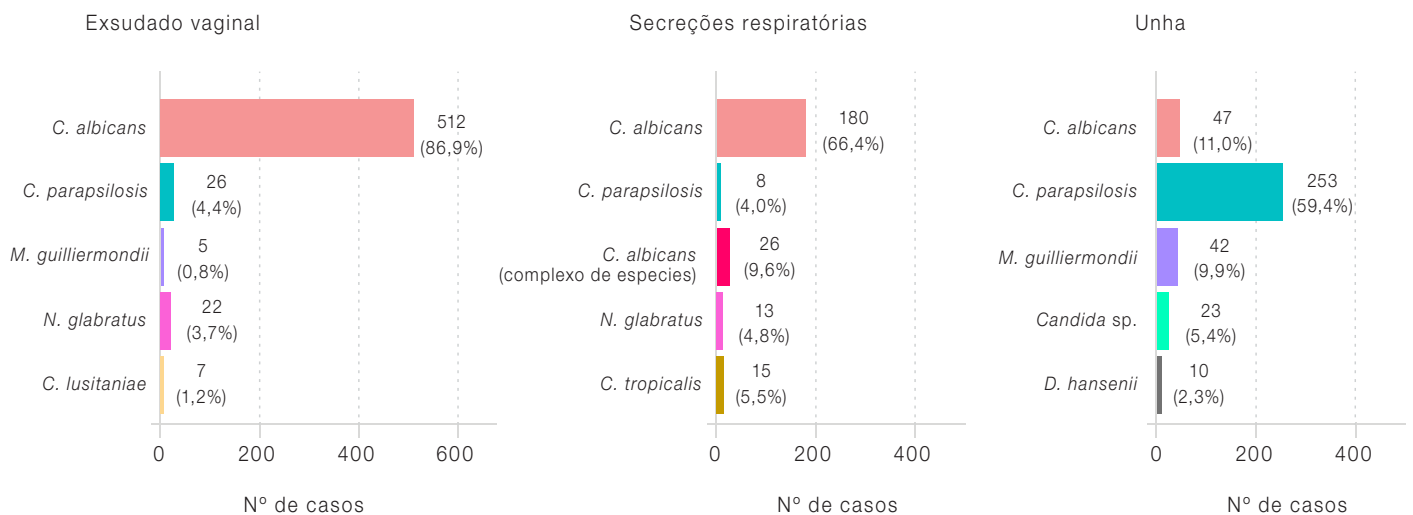
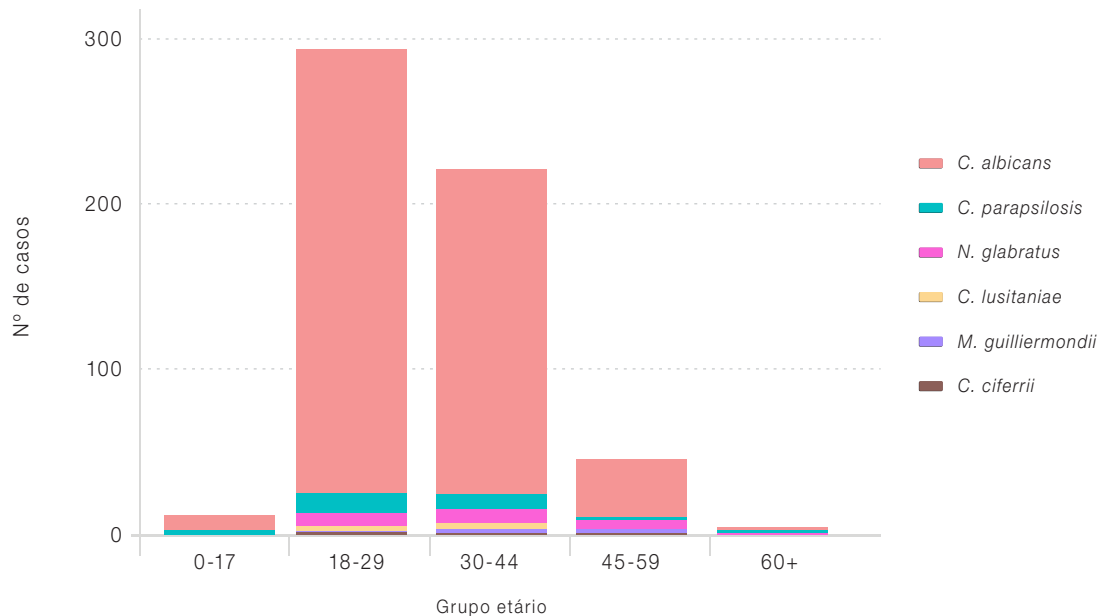


Gráfico 8: Distribuição do número de isolados identificados em exsudados vaginais, por grupo etário e por espécie isolada.



Do total de 1521 casos de infeção/colonização, 40 (2,6%) foram classificados como mistas, envolvendo pelo menos duas espécies diferentes de leveduras. As combinações de infeção/colonização mista mais frequentes foram *C. albicans* e *C. parapsilosis* (n=9, provenientes maioritariamente de amostras de unhas), a *C. albicans* com *N. glabratus* (n=6, provenientes de amostras de exsudados vaginais e secreções respiratórias), a *C. albicans* e *C. lusitaniae* (n=3, provenientes de amostras de unhas e exsudados vaginais) e a *C. albicans* com *C. tropicalis* (n=2); *C. albicans* com *C. norvegensis* (n=2) e *C. parapsilosis* com *Meyerozyma guilliermondii* (*Candida guilliermondii*) (n=2), (as três últimas associações referidas são provenientes de amostras de unha, exsudados vaginais e secreções respiratórias).

Observou-se ainda a emergência de novas espécies, com especial destaque para *C. auris*. Este agente patogénico é particularmente relevante devido à elevada incidência global em contextos hospitalares e à sua resistência antifúngica, como documentado em diversos estudos (7). O primeiro isolado de *C. auris* em Portugal foi identificado no INSA em 2022. Nos anos subsequentes, a frequência de *C. auris* foi de 4 casos em 2023, 1 caso em 2024 e 5 casos em 2025. No total, foram registados 11 casos de *C. auris*, o que corresponde a 0,7% do total de leveduras estudadas no INSA.

Dada a emergência e importância clínica da *C. auris*, e de forma a capacitar os profissionais para uma correta identificação taxonómica, o Laboratório Nacional de Referências de Infeções Parasitárias e Fúngicas no âmbito do Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ), colabora desde 2020 num ensaio de avaliação externa da qualidade para a deteção de agentes patogénicos emergentes, permitindo, assim, a validação dos procedimentos laboratoriais e reforçando a deteção precoce de *C. auris*, com impacto na prevenção da transmissão e no controlo de surtos hospitalares.

Conclusões

O presente estudo analisou 1521 casos de infeção/colonização por leveduras identificados pelo Laboratório Nacional de Referências de Infeções Parasitárias e Fúngicas do INSA no período entre 2019 e 2025.

A frequência de casos de infeção/colonização manteve-se elevada, com um pico em 2024, afetando predominantemente os grupos etários mais avançados (60+ anos). No sexo feminino observou-se um padrão bimodal de frequência, associado à elevada prevalência de candidíase vaginal, sobretudo na idade reprodutiva. No sexo masculino, a origem biológica mais frequente dos isolados estudados foi as secreções respiratórias.

Relativamente aos agentes etiológicos isolados, *C. albicans* manteve-se a espécie predominante (51,6%) e *C. parapsilosis*, a segunda espécie mais frequente (22,7%). Considerando as espécies emergentes atuais, os isolados de *C. auris* têm vindo a aumentar, atingindo 0,7% do total de isolados estudados em sete anos.

Este panorama epidemiológico das leveduras está em concordância com tendências globais, sublinha a importância da vigilância contínua e do preciso e específico diagnóstico laboratorial e subsequente classificação taxonómica, dado o risco de diferentes perfis de resistência aos antifúngicos em espécies não-*albicans* emergentes.

Financiamento: Raquel Sabino tem o apoio da FCT [UID/04138/2025 (DOI: <https://doi.org/10.54499/UID/04138/2025>); UID/PRR/04138/2025 (DOI: <https://doi.org/10.54499/UID/PRR/04138/2025>); UID/PRR2/04138/2025 (DOI: <https://doi.org/10.54499/UID/PRR2/04138/2025>).

Referências bibliográficas:

- (1) Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016 Feb 15;62(4):e1-50. Epub 2015 Dec 16. <https://doi.org/10.1093/cid/civ933>
- (2) Bouopda Tamo SP. Candida infections: clinical features, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin Microbiol*. 2020;2(2):91-102. <https://doi.org/10.36519/idxm.2020.0006>
- (3) Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *N Engl J Med*. 2015 Oct 8;373(15):1445-56. <https://doi.org/10.1056/NEJMrat1315399>
- (4) McCarty TP, White CM, Pappas PG. Candidemia and Invasive Candidiasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2021 Jun;35(2):389-413. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.007>
- (5) World Health Organization. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: WHO, 2022. <https://iris.who.int/handle/10665/363682>
- (6) Branco J, Miranda IM, Rodrigues AG. Candida parapsilosis Virulence and Antifungal Resistance Mechanisms: A Comprehensive Review of Key Determinants. *J Fungi (Basel)*. 2023 Jan 5;9(1):80. <https://doi.org/10.3390/jof9010080>
- (7) Salmanton-García J, Nóbrega de Almeida J Jr, Colombo AL. Candidozyma auris (formerly Candida auris): resistant, long lasting, and everywhere. *Clin Microbiol Infect*. 2026 Mar;32(3):374-81. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2025.12.022>
- (8) Koehler P, Stecher M, Cornely OA, et al. Morbidity and mortality of candidaemia in Europe: an epidemiologic meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2019 Oct;25(10):1200-12. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.04.024>
- (9) Pfaller MA, Diekema DJ, Turnidge JD, et al. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for Candida Species From 1997-2016. *Open Forum Infect Dis*. 2019 Mar 15;6(Suppl 1):S79-S94. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy358>
- (10) Fisher BT, Boge CLK, Xiao R, et al. Multicenter Prospective Study of Biomarkers for Diagnosis of Invasive Candidiasis in Children and Adolescents. *Clin Infect Dis*. 2022 Aug 25;75(2):248-59. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab928>
- (11) Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for detection and culture of fungi in clinical specimens. 2nd ed. CLSI guideline M54. Wayne (PA): CLSI, 2021.
- (12) Arana IC, Añino Y, Murillo D, et al. Nationwide epidemiology of candidiasis in Panama, 2010-2020. *Sci Rep*. 2025 Dec 5;15(1):43223. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-27218-z>
- (13) Slepčanová H, Dobiáš R, Langer ABS, et al. Diagnostic Approaches to Invasive Candidiasis: Challenges and New Perspectives. *Mycopathologia*. 2025 Dec 13;191(1):4. <https://doi.org/10.1007/s11046-025-01035-4>
- (14) Barros GCG, Neves MLC, Cavalcanti JVC, et al. Epidemiologia da candidemia associada à COVID-19. *Rev Interfaces Saúde Humanas Tecnol*. 2025;13(3):5745-55. <https://doi.org/10.16891/2317-434X.v13.e3.a2025.id2775>
- (15) UK Health Security Agency (2025). Bloodstream infection due to Candida (and species formerly part of the Candida genus) in England: 2022 (Updated 24 February 2026). [Internet] [consult. 4/2/2026]. <https://www.gov.uk/government/publications/candidaemia-annual-data-from-voluntary-surveillance/bloodstream-infection-due-to-candida-and-species-formerly-part-of-the-candida-genus-in-england-2022>
- (16) Yano J, Sobel JD, Nyirjesy P, et al. Current patient perspectives of vulvovaginal candidiasis: incidence, symptoms, management and post-treatment outcomes. *BMC Womens Health*. 2019 Mar 29;19(1):48. <https://doi.org/10.1186/s12905-019-0748-8>
- (17) Denning DW, Kneale M, Sobel JD, et al. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2018 Nov;18(11):e339-e347. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30103-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30103-8)
- (18) Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Jan;214(1):15-21. Epub 2015 Jul 9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.06.067>
- (19) Gupta AK, Versteeg SG, Shear NH. Onychomycosis in the 21st Century: An Update on Diagnosis, Epidemiology, and Treatment. *J Cutan Med Surg*. 2017 Nov/Dec;21(6):525-39. <https://doi.org/10.1177/1203475417716362>
- (20) Gupta P, Gupta P, Chatterjee B, et al. Evaluation of Candida Scoring Systems to Predict Early Candidemia: A Prospective and Observational Study at a Tertiary Care Hospital, Uttarakhand. *Indian J Crit Care Med*. 2017 Dec;21(12):830-35. https://doi.org/10.4103/ijccm.IJCCM_159_17
- (21) Nenoff P, Krüger C, Schaller J, et al. Mycology - an update part 2: dermatomycoses: clinical picture and diagnostics. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2014 Sep;12(9):749-77. <https://doi.org/10.1111/ddg.12420>
- (22) Guinea J. Global trends in the distribution of Candida species causing candidemia. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Jun;20(Suppl 6):5-10. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12539>
- (23) Nascimento T, Inácio J, Guerreiro D, et al. Enhancing ICU Candida spp. surveillance: a cost-effective approach focused on Candida auris detection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024 Nov 1;14:1463456. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1463456>
- (24) Muzaheed, Alshehri BA, Rabaan AA, et al. A 20-year retrospective clinical analysis of Candida infections in tertiary centre: Single-center experience. *J Infect Public Health*. 2022 Jan;15(1):69-74. Epub 2021 Nov 14. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.11.014>
- (25) Brandolt TM, Klafke GB, Gonçalves CV, et al. Prevalence of Candida spp. in cervical-vaginal samples and the in vitro susceptibility of isolates. *Braz J Microbiol*. 2017 Jan-Mar;48(1):145-50. Epub 2016 Oct. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.006>
- (26) Krzyściak P, Tokarz Z, Pomorska-Wesołowska M, et al. Fingernail Onychomycosis: A Laboratory-Based Retrospective Study with Species Profiling and Antifungal Susceptibility of Yeasts. *J Clin Med*. 2026 Jan 1;15(1):325. <https://doi.org/10.3390/jcm15010325>
- (27) Pendleton KM, Dickson RP, Newton DW, et al. Respiratory Tract Colonization by Candida species Portends Worse Outcomes in Immunocompromised Patients. *Clin Pulm Med*. 2018 Nov;25(6):197-201. <https://doi.org/10.1097/CPM.0000000000000279>

Fatores psicossociais associados à confiança nas vacinas: um estudo exploratório em profissionais de saúde

Psychosocial factors of vaccine confidence: An exploratory study among Portuguese healthcare workers

Vânia Gaio¹, Ana Leonor Saraiva¹, Ana João Santos^{1,2}, Ana Palmira Amaral³, Ausenda Machado¹

vania.gαιο@insa.min-saude.pt

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

(2) Rise-Health. Departamento de Educação e Psicologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

(3) Serviço de Saúde Ocupacional, Unidade Local de Saúde Viseu Dão-Lafões, Viseu, Portugal

_Resumo

Os profissionais de saúde (PS) desempenham um papel crucial no sucesso das campanhas de vacinação, tanto por meio da sua própria vacinação quanto pela promoção da imunização dos seus pacientes. Uma baixa confiança nas vacinas entre PS pode comprometer o sucesso das campanhas de vacinação, influenciando negativamente as recomendações para a vacinação e reduzindo a cobertura vacinal. Este estudo teve como objetivo descrever os determinantes psicossociais que influenciam a confiança nas vacinas entre PS em Portugal.

Realizou-se um estudo transversal entre outubro e novembro de 2024, envolvendo médicos e enfermeiros de uma Unidade de Saúde Local da região Centro de Portugal. Para a recolha de dados utilizou-se um questionário online que integrou uma versão curta da escala *Professionals Vaccine Confidence and Behaviors* (Pro-VC-Be) adaptada para Portugal. A unidimensionalidade da escala foi avaliada por meio de uma análise fatorial exploratória (AFE). Adicionalmente, procedeu-se a análises descritivas e bivariadas (vacinados versus não vacinados), recorrendo aos testes exato de Fisher e qui-quadrado de Pearson, com o objetivo de identificar os principais determinantes psicossociais associados à confiança nas vacinas.

Entre os 112 profissionais de saúde participantes (82% mulheres; 71% enfermeiros), 67% estavam vacinados contra a COVID-19 na época 2024/2025. A AFE sugeriu uma estrutura unidimensional, com um fator dominante (valor próprio = 1,90) que explicou 56% da variância. Os profissionais vacinados apresentaram níveis significativamente mais elevados de confiança nas vacinas (valor médio do score obtido através da escala de 10 itens = 42,9 versus 40,8; $p=0,003$). A confiança na segurança das vacinas ($p=0,027$), a crença nos benefícios da vacinação ($p=0,011$) e a menor complacência ($p=0,048$) mostraram-se positivamente associadas à vacinação contra a COVID-19.

Este estudo exploratório destacou a percepção de segurança, da eficácia e da utilidade das vacinas na prevenção da doença como determinantes da confiança nas vacinas entre profissionais de saúde portugueses. Dado o reduzido tamanho da amostra, os resultados devem ser interpretados com cautela. A aplicação da escala a uma população maior e mais diversificada de profissionais de saúde é essencial para validar estes resultados e apoiar o desenvolvimento de estratégias direcionadas para reforçar a confiança nas vacinas, de modo a aumentar a adesão à vacinação.

_Abstract

Healthcare workers (HCW) play a crucial role in the success of vaccination campaigns, both through their own vaccination and by promoting immunization among their patients. Low vaccine confidence among HCW can compromise the success of vaccination campaigns, negatively influencing vaccination recommendations and reducing vaccine coverage. This study aimed to describe the psychosocial determinants influencing vaccine confidence among HCW in Portugal.

A cross-sectional study was conducted between October and November 2024, involving physicians and nurses from a Local Health Unit in the central region of Portugal. Data were collected using an online questionnaire that included a short version of the *Professionals Vaccine Confidence and Behaviors* (Pro-VC-Be) scale adapted for Portugal. The unidimensionality of the scale was assessed using exploratory factor analysis (EFA). Additionally, descriptive and bivariate analyses (vaccinated versus non-vaccinated) were performed using Fisher's exact test and Pearson's chi-square test, in order to identify the main psychosocial determinants associated with vaccine confidence.

Among the 112 participating HCW (82% women; 71% nurses), 67% were vaccinated against COVID-19 in the 2024/25 season. The EFA suggested a unidimensional structure, with a dominant factor (eigenvalue=1.90) explaining 56% of the variance. Vaccinated HCW showed significantly higher levels of vaccine confidence (mean score obtained from the 10-item scale=42.9 vs. 40.8; $p=0.003$). Confidence in vaccine safety ($p=0.027$), belief in the benefits of vaccination ($p=0.011$), and lower complacency ($p=0.048$) were positively associated with COVID-19 vaccination.

This exploratory study highlighted perceptions of vaccine safety, efficacy, and utility in disease prevention as determinants of vaccine confidence among Portuguese HCW. Given the small sample size, the results should be interpreted with caution. The application of the scale to a larger and more diverse population of HCW is essential to validate these findings and to support the development of targeted strategies to strengthen confidence, thereby increasing vaccination uptake.

_Introdução

Os profissionais de saúde (PS) desempenham um papel crucial na promoção e adesão à vacinação, não apenas por meio de sua própria vacinação, mas também pela influência que exercem nas decisões dos seus pacientes. As recomendações feitas por profissionais de saúde são um dos fatores mais determinantes para a aceitação das vacinas pelos doentes, contribuindo para aumentar a cobertura vacinal e a confiança nos programas de imunização (1,2). Neste sentido, os PS são frequentemente considerados agentes-chave na promoção da confiança nas vacinas e na implementação eficaz das políticas de saúde pública (1,2).

Níveis reduzidos de confiança nas vacinas entre PS podem comprometer estes esforços. A hesitação vacinal entre PS pode traduzir-se não apenas em menores taxas de vacinação entre os profissionais de saúde, mas também em recomendações menos consistentes ou menos empenhadas aos doentes, afetando negativamente a adesão à vacinação (3,4).

A confiança nas vacinas é reconhecida como um fenómeno multidimensional, influenciado por fatores psicossociais como a perceção de segurança e eficácia das vacinas, a confiança nas autoridades de saúde, as crenças individuais sobre riscos e benefícios e o nível de complacência face às doenças preveníveis por vacinação (5,6).

Neste contexto, compreender os determinantes psicossociais da confiança nas vacinas entre PS é fundamental para desenvolver estratégias eficazes que promovam a vacinação e reforcem a confiança nos programas de imunização. Apesar da relevância deste tema, ainda existem poucos estudos em Portugal, principalmente num contexto pós-pandemia COVID-19, que explorem sistematicamente estes fatores entre profissionais de saúde.

_Objetivo

Este estudo teve como objetivo descrever os determinantes psicossociais que influenciam a confiança nas vacinas entre os profissionais de saúde em Portugal.

_Materiais e métodos

Desenho do estudo e população

O estudo transversal foi conduzido através da aplicação de um inquérito *online*, entre outubro e novembro de 2024, envolvendo médicos e enfermeiros de uma Unidade Local de Saúde da região Centro de Portugal. A população-alvo incluiu PS em contacto direto com doentes, nomeadamente médicos e enfermeiros.

Instrumento de recolha de dados

A recolha de dados foi realizada através de um questionário *online* composto por 10 itens, correspondendo a uma versão curta e adaptada da escala Pro VC-Be (*Professionals Vaccine Confidence and Behaviors*), validada em contexto nacional para PS (7,8). A escala de 10 itens avalia determinantes da confiança vacinal, incluindo a perceção de segurança das vacinas, a crença nos benefícios das vacinas, a complacência face à doença, a responsabilidade profissional na promoção da vacinação e a confiança nas autoridades de saúde. O questionário incluiu ainda variáveis sociodemográficas (sexo, idade, categoria profissional), hábitos tabágicos, doenças crónicas e toma de medicação bem como informação sobre histórico vacinal pessoal, nomeadamente vacinação contra a COVID-19 e contra a gripe na época 2024/2025, e infeção prévia por SARS-CoV-2.

Análise estatística

A análise estatística consistiu numa análise univariada de forma a fazer a caracterização da amostra estudada, através do cálculo de frequências relativas. Para avaliar as associações entre vacinação contra a COVID-19 (vacinados vs. não vacinados) e os vários determinantes psicossociais foi feita uma análise bivariada utilizando-se o teste exato de Fisher e o teste do qui-quadrado de Pearson, conforme apropriado (9). Além disso, foi realizada uma análise fatorial exploratória (EFA) para verificar a unidimensionalidade da escala Pro VC-Be, cuja adequação foi avaliada com o índice Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) e o teste de esfericidade de Bartlett. Fatores com *eigenvalue* >1 foram considerados dominantes (10) e foi calculado o respetivo *score* através

da soma das pontuações dos 10 itens, cada um avaliado numa escala de 5 níveis, sendo que valores mais elevados refletem atitudes mais favoráveis à vacinação. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$. Todas as análises foram conduzidas utilizando R (versão 4.3).

Considerações éticas

A participação foi voluntária e anónima, garantindo a confidencialidade dos dados, em conformidade com os princípios éticos aplicáveis e com a legislação portuguesa e europeia de proteção de dados pessoais, nomeadamente o Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados (RGPD). O questionário foi anónimo, garantindo que nenhuma informação pessoal identificável fosse recolhida. Todos os participantes forneceram consentimento informado eletrónico antes da participação.

_Resultados

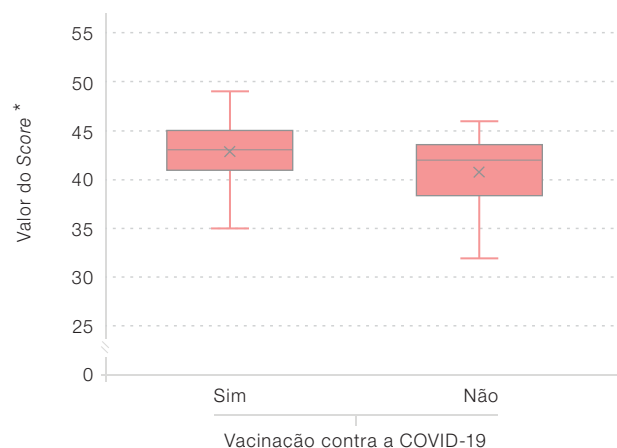
Entre 112 profissionais de saúde (82% do sexo feminino; 71% enfermeiros), a maioria situava-se no grupo etário dos 26–49 anos (63%). Cerca de 40% apresentavam doença crónica e 55% referiram toma regular de medicação. Relativamente aos hábitos tabágicos, 68% eram não fumadores. A maioria reportou infeção prévia por SARS-CoV-2 (82%), sendo que 67% estavam vacinados contra a COVID-19 e 72% contra a gripe, na época 2024/2025 (tabela 1).

Tabela 1: Distribuição das frequências absolutas e relativas de acordo com as características estudadas.

Características	n (%)
Grupo etário (n=112)	
26-49 anos	71 (63)
≥ 50 anos	41 (37)
Sexo feminino (n=112)	92 (82)
Doentes crónicos (n=108)	43 (40)
Tabagismo (n=110)	
Ex-fumador (≥1 ano)	17 (15)
Fumador (habitual ou ocasional)	18 (16)
Não fumador	75 (68)
Toma de medicação (n=112)	62 (55)
Profissão (n=112)	
Enfermeiro	80 (71)
Médico	32 (29)
Vacina contra a COVID-19 na época 2024/2025 (n=112)	75 (67)
Infeção prévia por SARS-CoV-2 (n=112)	92 (82)
Vacina contra a gripe na época 2024/2025 (n=112)	81 (72)

A análise fatorial exploratória (EFA) sugeriu uma estrutura unidimensional, com um fator dominante (Eigenvalue=1,90) explicando 56% da variância. Os PS vacinados apresentaram um valor de *score* de confiança significativamente mais elevado comparativamente aos PS não vacinados (média do *score*=42,9 vs 40,8; $p=0,003$) (figura 1).

Figura 1: Distribuição dos valores do *score* obtidos no grupo de vacinados versus não vacinados contra a COVID-19.



* O *score* corresponde à soma das pontuações dos 10 itens da escala Pro-VC-Be (forma curta), adaptada para Portugal.

artigos breves_ n. 4

As respostas aos 10 itens da escala Pro-VC-Be, adaptada para Portugal, encontram-se apresentadas na **tabela 2**. Observou-se que a perceção de segurança da vacina ($p=0,027$), a crença nos benefícios da vacinação ($p=0,011$) e a menor

complacência ($p=0,048$) se associaram positivamente à vacinação contra a COVID-19. Para os restantes itens da escala, não se identificaram associações estatisticamente significativas com o estado vacinal (**tabela 2**).

Tabela 2: Distribuição das frequências absolutas e relativas das respostas aos 10 itens da escala ProVC-Be, por estado vacinal dos participantes (vacinados contra a COVID-19 versus não vacinados).

	Total n(%)	Vacinados COVID-19 n(%)	Não vacinados COVID-19 n(%)	p
Perceção de risco da vacina: <i>As vacinas são seguras.</i>				0.027
Concordo*	103 (92,0)	72 (96,0)	31 (83,8)	
Discordo**	2 (1,8)	0 (0,0)	2 (5,4)	
Não tenho a certeza	7 (6,3)	3 (4,0)	4 (10,8)	
Complacência: <i>Hoje em dia, algumas vacinas recomendadas pela DGS/ Ministério da Saúde não têm utilidade, uma vez que as doenças que previnem não são graves.</i>				0.048
Concordo*	6 (5,4)	4 (5,3)	2 (5,4)	
Discordo**	103 (92,0)	71 (94,7)	32 (86,5)	
Não tenho a certeza	3 (2,7)	0 (0,0)	3 (8,1)	
Perceção do equilíbrio benefício/risco: <i>Os benefícios das vacinas superam os seus potenciais riscos.</i>				0.011
Concordo*	108 (96,4)	75 (100,0)	33 (89,2)	
Não tenho a certeza	4 (3,6)	0 (0,0)	4 (10,8)	
Importância percebida da responsabilidade coletiva: <i>Recomendo as vacinas do Programa Nacional de Vacinação (PNV) aos meus utentes, pois é essencial para contribuir para a proteção da população (imunidade de grupo).</i>				0.110
Concordo*	110 (98,2)	75 (100,0)	35 (94,6)	
Discordo**	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (2,7)	
Não tenho a certeza	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (2,7)	
Confiança nas autoridades: <i>Confio na Direção-Geral da Saúde (DGS) para garantir que as vacinas são seguras.</i>				0.056
Concordo*	107 (95,5)	74 (98,7)	33 (89,2)	
Discordo**	2 (1,8)	0 (0,0)	2 (5,4)	
Não tenho a certeza	3 (2,7)	1 (1,3)	2 (5,4)	
Compromisso com a vacinação: <i>Estou empenhado em garantir que os meus utentes sejam vacinados.</i>				0.600
Concordo*	110 (98,2)	74 (98,7)	36 (97,3)	
Discordo**	1 (0,9)	1 (1,3)	0 (0,0)	
Não tenho a certeza	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (2,7)	
Auto-eficácia: <i>Sinto-me suficientemente treinado sobre como abordar a questão das vacinas com utentes hesitantes.</i>				0.900
Concordo*	91 (81,3)	61 (81,3)	30 (81,1)	
Discordo**	5 (4,5)	3 (4,0)	2 (5,4)	
Não tenho a certeza	16 (14,3)	11 (14,7)	5 (13,5)	
Abertura aos doentes: <i>Informo os meus utentes sobre os benefícios e riscos das vacinas, tentando não os influenciar.</i>				0.700
Concordo*	95 (84,8)	64 (85,3)	31 (83,8)	
Discordo**	5 (4,5)	4 (5,3)	1 (2,7)	
Não tenho a certeza	12 (10,7)	7 (9,3)	5 (13,5)	
Restrições percebidas: <i>O custo de algumas vacinas é um problema para alguns utentes, e pode impedir-me de as receitar.</i>				0.140
Concordo*	72 (64,3)	52 (69,3)	20 (54,1)	
Discordo**	25 (22,3)	16 (21,3)	9 (24,3)	
Não tenho a certeza	15 (13,4)	7 (9,3)	8 (21,6)	
Confiança relutante: <i>Por vezes posso recomendar vacinas do calendário/programa oficial mesmo que sinta que a política de vacinação não é suficientemente clara.</i>				0.300
Concordo*	52 (46,4)	37 (49,3)	15 (40,5)	
Discordo**	31 (27,7)	22 (29,3)	9 (24,3)	
Não tenho a certeza	29 (25,9)	16 (21,3)	13 (35,1)	

* A categoria "Concordo" inclui as duas categorias "Concordo em parte" e "Concordo totalmente". ** A categoria "Discordo" incluir as duas categorias "Discordo totalmente" e "Discordo em parte".

_Discussão

Os resultados deste estudo exploratório indicam que a confiança nas vacinas entre profissionais de saúde portugueses está fortemente associada a determinantes psicossociais específicos. A análise fatorial exploratória sugere que, nesta amostra, a escala Pro-VC-Be apresentou uma estrutura unidimensional, indicando que os itens da escala avaliaram de forma consistente um constructo central de confiança vacinal. Os profissionais vacinados apresentaram uma média significativamente mais elevada de confiança vacinal em comparação com os PS não vacinados, reforçando a associação entre atitudes positivas face às vacinas e a adesão vacinal observada neste estudo. Entre os determinantes psicossociais, a percepção de segurança das vacinas, a crença nos seus benefícios e a menor complacência mostraram-se significativamente associados à vacinação contra a COVID-19. A literatura identifica percepções de segurança e eficácia como preditores centrais da aceitação vacinal entre PS e estudos anteriores têm demonstrado que influenciam positivamente a probabilidade de os PS receberem e recomendarem vacinas, incluindo confiança na eficácia e segurança das vacinas (11,12).

Apesar de fornecerem evidência relevante, os resultados deste estudo devem ser interpretados com cautela devido ao tamanho da amostra e à predominância de enfermeiros do sexo feminino, o que pode restringir a generalização para a população mais ampla de PS. Contudo, este subgrupo é também o mais representativo no universo de profissionais da unidade estudada. A replicação do estudo com uma amostra maior e mais diversificada, incluindo múltiplas unidades de saúde, será fundamental para validar estes resultados e aprofundar a compreensão dos determinantes da confiança vacinal num contexto mais amplo e representativo. Os dados do presente estudo sugerem a necessidade de estratégias direcionadas aos PS que promovam a confiança nas vacinas, reforçando a importância de abordagens educativas e comunicacionais para aumentar a adesão vacinal neste grupo profissional, com impacto potencial na população em geral.

_Conclusões

Em conclusão, este estudo exploratório identificou fatores psicossociais-chave que influenciam a confiança nas vacinas entre os profissionais de saúde (PS), nomeadamente a confiança na segurança das vacinas, a crença nos seus benefícios e a complacência.

Os resultados devem ser interpretados com cautela devido ao tamanho reduzido da amostra.

A replicação do estudo numa população mais ampla e diversificada de PS é essencial para validar estes resultados que suportam a importância de desenvolver estratégias direcionadas que promovam a confiança nas vacinas.

Referências bibliográficas:

- (1) Drobniewski F, Ashmi M, Kusuma D, et al. Determinants of vaccine hesitancy among healthcare workers in an international multicenter study within the EuCARE project. *Sci Rep.* 2025 Aug 28;15(1):31703. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-17507-y>
- (2) Paterson P, Meurice F, Stanberry LR, et al. Vaccine hesitancy and healthcare providers. *Vaccine.* 2016 Dec 20;34(52):6700-6706. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.10.042>
- (3) Larson HJ, Jarrett C, Eckersberger E, et al. Understanding vaccine hesitancy around vaccines and vaccination from a global perspective: a systematic review of published literature, 2007-2012. *Vaccine.* 2014 Apr 17;32(19):2150-9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.01.081>
- (4) Kaur M, Coppeta L, Olesen OF. Vaccine Hesitancy among Healthcare Workers in Europe: A Systematic Review. *Vaccines (Basel).* 2023 Oct 28;11(11):1657. <https://doi.org/10.3390/vaccines11111657>
- (5) Larson HJ, Clarke RM, Jarrett C, et al. Measuring trust in vaccination: A systematic review. *Hum Vaccin Immunother.* 2018 Jul 3;14(7):1599-1609. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1459252>
- (6) MacDonald NE; SAGE Working Group on Vaccine Hesitancy. Vaccine hesitancy: Definition, scope and determinants. *Vaccine.* 2015 Aug 14;33(34):4161-64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.04.03>
- (7) Garrison A, Fressard L, Karlsson L, et al. Measuring psychosocial determinants of vaccination behavior in healthcare professionals: validation of the Pro-VC-Be short-form questionnaire. *Expert Rev Vaccines.* 2022 Oct;21(10):1505-14. <https://doi.org/10.1080/14760584.2022.2108800>
- (8) Garrison A, Karlsson L, Fressard L, et al. International adaptation and validation of the Pro-VC-Be: measuring the psychosocial determinants of vaccine confidence in healthcare professionals in European countries. *Expert Rev Vaccines.* 2023 Jan-Dec;22(1):726-37. <https://doi.org/10.1080/14760584.2023.2242479>
- (9) Field A. *Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics.* 5th ed. London: Sage Publications, 2018.
- (10) Costello AB, Osborne JW. Best practices in exploratory factor analysis: Four recommendations for getting the most from your analysis. *Pract Assess Res Eval.* 2005;10(7):1-9. <https://doi.org/10.7275/jyj1-4868>
- (11) Christodoulakis A, Bouloukaki I, Aravantinou-Karlatou A, et al. Vaccine Hesitancy and Associated Factors Amongst Health Professionals: A Scoping Review of the Published Literature. *Vaccines (Basel).* 2024 Dec 13;12(12):1411. <https://doi.org/10.3390/vaccines12121411>
- (12) Fakh L, Copas A. COVID-19 vaccine hesitancy among healthcare workers and its associated factors: A systematic review. *Eur J Public Health.* 2023 Oct 24;33(Suppl 2):ckad160.1059. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckad160.1059>

_Autoapreciação do estado de saúde oral na população portuguesa: resultados do painel ECOS (Em Casa Observamos Saúde)

Self-assessment of oral health status in the Portuguese population: Results from the ECOS (Em Casa Observamos Saúde) panel

Helena Krippahl¹, Teresa Fernandes¹, Mariana Neto², Ausenda Machado¹, Cristina Ferreira³, Ana Paula Rodrigues¹

m.helena.krippahl@insa.min-saude.pt

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

(2) Instituto de Saúde Ambiental, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) Unidade de Saúde Oral, Unidade Local de Saúde de São José, Lisboa, Portugal

_Resumo

As doenças orais são um desafio global de saúde pública e contam-se entre as doenças não transmissíveis com maior prevalência e para as quais existem estratégias preventivas eficazes. Por esta razão, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu a importância da carga de doenças orais e reafirmou a importância da saúde oral, incluindo-a na Declaração Política sobre a Cobertura Universal de Saúde (2011).

Com o objetivo de caracterizar a autoapreciação do estado da saúde oral, foram analisados dados provenientes do inquérito realizado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), entre setembro e novembro de 2019, com recurso ao painel ECOS. As estatísticas descritivas, bem como as estimativas de prevalência, foram obtidas com ponderação para a idade, sexo, região e desenho amostral. A recolha de dados foi realizada por entrevista telefónica.

A maioria da população (53,0%) avaliou o seu estado de saúde oral como bom ou muito bom. Esta avaliação positiva foi mais prevalente entre os indivíduos mais jovens (66,2%), com nível secundário de escolaridade (66,8%) e profissionalmente ativos, especialmente, entre os trabalhadores por conta própria (72,4%), sendo inferior a 50% nas mulheres, nas pessoas com ≥65 anos de idade, com nenhum ou o nível básico de escolaridade e em reformados.

Estes resultados evidenciam desigualdades socioeconómicas e sublinham a necessidade de reforçar políticas de prevenção dirigidas aos grupos mais vulneráveis.

_Abstract

Oral diseases are a global public health challenge and are among the most prevalent noncommunicable diseases. However, there are effective preventive strategies for these diseases, which means they are preventable. For this reason, the World Health Organization (WHO) has recognized the importance of the burden of oral diseases and reaffirmed the importance of oral health by including it in the Political Declaration on Universal Health Coverage (2011).

To characterize self-assessment of oral health status, the degree of edentulism, and oral rehabilitation, data from the survey conducted by the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge (INSA) between September and November 2019, in the ECOS panel survey, were analyzed. Descriptive statistics and prevalence estimates were obtained, weighted for age, sex, region, and sample design. Data collection was carried out by telephone interview.

The majority of the population (53.0%) rated their oral health status as good or very good. This positive assessment was more prevalent among younger individuals (66.2%), those with secondary level education (66.8%), and those who were professionally active and, in particular, among self-employed workers (72.4%), being below 50% among women, individuals aged ≥65 years, those with no formal education or only basic education, and retirees. These results highlight socioeconomic inequalities and underline the need to strengthen prevention policies aimed at the most vulnerable groups.

_Introdução

As doenças orais representam um desafio global para a saúde pública e, apesar de serem evitáveis, figuram entre as doenças não transmissíveis mais prevalentes. Por esta razão, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu a importância da carga de doenças orais e reafirmou a importância da saúde oral, incluindo-a na Declaração Política de Liverpool sobre a Cobertura Universal de Saúde (2011) ⁽¹⁾, constituindo um marco relevante neste domínio. Este documento apelava a uma abordagem integrada da saúde oral no contexto da saúde geral. Entre os seus princípios orientadores, destacava-se o compromisso de que os países deveriam garantir o acesso aos cuidados de saúde oral primários, com especial ênfase na prevenção e na promoção da saúde ⁽²⁾.

Apesar disso, a investigação nesta área indica que a carga das doenças orais se manteve praticamente inalterada, em níveis elevados ao longo dos últimos 30 anos, essencialmente devido a mudanças demográficas associadas ao crescimento e envelhecimento da população. O número de pessoas com problemas de saúde oral, não tratadas, aumentou globalmente de 2,5 mil milhões em 1990 para 3,5 mil milhões em 2015 ⁽³⁾.

No entanto, num estudo realizado entre 1990 e 2017, a nível mundial, verificou-se que, apesar do aumento do número absoluto de casos de doenças orais, as taxas padronizadas por idade diminuíram, sugerindo melhorias na prevenção e no tratamento (4). Noutro estudo, realizado entre 1990 e 2021, a prevalência global combinada, padronizada para a idade, das principais condições orais (cárie não tratada, periodontite grave, edentulismo e outras perturbações orais) era de 45 900 por 100 000 habitantes em 2021, com 3,69 mil milhões de pessoas afetadas a nível mundial (5).

Em 2024, a estratégia e o plano de ação 2023-2030 definirão a agenda global de saúde oral da OMS, com o objetivo de reverter o padrão de negligência da saúde oral e melhorar a cobertura e o acesso na população mundial (6). Em 2024, na primeira reunião global de saúde oral da OMS, foi adotada a Declaração de Bangkok, tendo sido estabelecido um compromisso histórico, de integração da saúde oral nas políticas de saúde pública (7).

Em Portugal, a promoção da saúde oral, a prevenção das doenças orais e o acesso aos cuidados de saúde oral são objeto de programa nacional específico, desde 1986, à data, o Programa de Saúde Oral em Saúde Escolar (8). Atualmente, o programa é designado por Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral (PNPSO) e foi regulamentado, pela primeira vez, em 2005, pelo Despacho Ministerial n.º 153/2005 (2.ª série) de 5 de janeiro, e implementado através de uma Circular-Normativa da Direção-Geral da Saúde (DGS) (8), tendo sido sucessivamente atualizado para abranger gradualmente mais grupos da população e alguns grupos-alvo de maior risco e/ou com maior necessidade de apoio para tratamento. Este programa envolve o aproveitamento sinérgico da capacidade instalada para prestação de cuidados de Saúde Oral (SO), quer no setor público, quer no privado, utilizando-a em benefício dos utentes do Serviço Nacional de Saúde (SNS), através de programas e projetos públicos. Deste modo, os utentes do SNS passaram a ter acesso a cuidados de prevenção primária e secundária, prestados em consultórios ou clínicas privadas, através de cheque-dentista, e nos Cuidados de Saúde Primários, através de consultas de higiene oral e/ou de medicina dentária (9-11). Perante este enquadra-

mento, marcado pela persistência da carga global das doenças orais e pelos esforços nacionais de melhoria do acesso aos cuidados de saúde oral, afigura-se pertinente conhecer, numa primeira abordagem, a forma como a população portuguesa perceciona o seu próprio estado de saúde oral.

_Objetivo

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a autoapreciação do estado da saúde oral na população portuguesa com pelo menos 18 anos de idade.

_Materiais e métodos

Os dados para o presente estudo foram recolhidos por entrevista telefónica assistida por computador (*Computer Assisted Telephone Interview - CATI*), no período de 25/09/2019 a 15/11/2019, ou seja, na 3.ª vaga de inquérito ao 6.º painel ECOS (Em Casa Observamos Saúde).

O 6.º painel ECOS foi recrutado em 2018, com amostragem de delineamento probabilístico e multi-etápico, e teve como base as Unidades de Alojamento (UA) de Portugal Continental e Regiões Autónomas, com telefone fixo ou móvel, tendo a amostra sido selecionada de modo a ser representativa da população das Regiões de Saúde (correspondentes às NUTS II de 1989) de Portugal. O número de Unidades de Alojamento (UA), recrutadas em 2018, foi de 1549 UA. Em cada agregado, foi inquirido apenas um elemento, com 18 ou mais anos de idade.

Foi realizada uma análise descritiva dos dados, com o apuramento das frequências absolutas e relativas. As estatísticas descritivas, bem como as estimativas de prevalência, foram ponderadas de acordo com o número de “alojamentos clássicos” distribuídos por Regiões de Saúde, e para a cobertura da rede telefónica fixa e móvel nos alojamentos e na população de Portugal continental e Regiões Autónomas. Os ponderadores foram posteriormente calibrados para a população, estratificada por sexo e grupo etário, referente a 2018 (dados do Instituto Nacional de Estatística - INE). O cálculo dos pesos amostrais foi realizado no programa informático STATA version 15.1 for Windows® (Stata Corp,

College Station, TX, USA). As análises estatísticas foram realizadas no programa informático SPSS Statistics 25 (12). Para todas as prevalências estimadas foram calculados os respetivos intervalos de confiança a 95%, com o nível de significância de 5%.

A precisão das estimativas foi estabelecida pelos valores do coeficiente de variação, de acordo com a seguinte regra (13):

- Coeficiente de variação (CV) $\leq 16,5\%$ - sem restrição na apresentação dos dados;
- Coeficiente de variação $16,5\% < CV \leq 33,3\%$ - valores assinalados com asterisco;
- Coeficiente de variação $> 33,3\%$ - os valores das estimativas não são apresentados;

Foi realizada análise bivariada, tendo-se utilizado a estatística F-modificada, variante do ajustamento de 2.ª ordem do Qui-quadrado de Rao Scott, para testar possíveis associações (14).

Resultados

Na amostra final considerada para esta análise, foram incluídos 870 indivíduos respondentes, o que corresponde a uma taxa de participação de 56%.

A precisão de todas as estimativas obtidas neste estudo foi classificada como elevada (coeficiente de variação $\leq 16,5\%$).

Autoapreciação do estado de saúde oral

Para 53,0% (IC95%: 47,0% - 58,9%) da população, o estado de saúde oral foi avaliado como bom ou muito bom e para 36,5% (IC95%: 31,0% - 42,3%) como razoável. Em 10,5% (IC95%: 7,9% - 14,0%) dos casos, o estado de saúde oral foi avaliado como mau ou muito mau (gráfico 1).

Estimou-se uma prevalência significativamente superior (p -value $< 0,05$), de autoapreciação do estado de saúde oral como bom ou muito bom, entre os homens e os participantes mais jovens (18-44 anos), bem como nos indivíduos com o ensino secundário completo e os trabalhadores por conta própria. Estas prevalências foram inferiores a 50% nas mulheres, nas pessoas

com 65 ou mais anos de idade, entre os que têm nenhum ou o nível básico de escolaridade e em reformados. Os residentes na Região Autónoma (RA) da Madeira e na Região de Lisboa e Vale do Tejo (LVT) tiveram maior prevalência de autoapreciação do estado de saúde oral como bom ou muito bom, quando comparados com o resto do País, mas estas diferenças não foram significativas (p -value=0,699) (tabela 1).

Gráfico 1: Autoapreciação do estado de saúde oral na população portuguesa. Dados da 3.ª vaga do 6.º Painel ECOS (2019).

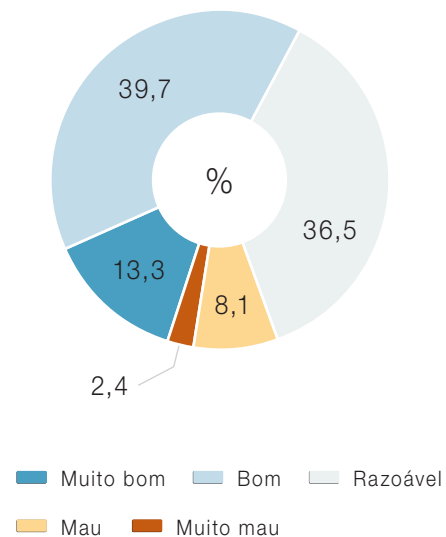


Tabela 1: ↓ Prevalência de indivíduos que autoapreciaram o estado da saúde oral como bom ou muito bom, por sexo, grupo etário, região, nível de escolaridade e situação face ao trabalho, em Portugal. Dados da 3.ª vaga do 6.º painel ECOS (2019).

Variável	Categoria	n (amostra)	% ponderada	% (IC95%)	CV (%)	p-value
Sexo	Masculino	176	60,8	52,2-68,9	7,1	<0,05
	Feminino	248	46,3	38,6-54,1	8,6	
Grupo etário	18-44 anos	132	66,2	54,4-76,3	8,5	<0,05
	45-64 anos	155	42,9	35,2-51,1	9,5	
	≥65 anos	137	44,1	36,2-52,4	9,4	
Região	Norte	61	51,5	39,3-63,5	12,2	0,699
	Centro	50	47,4	36,5-58,5	12,0	
	LVT	59	60,3	47,7-71,7	10,3	
	Alentejo	57	54,7	43,9-65,1	10,0	
	Algarve	54	46,5	34,5-58,9	13,6	
	RA Madeira	65	65,4	54,0-75,2	8,4	
	RA Açores	78	53,3	42,5-63,9	10,4	
Nível de escolaridade	Nenhum ou básico	202	44,7	36,9-52,7	9,1	<0,05
	Secundário	91	66,8	53,6-77,8	9,4	
	Superior	131	57,5	45,6-68,7	10,4	
Situação face ao trabalho	Trabalhador/a por conta própria	43	72,4	56,0-84,4	10,2	<0,05
	Trabalhador/a por conta de outrem	189	55,4	45,8-64,6	8,7	
	Reformado/a	134	41,5	33,7-49,8	10,0	
	Outros (Estudantes, doméstico/a, desempregado/a, etc.)	48	58,3	41,6-73,3	14,3	
Total		424	53,0	47,0-58,9	5,7	<0,05

LVT - Lisboa e Vale do Tejo; RA - Região Autónoma; IC95% - Intervalo de Confiança a 95%; CV - Coeficiente de Variação.

Discussão e conclusões

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a autoapreciação da saúde oral em Portugal varia entre grupos socio-demográficos. Os homens, as pessoas com 18 a 44 anos e aqueles com nível de escolaridade mais elevado tendem a avaliar a sua saúde oral como boa ou muito boa, revelando claros gradientes etários e educacionais. A situação face ao trabalho também evidencia desigualdades: trabalhadores

por conta própria apresentam a melhor autoapreciação da sua saúde oral, enquanto os reformados apresentam a pior. Apesar de existirem diferenças percentuais entre regiões, estas não são estatisticamente significativas, indicando uma distribuição relativamente homogénea no território. No conjunto, pouco mais de metade da população adulta portuguesa (53%) considerou ter uma saúde oral boa ou muito boa.

O Inquérito Nacional de Saúde (INS) de 2019 revelou que 47,8% dos portugueses percecionavam o seu estado de saúde oral como bom ou muito bom, 35,9% como razoável e 15,9% como mau ou muito mau (15), valores dentro da mesma ordem de grandeza dos aqui apresentados. Estes dados contrastam com os dados do Inquérito Europeu de Saúde, de 2019 (16), onde se estimou que 75,8% da população europeia avaliava o seu estado de saúde oral como bom ou muito bom.

Os resultados da 3.ª vaga do 6.º painel ECOS (2019) evidenciam a persistência de diferenças significativas na saúde oral da população adulta portuguesa. A autoapreciação positiva da saúde oral é mais elevada entre adultos mais jovens, com maior escolaridade e inseridos no mercado de trabalho, refletindo determinantes sociodemográficos importantes.

O reforço da aplicação e a continuação do alargamento do Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral, tendo em conta os grupos mais vulneráveis identificados neste estudo (como é o caso das mulheres, pessoas com ≥ 65 anos de idade, com nenhum ou o nível básico de escolaridade e reformados), deve constituir um aspeto prioritário no desenvolvimento de políticas públicas do País, integrando a saúde oral nas estratégias de promoção da saúde em geral.

Referências bibliográficas:

- (1) United Nations General Assembly. Political declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-communicable Diseases (A/66/L.1). Draft resolution submitted by the President of the General Assembly. New York: United Nations, 2011. <https://undocs.org/A/66/L.1>
- (2) International Association for Dental Research, World Health Organization, European Association of Dental Public Health, et al. The Liverpool Declaration: promoting oral health in the 21st century: a call for action [Internet]. 2005. [consult. 3/03/2026]. https://www.who.int/oral_health/events/liverpool_declaration/en/
- (3) Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, et al; GBD 2015 Oral Health Collaborators. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *J Dent Res*. 2017 Apr;96(4):380-87. <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>
- (4) GBD 2017 Oral Disorders Collaborators ; Bernabé E, Marcenes W, Hernandez CR, et al. Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res*. 2020 Apr;99(4):362-373. <https://doi.org/10.1177/0022034520908533>
- (5) GBD 2021 Oral Disorders Collaborators. Trends in the global, regional, and national burden of oral conditions from 1990 to 2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet*. 2025 Mar 15;405(10482):897-910. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02811-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02811-3)
- (6) World Health Organization. Global strategy and action plan on oral health 2023-2030. Geneva: World Health Organization, 2024. <https://iris.who.int/handle/10665/376623>
- (7) World Health Organization. Bangkok Declaration – No Health Without Oral Health: Towards Universal Health Coverage for Oral Health by 2030. Geneva: WHO, 2024. <https://www.who.int/publications/m/item/bangkok-declaration---no-health-without-oral-health>
- (8) Direção Geral da Saúde, Circular Normativa N.º 1/DSE, de 18/01/2025. Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral. https://www.saudeoral.min-saude.pt/sisoPnpsRepo/Despacho_Ministerial_153_2005_de_5_Janeiro.pdf
- (9) Portaria n.º 430/2023, de 12 de dezembro. DR n.º 238/2023, Série I de 2023-12-12. Estabelece as regras de prestação de cuidados de saúde oral personalizados, preventivos e curativos no âmbito do Programa Nacional de Promoção de Saúde Oral. <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/portaria/430-2023-229915934>
- (10) Despacho n.º 8861-A/2018, de 18 de setembro. DR n.º 180/2018, 1º Supl., Série II de 2018-09-18. Define os objetivos para a promoção da saúde oral nos cuidados de saúde primários, no quadro da revisão do Programa Nacional de Promoção de Saúde Oral <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/8861-a-2018-116432978>
- (11) Despacho n.º 8591-B/2016, de 1 de julho. DR n.º 125/2016, 1º Supl., Série II de 2016-07-01. Determina que a Direção-Geral da Saúde deve promover a revisão do Programa Nacional de Promoção de Saúde Oral, até ao dia 29 de julho de 2016, bem como a implementação de consultas de saúde oral, nos cuidados de saúde primários, de forma faseada, através de experiências-piloto. <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/8591-b-2016-74843527>
- (12) IBM, "IBM SPSS Statistics Software for Windows, Version 25," IBM, 2017. IBM Corp. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk (NY): IBM Corp.; 2017.
- (13) European Commission. Special Eurobarometer 330: Oral Health. Brussels: EC, 2010.
- (14) Rao JNK, Scott AJ. The analysis of categorical data from complex sample surveys: chi-squared tests for goodness of fit and independence in two-way tables. *J Am Stat Assoc*. 1981;76(374):221-30. <https://doi.org/10.1080/01621459.1981.10477633>
- (15) Instituto Nacional de Estatística. População residente com 15 e mais anos de idade (n.º) por local de residência (NUTS 2013), sexo, grupo etário e autoapreciação da saúde oral: Inquérito Nacional de Saúde 2019. [Internet] [consult. 2/01/2026]. https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0010152&contexto=bd&selTab=tab2
- (16) England K, Buttigieg D, Calleja N. European Health Interview Survey (EHIS) 2019/2020: health status report [Internet]. Malta: Directorate for Health Information and Research, Ministry for Health, 2022. [consult. 9/03/2026]. [https://deputyprimeminister.gov.mt/en/dhir/Pages/Surveys/European-Health-Interview-Survey2019-\(EHIS\).aspx](https://deputyprimeminister.gov.mt/en/dhir/Pages/Surveys/European-Health-Interview-Survey2019-(EHIS).aspx)

Aplicação do peixe-zebra como modelo para a investigação das doenças mitocondriais

Use of zebrafish as a model for mitochondrial diseases research

Luís Ferreira^{1,3}, Mateus Laranjeira^{2,3}, Jorge M.A. Oliveira^{3,4}, Laura Vilarinho^{2,5}, Célia Nogueira^{2,5}

celia.nogueira@insa.min-saude.pt

(1) Mestrado em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, Portugal

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

(3) Unidade de Biociências Moleculares Aplicadas. Laboratório de Mitocôndria e Neurobiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal

(4) Laboratório Associado i4HB – Instituto para a Saúde e Bioeconomia, Universidade do Porto, Porto, Portugal

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

_Resumo

As doenças mitocondriais (DM) constituem um grupo heterogéneo de doenças hereditárias do metabolismo resultantes de uma deficiente produção de energia causada por mutações no DNA mitocondrial ou nuclear. A sua complexidade genética, aliada à marcada variabilidade clínica, representa um desafio ao diagnóstico definitivo, sobretudo face à identificação frequente de variantes de significado incerto. O peixe-zebra (*Danio rerio*) surgiu como um modelo vertebrado de elevada relevância para o estudo da biologia mitocondrial, devido à sua conservação genética com o ser humano, desenvolvimento embrionário externo, transparência larvar e facilidade de manipulação genética. A aplicação de ferramentas de edição genética, como ZFNs, TALENs, CRISPR-Cas9 e sistemas de edição de base mitocondrial como o DdCBE, permite a modelação precisa de variantes patogénicas. Paralelamente, estratégias de silenciamento genético, incluindo morfólino e quimeras direcionadas ao genoma mitocondrial, possibilitam a modulação temporária e específica da expressão genética. A integração destas abordagens com metodologias de avaliação bioenergética e com linhas transgénicas *reporter* direcionadas à mitocôndria permite a monitorização funcional *in vivo* de parâmetros como estado redox, níveis de ATP, cálcio mitocondrial e mitofagia. Em conjunto, estas estratégias posicionam o peixe-zebra como uma plataforma translacional estratégica para a validação funcional de variantes e para o avanço da medicina de precisão nas DM.

_Abstract

Mitochondrial diseases (MD) comprise a heterogeneous group of inherited metabolic disorders resulting from impaired cellular energy production, caused by alterations in either mitochondrial DNA or nuclear. Their genetic complexity, combined with marked clinical variability, represents significant diagnostic challenges, particularly due to the frequent identification of variants of unknown significance. Zebrafish (*Danio rerio*) has emerged as a highly important vertebrate model for the study of mitochondrial biology, owing to its strong genetic conservation with humans, external embryonic development, larval transparency, and amenability to genetic manipulation. The application of genome editing tools, including ZFNs, TALENs, CRISPR-Cas9, and mitochondrial base editing systems such as DdCBE, enables precise modelling of pathogenic variants. In parallel, gene-silencing strategies,

including morpholinos and chimeras directed to the mitochondrial genome, allow transient and specific modulation of gene expression. The integration of these approaches with bioenergetic assessment methodologies and mitochondria-targeted transgenic reporter lines enables real-time *in vivo* functional monitoring of parameters such as redox state, ATP levels, mitochondrial calcium, and mitophagy. Collectively, these strategies position zebrafish as a strategic translational platform for functional variant validation and for advancing precision medicine in MD.

_Doenças mitocondriais

As mitocôndrias são organelos celulares dinâmicos, presentes no citoplasma das células eucarióticas, onde desempenham um papel fundamental na produção de energia, sendo a fosforilação oxidativa (OXPHOS) responsável pela produção de aproximadamente 90% do ATP celular. No entanto, coordenam também múltiplas vias metabólicas essenciais, como o ciclo dos ácidos tricarbóxicos, a oxidação dos ácidos gordos, a cetogénese, o ciclo da ureia e a gluconeogénese (1).

As Doenças mitocondriais (DM) integram um grupo heterogéneo de doenças hereditárias do metabolismo (DHM), caracterizadas pela deficiência na produção de ATP através da OXPHOS. Estas doenças raras podem surgir em qualquer idade, sendo mais frequentes em crianças, e podem ser causadas por defeitos genéticos quer no DNA mitocondrial (mtDNA) quer no DNA nuclear (nDNA), afetando predominantemente tecidos com elevada exigência energética, como o cérebro, o coração e o músculo esquelético (2).

Estima-se que estas doenças afetem aproximadamente 1 em cada 5000 indivíduos, tornando-as numa das formas mais comuns de DHM (3). Doentes com mutações no nDNA apresentam tipicamente maior morbidade e mortalidade do que aqueles com mutações no mtDNA, e frequentemente apresentam manifestações clínicas mais precoces (nos primeiros anos de vida), uma progressão mais rápida da doença e uma maior manifestação multissistémica (4). Por outro lado, as mutações no mtDNA manifestam-se frequentemente sob a forma de heteroplasmia, ou seja, com coexistência de genomas mitocondriais normais e mutados nas células do doente, e cuja proporção ditará a expressão fenotípica e a gravidade de doença (5).

_DNA mitocondrial

O genoma mitocondrial humano é composto por uma molécula de DNA circular de cadeia dupla que totaliza 16569 pares de bases. Este genoma codifica 37 genes: 13 codificam proteínas fundamentais para a OXPHOS e integram os complexos da cadeia respiratória (I, III, IV e V), e 24 codificam proteínas dedicadas à maquinaria de síntese proteica: 22 RNAs de transferência (tRNAs) e 2 RNAs ribossómicos (rRNAs) (figura 1) (6). Contudo, o funcionamento deste organelo depende fortemente do núcleo, uma vez que cerca de 1500 proteínas mitocondriais são codificadas pelo genoma nuclear e importadas para a mitocôndria após a sua síntese citoplasmática (7).

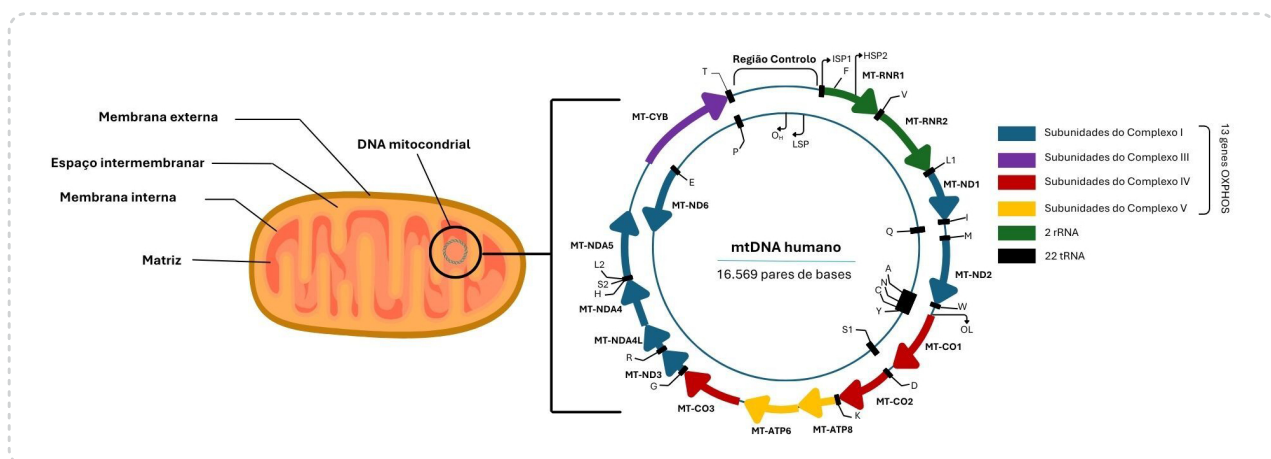
_DNA nuclear

O nDNA desempenha um papel fundamental na biologia da mitocôndria, uma vez que a grande maioria das proteínas necessárias ao funcionamento da mitocôndria são codificadas pelo genoma nuclear. Estas proteínas são sintetizadas no citosol e posteriormente importadas para a mitocôndria através de complexos translocadores especializados localizados nas membranas mitocondriais externa e interna. Consequentemente, mutações nos genes nucleares podem comprometer múltiplos processos essenciais para a função mitocondrial, sendo que, atualmente, mais de 400 genes nucleares foram associados a DM (2). A maioria destas mutações segue um padrão de hereditariedade de Mendel, frequentemente autosómico recessivo, e tende a manifestar-se precocemente na infância (4).

_Potencial do peixe-zebra na investigação das doenças mitocondriais

O zebrafish (*Danio rerio*) é um modelo amplamente utilizado no estudo da biologia mitocondrial, devido à elevada conservação de proteínas mitocondriais em relação aos mamíferos (8). Análises comparativas com o genoma de referência humano indicam que cerca de 70% dos genes humanos encontram, pelo menos, um ortólogo correspondente no peixe-zebra. Para além desta relevância genética, o peixe-zebra oferece vantagens experimentais importantes, incluindo ele-

Figura 1: Estrutura da mitocôndria e organização do genoma mitocondrial humano.



vada fecundidade, rápido desenvolvimento e embriões transparentes com desenvolvimento externo, características que facilitam estudos de imagem *in vivo* e a análise funcional da mitocôndria após manipulação genética (9).

No entanto, ao contrário dos humanos e da maioria dos vertebrados, cerca de 20% do genoma do peixe-zebra passou por um evento de duplicação, originando um ou mais parálogos. Essa duplicação pode dar origem a mecanismos compensatórios após modificações genéticas, o que por vezes mascara fenótipos observáveis (10).

_Estratégias de manipulação genética em peixe-zebra

Atualmente, existem diversas abordagens de manipulação genética para estudos em peixe-zebra, que se dividem fundamentalmente entre a edição e o silenciamento (*knockdown*) genético. A edição genética visa a introdução de alterações permanentes e hereditárias na sequência de DNA, sendo ideal para a criação de linhagens mutantes estáveis. Dentro desta categoria, as nucleases de “dedos de zinco” (ZFNs) e as nucleases efetoras do tipo ativador de transcrição (TALENs) utilizam a nuclease FokI para cortar o DNA em locais específicos, forçando a célula a ativar mecanismos de reparação que podem silenciar genes ou introduzir novas sequências (11). Atualmente, a técnica de eleição para edição genética é o CRISPR-Cas9 (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas), onde é utilizada uma endonuclease (Cas9) em conjunto com uma molécula de RNA guia (*single-guide* RNA: sgRNA) para introduzir quebras no DNA. Esta simplicidade de *design* permite a edição eficiente e simultânea de múltiplos genes, com custos e tempo de execução reduzidos (12).

Uma técnica emergente recorre à geração de mutantes F0 por CRISPR-Cas9, geralmente designados *crispants*. Esta abordagem baseia-se na injeção de três ou mais sgRNAs, promovendo a formação de alelos de perda de função em mosaico na geração F0. As consequências fenotípicas dessas alterações podem ser analisadas diretamente nos primeiros dias dos embriões injetados, constituindo uma alternativa eficaz à utilização de morfolinós (MOs), enquanto não são estabelecidas linhas estáveis (13,14).

Por outro lado, o silenciamento genético atua ao nível do RNA e reduz apenas temporariamente a expressão proteica, sem alterar a sequência genética original. Uma das técnicas é a interferência de RNA (RNAi), que utiliza *short interfering* RNAs (siRNAs) ou *short hairpin* RNAs (shRNAs) para degradar o mRNA alvo ou reprimir a sua tradução. Contudo, a aplicação de RNAi em embriões de *zebrafish* tem demonstrado eficácia limitada e alta variabilidade fenotípica quando comparada com outros modelos animais, devido a dificuldades de toxicidade inespecífica (15). Em contrapartida os MOs permanecem como uma ferramenta de referência para o silenciamento temporário. São análogos sintéticos de ácidos nucleicos que se ligam ao RNA mensageiro alvo, bloqueando a expressão dessa mesma sequência (16). Apesar de serem necessários controlos rigorosos para verificar a toxicidade não específica, a sua utilização é particularmente vantajosa para estudos do desenvolvimento embrionário inicial ou a criação de modelos cujas técnicas de edição genética resultam em letalidade embrionária (17).

_Manipulação e análise funcional do genoma mitocondrial

Para direcionar mutações ao mtDNA são necessárias estratégias especiais, uma vez que as mitocôndrias são constituídas por uma membrana dupla, que é impermeável à maioria dos ácidos nucleicos exógenos, inviabilizando técnicas como o CRISPR-Cas9 ou silenciamento genético convencional. Assim, para garantir a entrada na matriz mitocondrial, tanto as técnicas mt-ZFNs como as mito-TALENs utilizam sequências com péptidos de direcionamento mitocondrial. No caso específico das mtZFNs, é ainda necessária a adição de um sinal de exportação nuclear para impedir que estas atuem no núcleo da célula (18). Estudos demonstram que ambas as técnicas são eficazes na alteração da heteroplasmia do mtDNA, resultando na recuperação fisiológica das células (19).

Atendendo às limitações do CRISPR-Cas9 na edição do genoma mitocondrial e ao carácter destrutivo das abordagens baseadas em ZFNs e TALENs, foi desenvolvida uma estratégia de edição genética sem indução de quebras de dupla cadeia. Este sistema, designado DdCBE (*DddA-derived cytosine base editor*), baseia-se numa citidina desaminase bacteriana

(DddA) dividida em duas subunidades inativas, fundidas a proteínas TALE, que recuperam atividade apenas após ligação à sequência alvo, permitindo a conversão específica de citosinas em timinas (20). Desenvolvimentos recentes aumentaram a eficiência e alargaram o espectro de sequências editáveis, possibilitando a modulação precisa e o estudo funcional de um conjunto mais amplo de variantes patogénicas mitocondriais (21).

Mais recentemente, foram desenvolvidas as quimeras de peptídeo-MO direcionadas às mitocôndrias (pCox4-MO), sendo concebidas para permitir o silenciamento específico e reversível da expressão de genes codificados pelo mtDNA. Estas quimeras combinam um MO com uma sequência peptídica de direção mitocondrial, possibilitando a sua importação para a mitocôndria e o bloqueio seletivo da tradução de mRNAs mitocondriais (22).

Todas as técnicas de manipulação genética anteriormente descritas estão resumidas na **tabela 1**.

Tabela 1: ⚡ Comparação entre técnicas de manipulação genética no peixe-zebra.

Técnica	Alvo	Permanente	Aplicação em mtDNA	Vantagens	Limitações	Referências
ZFNs	DNA	Sim	mtZFNs	Tamanho compacto; Fácil entrega via vetores virais	Alto risco de <i>off-targets</i> ; Complexidade no <i>design</i> das proteínas	(18)
TALENs	DNA	Sim	Mito-TALENs	Alta especificidade de edição e flexibilidade de alvos	Alto custo; Construção difícil e complexa; Tamanho molecular grande.	(18)
CRISPR-Cas9	DNA	Sim	Não	Simple, baixo custo e eficiente	Necessidade da sequência PAM (<i>protospacer adjacent motif</i>); Tempo prolongado para obtenção de linhas estáveis homocigóticas	(12)
CRISPR F0 (<i>crispants</i>)	DNA	Sim (mosaico)	Não	Avaliação fenotípica rápida; Dispensa linhagens estáveis	Mosaicismo; Variabilidade fenotípica; Possíveis mecanismos compensatórios	(14)
RNAi	RNA	Não	Não	Silenciamento pós-transcricional	Alta variabilidade fenotípica; Toxicidade inespecífica	(15)
Morfolinos	RNA	Não	pCox4-MO	Reversível; Rápido estabelecimento de modelos; Bloqueio de tradução ou <i>splicing</i>	Efeito transitório; Toxicidade <i>off-target</i>	(22,23)
DdCBE	DNA	Sim	Sim	Edição precisa, sem quebras de dupla cadeia; Alta eficiência	Limitado a conversões C•G → T•A; Dependência de contexto de sequência (motivo 5'-TC-3')	(21)

_Validação funcional de variantes de significado incerto

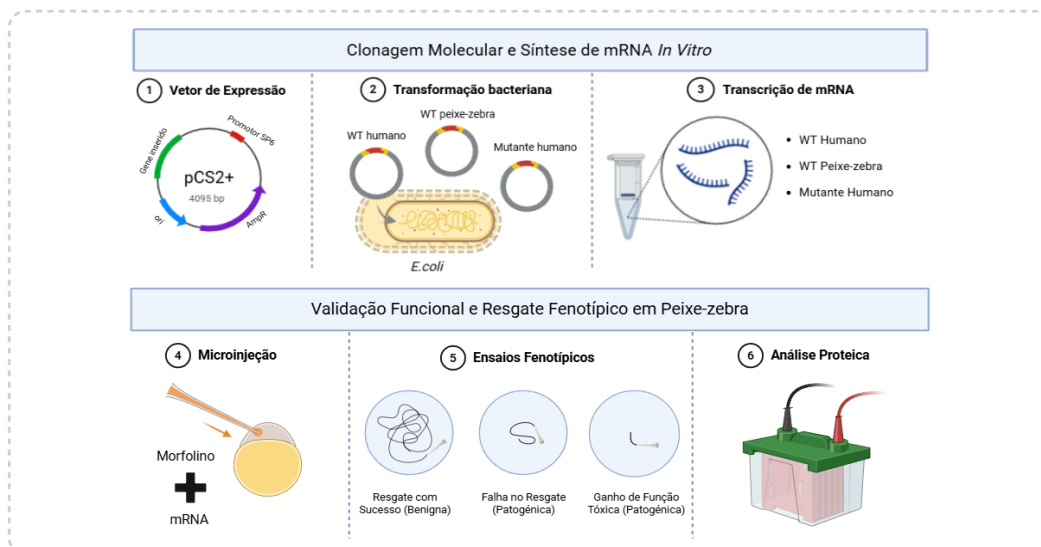
A utilização crescente de tecnologias de sequenciação de nova geração (NGS) conduziu à identificação de um número significativo de variantes de significado incerto (VUS), cuja patogénicidade não pode ser determinada apenas com estudos em bases de dados bioinformáticas ou populacionais. Neste contexto, modelos experimentais tornam-se fundamentais para estabelecer uma ligação causal entre a variante genética e o fenótipo observado (2). Através de ensaios de resgate genético *in vivo*, com o peixe-zebra, torna-se possível introduzir variantes humanas em embriões geneticamente modificados, permitindo determinar, de forma precisa, a patogénicidade ou benignidade de variantes específicas suportando posteriormente a decisão clínica (24). Nestes ensaios, após induzirmos a perda de função de um gene com MO, injetamos nos embriões o mRNA normal desse gene humano. É crucial que estas microinjeções ocorram nos estágios iniciais (1 a 2 células) e que a avaliação fenotípica seja feita até às 48 horas pós-fertilização, devido à degradação natural do mRNA e à diminuição da proteína ao longo do desenvolvimento. Se o fenótipo normal for restaurado, confirmamos que a alteração observada foi devida especificamente à deficiência do gene em estudo. De seguida, testamos a variante identificada no doente, e se não se verificar

a recuperação do fenótipo normal, ou se, pelo contrário, se verificar um ganho de função tóxica, confirma-se o impacto funcional dessa variante. Esta evidência de disfunção fenotípica é crucial para fundamentar a classificação da VUS como patogénica. Complementarmente, podem-se também realizar ensaios ao nível da proteína para aumentar a fiabilidade dos resultados e validar o impacto funcional da VUS (figura 2) (25).

_Avaliação da função mitocondrial *in vivo*

Para validar o impacto funcional das manipulações descritas é crucial quantificar o metabolismo mitocondrial *in vivo*. Em peixe-zebra, esta avaliação recorre frequentemente a duas tecnologias complementares. A análise de fluxo extracelular (Seahorse XF) permite medir, em tempo real, o consumo de oxigénio e a produção de ATP, assim como parâmetros derivados como a capacidade respiratória máxima, a taxa de fuga de protões e a capacidade respiratória de reserva (26). Por outro lado, a respirometria de alta resolução (Oroboros O2k) possibilita uma caracterização bioquímica detalhada, isolando a atividade dos diferentes complexos da cadeia respiratória e identificando quais são responsáveis pelas alterações patológicas observadas. A combinação destas abordagens fornece uma visão funcional abrangente, conectando alterações bioenergéticas a fenótipos específicos (27).

Figura 2: Estratégia experimental para a validação funcional de VUS em peixe-zebra.



Esquema representativo das etapas de clonagem molecular, síntese de mRNA *in vitro* e microinjeção em embriões de peixe-zebra, seguido da avaliação fenotípica. A análise do resgate funcional permite distinguir variantes benignas, variantes patogénicas por perda de função e variantes patogénicas associadas a ganho de função tóxica, podendo ser complementada por análises proteicas.

_Linhas transgênicas *reporter* para monitorização mitocondrial *in vivo*

Para além das abordagens bioquímicas, o peixe-zebra permite a utilização de linhas transgênicas *reporter* direcionadas à mitocondria, possibilitando a monitorização dinâmica dos parâmetros funcionais em tempo real. Estes sistemas baseiam-se na expressão de proteínas fluorescentes em fusão com outras proteínas mitocondriais, permitindo avaliar diretamente o estado redox, a produção de ATP, a dinâmica mitocondrial ou o cálcio intramitocondrial. Entre os exemplos mais utilizados destaca-se a linha mito-roGFP2, sensível ao estado redox mitocondrial e que permite monitorizar alterações na relação glutatona reduzida/oxidada (28). A linha Mit-ATeam possibilita a quantificação da concentração de ATP na matriz mitocondrial (29), enquanto que linhas Mito-GFP permitem a visualização da morfologia e dinâmica da rede mitocondrial (fusão/fissão) (30). Adicionalmente, a linha MTS-Kaede é útil para estudar ao longo do tempo a dinâmica mitocondrial do transporte axonal de subpopulações mitocondriais específicas, uma abordagem importante na investigação de neuropatias periféricas (31). Por sua vez, linhas como as mito-GA possibilitam ainda a monitorização do cálcio mitocondrial, parâmetro crítico na sinalização celular e na fisiopatologia neuronal (32). Por último, a linha mito-Keima constitui uma ferramenta robusta para o estudo da mitofagia, uma vez que altera o seu espectro de excitação consoante o pH, e permite distinguir mitocôndrias funcionais de mitocôndrias em processo de degradação lisossomal (33).

_Do modelo experimental à medicina de precisão

A versatilidade do modelo de peixe-zebra impulsionou avanços significativos na recapitulação de fenótipos clínicos complexos associados às DM. A transparência embrionária, aliada a uma elevada conservação genética, facilita o estudo de patologias como a Atrofia Ótica Dominante, especificamente através da modelação da disfunção mitocondrial no gene *opa1* (34), e de neuropatias periféricas, como a doença de Charcot-Marie-Tooth (35). Adicionalmente, o modelo tem sido crucial na investigação de cardiomiopatias e defeitos na eritropoiese, correlacionando falhas na síntese do heme com

perturbações na fosforilação oxidativa (8). Esta capacidade de mimetizar mecanismos patológicos complexos posiciona o peixe-zebra como um aliado indispensável numa era dominada pela NGS.

_Conclusão

As mitocôndrias são pilares vitais da homeostase celular, cuja disfunção resulta em patologias graves e por vezes fatais, não existindo ainda terapias eficazes para a maioria dos casos.

A utilização do peixe-zebra como modelo biológico, aliada ao desenvolvimento de tecnologias de edição genética, facilita o acesso à medicina de precisão.

Esta sinergia entre o modelo animal e a edição genética avançada é fundamental para transformar diagnósticos incertos em terapias personalizadas, abrindo um caminho promissor para o tratamento das DM.

Referências bibliográficas:

- (1) Monzel AS, Enriquez JA, Picard M. Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction. *Nat Metab.* 2023 Apr;5(4):546-62. <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00783-1>
- (2) Schon KR, Ratnaike T, van den Aamele J, et al. Mitochondrial Diseases: A Diagnostic Revolution. *Trends Genet.* 2020 Sep;36(9):702-17. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.06.009>
- (3) Gorman GS, Schaefer AM, Ng Y, et al. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Ann Neurol.* 2015 May;77(5):753-59. <https://doi.org/10.1002/ana.24362>
- (4) Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 2016 Oct 20;2:16080. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.80>
- (5) Filograna R, Koolmeister C, Upadhyay M, et al. Modulation of mtDNA copy number ameliorates the pathological consequences of a heteroplasmic mtDNA mutation in the mouse. *Sci Adv.* 2019 Apr 3;5(4):eaav9824. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav9824>
- (6) Kotrys AV, Szczesny RJ. Mitochondrial Gene Expression and Beyond—Novel Aspects of Cellular Physiology. *Cells.* 2019 Dec 19;9(1):17. <https://doi.org/10.3390/cells9010017>
- (7) Mahmud S, Biswas S, Afrose S, et al. Use of Next-Generation Sequencing for Identifying Mitochondrial Disorders. *Curr Issues Mol Biol.* 2022 Feb 27;44(3):1127-48. <https://doi.org/10.3390/cimb44030074>
- (8) Steele SL, Prykhozhiy SV, Berman JN. Zebrafish as a model system for mitochondrial biology and diseases. *Transl Res.* 2014 Feb;163(2):79-98. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2013.08.008>
- (9) Teame T, Zhang Z, Ran C, et al. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Anim Front.* 2019 Jun 25;9(3):68-77. <https://doi.org/10.1093/af/vfz020>
- (10) Glasauer SM, Neuhauss SC. Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences. *Mol Genet Genomics.* 2014 Dec;289(6):1045-60. <https://doi.org/10.1007/s00438-014-0889-2>

- (11) Li Y, Jia Z, Zhang S, et al. Progress in Gene-Editing Technology of Zebrafish. *Bio-molecules*. 2021 Sep 1;11(9):1300. <https://doi.org/10.3390/biom11091300>
- (12) Dorner L, Stratmann B, Bader L, et al. Efficient genome editing using modified Cas9 proteins in zebrafish. *Biol Open*. 2024 Apr 15;13(4):bio060401. <https://doi.org/10.1242/bio.060401>
- (13) Cornet C, Di Donato V, Terriente J. Combining Zebrafish and CRISPR/Cas9: Toward a More Efficient Drug Discovery Pipeline. *Front Pharmacol*. 2018 Jul 3;9:703. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00703>
- (14) Kroll F, Powell GT, Ghosh M, et al. A simple and effective F0 knockout method for rapid screening of behaviour and other complex phenotypes. *Elife*. 2021 Jan 8;10:e59683. <https://doi.org/10.7554/eLife.59683>
- (15) Kelly A, Hurlstone AF. The use of RNAi technologies for gene knockdown in zebrafish. *Brief Funct Genomics*. 2011 Jul;10(4):189-96. <https://doi.org/10.1093/bfpp/elr014>
- (16) Aspatwar A. Making sense of carbonic anhydrase function in zebrafish using antisense morpholinos. *Mol Genet Genomics*. 2025 Oct 17;300(1):99. <https://doi.org/10.1007/s00438-025-02303-0>
- (17) Stainier Dyr, Raz E, Lawson ND, et al. Guidelines for morpholino use in zebrafish. *PLoS Genet*. 2017 Oct 19;13(10):e1007000. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007000>
- (18) Gammage PA, Moraes CT, Minczuk M. Mitochondrial Genome Engineering: The Revolution May Not Be CRISPR-ized. *Trends Genet*. 2018 Feb;34(2):101-10. Epub 2017 Nov 24. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.11.001>
- (19) Gammage PA, Rorbach J, Vincent AI, et al. Mitochondrially targeted ZFNs for selective degradation of pathogenic mitochondrial genomes bearing large-scale deletions or point mutations. *EMBO Mol Med*. 2014 Apr;6(4):458-66. <https://doi.org/10.1002/emmm.201303672>
- (20) Mok BY, de Moraes MH, Zeng J, et al. A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing. *Nature*. 2020 Jul;583(7817):631-637. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2477-4>
- (21) Mok BY, Kotrys AV, Raguram A, et al. CRISPR-free base editors with enhanced activity and expanded targeting scope in mitochondrial and nuclear DNA. *Nat Biotechnol*. 2022 Sep;40(9):1378-87. <https://doi.org/10.1038/s41587-022-01256-8>
- (22) Cruz-Zaragoza LD, Dahal D, Koschel M, et al. Silencing mitochondrial gene expression in living cells. *Science*. 2025 Jul 31;389(6759):eadr3498. <https://doi.org/10.1126/science.adr3498>
- (23) Stainier Dyr, Raz E, Lawson ND, et al. Guidelines for morpholino use in zebrafish. *PLoS Genet*. 2017 Oct 19;13(10):e1007000. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007000>
- (24) Nogueira C, Pereira C, Silva L, et al. The genetic landscape of mitochondrial diseases in the next-generation sequencing era: a Portuguese cohort study. *Front Cell Dev Biol*. 2024 Feb 23;12:1331351. <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1331351>
- (25) Laranjeira M, Oliveira JMA, Santorelli FM, et al. Morpholino Knockdown in Zebrafish: A Tool to Investigate the Functional Impact of Variants of Unknown Significance in Mitochondrial Diseases. *Neuromolecular Med*. 2025 Oct 11;27(1):69. <https://doi.org/10.1007/s12017-025-08890-w>
- (26) Raftery TD, Jayasundara N, Di Giulio RT. A bioenergetics assay for studying the effects of environmental stressors on mitochondrial function in vivo in zebrafish larvae. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2017 Feb;192:23-32. Epub 2016 Dec 7. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.12.001>
- (27) Konadu B, Hosler JP, Gibert Y, et al. Analysis of oxygen consumption rates in zebrafish reveals differences based on sex, age and physical activity recovery. *Front Physiol*. 2023 Sep 13;14:1272366. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1272366>
- (28) Panieri E, Millia C, Santoro MM. Real-time quantification of subcellular H2O2 and glutathione redox potential in living cardiovascular tissues. *Free Radic Biol Med*. 2017 Aug;109:189-200. Epub 2017 Feb 10. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.022>
- (29) Kioka H, Kato H, Fujita T, et al. In vivo real-time ATP imaging in zebrafish hearts reveals G0s2 induces ischemic tolerance. *FASEB J*. 2020 Feb;34(2):2041-54. <https://doi.org/10.1096/fj.201901686R>
- (30) Kim MJ, Kang KH, Kim CH, et al. Real-time imaging of mitochondria in transgenic zebrafish expressing mitochondrially targeted GFP. *Biotechniques*. 2008 Sep;45(3):331-34. <https://doi.org/10.2144/000112909>
- (31) Bergamin G, Cieri D, Vazza G, et al. Zebrafish Tg(hb9:MTS-Kaede): a new in vivo tool for studying the axonal movement of mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Jun;1860(6):1247-55. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.03.007>
- (32) Wrighton PJ, Shwartz A, Heo JM, et al. Quantitative intravital imaging in zebrafish reveals in vivo dynamics of physiological-stress-induced mitophagy. *J Cell Sci*. 2021 Feb 22;134(4):jcs256255. <https://doi.org/10.1242/jcs.256255>
- (33) Vicente M, Salgado-Almaro J, Soriano J, et al. Visualization of Mitochondrial Ca2+ Signals in Skeletal Muscle of Zebrafish Embryos with Bioluminescent Indicators. *Int J Mol Sci*. 2019 Oct 30;20(21):5409. <https://doi.org/10.3390/ijms20215409>
- (34) Rahn JJ, Stackley KD, Chan SS. Opa1 is required for proper mitochondrial metabolism in early development. *PLoS One*. 2013;8(3):e59218. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059218>
- (35) Zhou W, Hsu AY, Wang Y, et al. Mitofusin 2 regulates neutrophil adhesive migration and the actin cytoskeleton. *J Cell Sci*. 2020 Sep 4;133(17):jcs248880. <https://doi.org/10.1242/jcs.248880>

Perfil nutricional de produtos panados ultraprocessados congelados disponíveis no mercado português em 2025

Nutritional profile of frozen ultra-processed breaded products available on the Portuguese market in 2025

Roberto Brazão, Paulo Fernandes, Maria da Graça Dias

roberto.brazao@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

Os produtos panados ultraprocessados congelados, nomeadamente as barrinhas de peixe e os *nuggets* de frango, têm vindo a ganhar popularidade em Portugal, particularmente entre as famílias com crianças, devido à sua conveniência, praticidade, aceitação organoléptica e, também, apelo visual. No entanto, o seu ultraprocessamento, que envolve métodos de produção industriais e a utilização regular de ingredientes como farinhas refinadas, intensificadores de sabor, corantes e conservantes artificiais, levanta algumas preocupações do ponto de vista nutricional e de saúde. Adicionalmente, as suas características nutricionais, sobretudo no que se refere ao valor energético e aos teores de lípidos, ácidos gordos saturados e de sal, que tendem a afastá-los de um padrão alimentar saudável, têm suscitado uma crescente apreensão, principalmente quando consumidos com regularidade pelos mais jovens, devido aos potenciais riscos para a saúde a longo prazo.

Neste contexto, procedeu-se à avaliação do perfil nutricional dos alimentos panados ultraprocessados congelados disponíveis no mercado português. Para o efeito, foi recolhida a informação da respetiva composição nutricional de 72 alimentos, a qual foi comparada com os correspondentes valores de referência da Estratégia Integrada para Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS) e do Descodificador de Rótulos da Direção-Geral da Saúde (DGS), bem como, com os valores-limite da legislação nacional relativa às restrições aplicáveis à publicidade alimentar dirigida a menores de 16 anos.

A totalidade (n=72) dos produtos avaliados não estava de acordo com os valores de referência da Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável, devido ao excessivo teor de sal.

Globalmente, além de apresentarem um elevado valor energético médio (219 kcal/100 g), de acordo com o descodificador de rótulos da DGS, mais de 98% dos alimentos apresentavam teores médios ou altos de lípidos e de sal e 36,1% exibiam teores médios de ácidos gordos saturados, com um particular contributo dos produtos panados à base de carne.

Relativamente aos valores-limite referentes às restrições aplicáveis à publicidade alimentar dirigida a menores de 16 anos, verificou-se que 100% dos produtos panados ultraprocessados congelados à base de carne (n=30) estavam acima, enquanto que nos produtos panados à base de peixe (n=42) essa não concordância com os valores definidos foi substancialmente inferior (16,7%; n=7).

Com esta avaliação pretende-se contribuir para o reforço do conhecimento e promoção de escolhas alimentares mais saudáveis, bem como fornecer evidência que possa apoiar a tomada de decisão e a implementação de políticas públicas de saúde relacionadas com a alimentação.

_Abstract

Frozen ultra-processed breaded products, namely fish sticks and chicken nuggets, have been gaining popularity in Portugal, particularly among families with children, due to their convenience, practicality, organoleptic acceptance and visual appeal. However, their ultra-processing, which involves industrial processing methods and the regular use of ingredients such as refined flours, flavour enhancers, artificial colourings and preservatives, raises some concerns from a nutritional and health perspective. In addition, their nutritional characteristics, particularly with regard to energy value and fat and salt contents, which tend to deviate them from a healthy dietary pattern, have generated increasing concern, especially when these products are consumed regularly by younger populations, due to their potential long-term health risks.

In this context, the nutritional profile of frozen ultra-processed breaded foods available on the Portuguese market was assessed. To this end, information on the nutritional composition of 72 products was collected and compared with the corresponding reference values of the Integrated Strategy for the Promotion of Healthy Eating (EIPAS) and the Front-of-Pack Label Decoder of the Directorate-General of Health (DGS), as well as with the limit values established in national legislation regarding restrictions on food advertising directed at children under 16 years.

All food products evaluated (n=72) were not in accordance with the reference values of the Integrated Strategy for the Promotion of Healthy Eating, due to excessive salt content.

Overall, in addition to presenting a high mean energy value (219 kcal/100 g), according to the Directorate-General of Health (DGS) Front-of-Pack Label Decoder, more than 98% of the foods exhibited medium or high levels of fat, saturates and salt, and 36.1% showed medium levels of saturates, with a particularly contribution from meat-based breaded products.

With regard to the limit values relating to the restrictions on food advertising directed at children under 16 years of age, it was observed that 100% of the frozen ultra-processed meat-based breaded products (n=30) were above the established limits, whereas among fish-based breaded products (n=42) the proportion of non-accordance was substantially lower (16.7%; n=7).

With this assessment, we aim to contribute to the strengthening of food knowledge and the promotion of healthier food choices, as well as to provide scientific evidence that may support decision-making and the implementation of public health policies related to food.

_Introdução

O crescente aumento dos alimentos ultraprocessados nas dietas das populações, em todo o mundo, tem prejudicado a saúde pública, agravando várias doenças não transmissíveis crónicas, nomeadamente doenças cardiovasculares, cancro, diabetes e excesso de peso, incluindo a obesidade, e tem contribuído para aprofundar as desigualdades em saúde (1).

No retalho alimentar em Portugal encontram-se atualmente disponíveis múltiplas opções de alimentos de conveniência, frequentemente hiperpalatáveis e que são comercializados de forma muito dinâmica e, em alguns casos, agressiva, incentivando o seu consumo repetido e substituindo, muitas vezes, os alimentos tradicionais. Entre estes produtos, os panados ultraprocessados congelados, como as barrinhas de peixe e os *nuggets* e panados de frango, destacam-se pela sua ampla disponibilidade, facilidade de preparação e elevada aceitação, sendo comumente direcionados ao consumo por famílias com crianças.

Apesar da sua grande popularidade e consumo frequente, estes produtos caracterizam-se, em geral, por elevados níveis de processamento industrial, que podem incluir, por exemplo, a pré-fritura, bem como a utilização de múltiplos ingredientes para além da sua matéria-prima principal (carne ou pescado) em proporções muito variáveis, nomeadamente: farinhas refinadas e amidos, incluindo amidos modificados, óleos vegetais, sal, açúcares adicionados e diversos aditivos alimentares, incluindo corantes, antioxidantes, aromatizantes, espessantes e estabilizantes, que reduzem o seu valor nutricional. Consequentemente, os perfis nutricionais destes alimentos tendem a não estar alinhados com um padrão alimentar mais saudável, sobretudo no que se refere ao valor energético e aos teores de sal, lípidos e ácidos gordos saturados, levantando várias preocupações, principalmente quando o consumo é feito de forma regular e, em particular, pelas crianças e adolescentes.

No âmbito das políticas públicas de alimentação e saúde em Portugal, têm sido definidos diversos objetivos e implementadas várias medidas que visam promover escolhas alimentares mais saudáveis, incentivar um consumo alimentar adequado e proteger grupos populacionais mais vulneráveis, como as crianças, com consequente melhoria do estado nutricional da

população e impacto direto na prevenção e controlo de doenças crónicas (2).

Neste contexto, foram estabelecidos vários referenciais, dos quais se destaca a Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS) (2), que estabeleceu valores de referência para determinadas categorias de alimentos, visando promover a adequação dos seus perfis nutricionais, nomeadamente no que se refere à quantidade de açúcares, sal e ácidos gordos *trans*. Destaca-se, igualmente, o Descodificador de Rótulos da Direção-Geral da Saúde (DGS) (3), cujos valores de referência permitem classificar os teores de lípidos, ácidos gordos saturados, açúcares e sal presentes nos alimentos como baixos, médios ou altos, bem como o Despacho n.º 7450-A/2019 (4), que estabeleceu o modelo de perfil nutricional para a identificação dos géneros alimentícios com elevado valor energético, teor de sal, açúcares, ácidos gordos saturados e ácidos gordos *trans*, para efeitos de aplicação da Lei n.º 30/2019 (5), relativa às restrições aplicáveis à publicidade alimentar dirigida a menores de 16 anos. Este perfil nutricional contempla valores-limite diferenciados para alguns parâmetros nutricionais, consoante a tipologia de alimentos, nomeadamente para produtos à base de carne e de pescado (5).

A monitorização do perfil nutricional dos produtos panados ultraprocessados congelados disponíveis no mercado português reveste-se, assim, de particular relevância, tendo em conta a grande variedade e disponibilidade destes produtos no mercado nacional, inclusivamente em cadeias de restauração rápida (não contempladas no presente estudo), o espaço que estes alimentos têm vindo a ocupar nos hábitos alimentares dos portugueses, em particular entre os mais novos, bem como as suas características nutricionais. Esta avaliação permite analisar a sua adequação face aos referenciais/legislação nacional em vigor, bem como a um padrão alimentar saudável. O conhecimento do perfil nutricional destes produtos possibilita, adicionalmente, identificar oportunidades de reformulação por parte da indústria alimentar e apoiar a definição e/ou ajustamento de políticas públicas nas áreas da alimentação, rotulagem e publicidade alimentar, bem como a implementação de iniciativas de literacia alimentar dirigidas à população.

_Objetivos

Avaliar o perfil nutricional de produtos panados ultraprocessados congelados disponíveis no mercado português, procurando contribuir para o reforço da literacia alimentar da população, para a promoção de escolhas alimentares mais informadas, assim como para a tomada de decisão e desenvolvimento de políticas alimentares mais adequadas.

_Métodos

Realizou-se a recolha da informação nutricional e do teor (%) de carne e de pescado de diversos produtos panados ultraprocessados congelados disponíveis no mercado português. Os dados foram obtidos em 2025, a partir dos rótulos/informação nutricional disponível nos *websites* de empresas de comércio e distribuição alimentar nacionais.

Após o registo, processamento e análise da informação disponível, procedeu-se à comparação de determinados parâmetros nutricionais com os correspondentes valores de referência definidos na (EIPAS) (2) e no Descodificador de Rótulos da DGS (3) (figura 1).

Realizou-se, adicionalmente, a comparação dos dados recolhidos com os valores-limite definidos no modelo de perfil nutricional publicado no Despacho n.º 7450-A/2019, da DGS (4) (tabela 1), que visa estabelecer os produtos alimentares alvo de restrições à publicidade dirigida a menores de 16 anos, conforme estipulado na Lei n.º 30/2019 (5). Esta comparação possibilitou, por um lado, avaliar a adequação dos produtos a um padrão alimentar saudável e, por outro, determinar a sua elegibilidade ou inelegibilidade para serem publicitados a menores de 16 anos.

Neste estudo não se consideraram os valores referentes aos ácidos gordos *trans* e à fibra, dado que a declaração destes componentes nutricionais não é obrigatória, o que impossibilitou a recolha dessa informação.

Figura 1: A - Valores de referência da EIPAS para produtos alimentares em geral e para sopas e pratos de refeição em particular (adaptado de: Despacho n.º 11418/2017, de 29 de dezembro de 2017 (2)). B - Descodificador de Rótulos da DGS - alimentos por 100 g e por 100 ml (3).

A		Valores de referência da EIPAS (2) (g/100g ou 100ml)	
		Açúcares	Sal
Categoria de alimentos	Objetivos da EIPAS		
Produtos alimentares em geral	Atingir os valores de referência definidos pelo Regulamento (CE) n.º 1924/2006 (6), relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, para alimentos com baixos teores de açúcares e de sal.	≤ 5 (sólidos) ≤ 2,5 (líquidos)	≤ 0,3

B		ALIMENTOS por 100g				BEBIDAS por 100ml											
		GORDURA (Lípidos)	GORDURA SATURADA	AÇÚCARES	SAL	GORDURA (Lípidos)	GORDURA SATURADA	AÇÚCARES	SAL								
ALTO	mais de	17,5g	mais de	5g	mais de	22,5g	mais de	1,5g	ALTO	mais de	8,75g	mais de	2,5g	mais de	11,25g	mais de	0,75g
MÉDIO	entre	3 e 17,5g	entre	1,5 e 5g	entre	5 e 22,5g	entre	0,3 e 1,5g	MÉDIO	entre	1,5 e 8,75g	entre	0,75 e 2,5g	entre	2,5 e 11,25g	entre	0,3 e 0,75g
BAIXO	3g ou menos	1,5g ou menos	5g ou menos	0,3g ou menos	BAIXO	1,5g ou menos	0,75g ou menos	2,5g ou menos	0,3g ou menos								

Tabela 1: Excertos da tabela de perfil nutricional para identificação dos géneros alimentícios com elevado valor energético, teor de sal, açúcar, ácidos gordos saturados e ácidos gordos *trans*, correspondentes aos alimentos em estudo (adaptado de: Despacho n.º 7450-A/2019, de 21 de agosto de 2019, da DGS ⁽⁴⁾).

O elevado valor energético, teor de sal, açúcar, ácidos gordos saturados e ácidos gordos <i>trans</i> deve ser considerado quando exceder, por 100 g ^a							
Categoria de alimentos	Incluídos na categoria (exemplos)	Ácidos gordos saturados (g)	Açúcar Total (g)	Açúcar adicionado (g)	Sal (g)	Ácidos gordos <i>trans</i> (g)	Valor energético (kcal)
Preparados de carne e produtos à base de carne	Salsichas, fiambre, presunto, bacon; <i>nuggets</i> de frango; pré-preparados de carne	1,5	5	—	0,3	2	40
Transformados/conservas de pescado	Peixes fumados; peixes em conserva de salmoura ou óleos; pré-preparados de pescado; barrinhas de pescado; filetes de peixe pré-fritos panados	1,5	5	—	1,3	2	—

Resultados

Avaliou-se um conjunto de 72 produtos panados ultraprocesados congelados, sendo 30 (41,7%) à base de carne e 42 (58,3%) à base de pescado. Verificou-se que, quando avaliados conjuntamente os teores de açúcares e de sal, conforme definido na EIPAS, 100% dos produtos excediam os correspondentes valores de referência, exclusivamente devido ao teor de sal uma vez que não se observaram excedências relativamente aos açúcares (gráfico 1).

Em paralelo, procedeu-se à determinação da média, do desvio-padrão e do intervalo (mínimo-máximo) dos parâmetros nutricionais recolhidos, globalmente para todos os produtos panados ultraprocesados e, ainda, separadamente para os panados à base de carne e à base de pescado, procurando avaliar de forma mais completa o seu perfil nutricional. Verificou-se que os produtos à base de pescado apresentavam um perfil nutricional médio mais adequado do que seus homólogos à base de carne, nomeadamente devido aos teores mais baixos de lípidos, ácidos gordos saturados, sal e energia (gráfico 2). Observou-se, ainda, uma considerável variabilidade entre os produtos analisados (tabela 2) em vários parâmetros nutricionais.

Gráfico 1: Concordância dos produtos panados ultraprocesados congelados com os valores de referência da EIPAS.

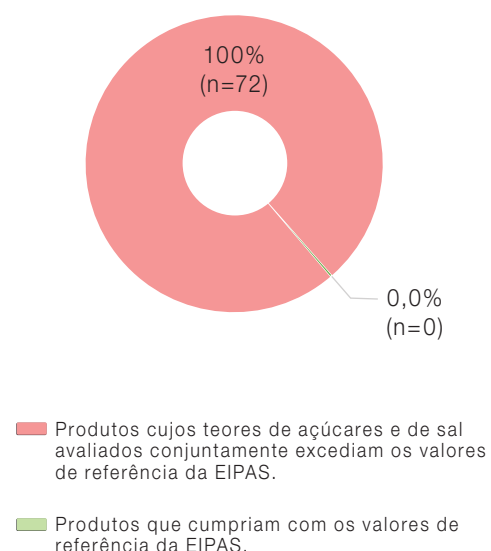


Gráfico 2: ↓ Valores nutricionais médios dos produtos panados ultraprocessados congelados à base de carne e à base de pescado.

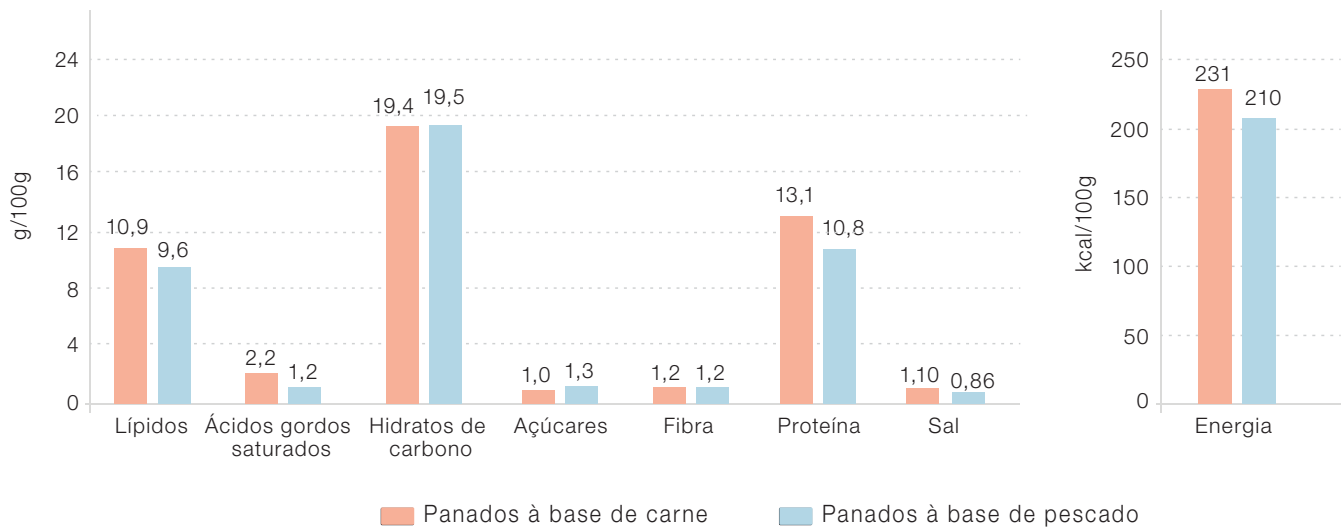


Tabela 2: ↓ Estatísticas dos parâmetros nutricionais avaliados para produtos em estudo, globalmente e, igualmente, considerando em separado os produtos panados ultraprocessados congelados à base de carne e os produtos panados ultraprocessados congelados à base de pescado.

		Lípidos	Ácidos gordos saturados	Hidratos de carbono	Açúcares	Fibra*	Proteína	Sal	Energia
		g/100g							kcal/100g
Produtos panados no global	Média	10,1	1,6	19,5	1,2	1,2	11,8	0,96	219
	Desvio-padrão	2,7	0,8	8,4	0,9	0,7	2,5	0,32	42
	(Min-Máx)	1,3 – 17,1	0,3 – 4,4	6,4 – 79,3	0,0 – 4,4	0,0 – 4,1	5,9 – 18,0	0,38 – 1,93	138 – 442
Panados à base de carne	Média	10,9	2,2	19,4	1,0	1,2	13,1	1,10	231
	Desvio-padrão	2,8	0,9	4,8	0,9	0,8	2,6	0,32	33
	(Min-Máx)	1,3 – 16,0	0,4 – 4,4	6,4 – 26,0	0 – 4,4	0 – 4,1	8,4 – 18,0	0,50 – 1,93	141 – 280
Panados à base de pescado	Média	9,6	1,2	19,5	1,3	1,2	10,8	0,86	210
	Desvio-padrão	2,4	0,5	10,3	0,8	0,5	1,9	0,28	46
	Intervalo	6,5 – 17,1	0,3 – 2,5	8,4 – 79,3	0,5 – 4,4	0,5 – 2,7	5,9 – 14,0	0,38 – 1,70	138 – 442

* As estatísticas apresentadas para este parâmetro nutricional são referentes a um número de produtos inferior à amostra total de produtos panados ultraprocessados congelados analisados.

Considerando os valores nutricionais de referência estabelecidos no Descodificador de Rótulos da DGS (3), verificou-se que globalmente mais de 98% dos alimentos apresentavam teores médios ou altos de lípidos e de sal e 36,1% exibiam teores médios de ácidos gordos saturados, com um particular contributo dos produtos panados à base de carne (70%) (figura 2).

Analisando os produtos em separado, observou-se que 13,3% (n=4) dos panados à base de carne e 4,8% (n=2) dos panados à base de pescado apresentavam teores altos de sal. Em ambas as tipologias verificou-se, ainda, que as percentagens de alimentos com baixo teor de açúcares foi de 100% (figura 2).

Relativamente ao modelo de perfil nutricional definido pela DGS no Despacho n.º 7450-A/2019 (4), verificou-se que 100% (n=30) dos produtos panados à base de carne não estavam de acordo com os valores-limite definidos, não estando, por isso, alinhados com um padrão alimentar saudável e sendo classificados como não aptos para serem publicitados a crianças. Em contraste, nos produtos panados à base de pescado observou-se uma elevada concordância com os

valores-limite estabelecidos, correspondente a 83,3% (n=35) dos produtos, o que os enquadra num padrão alimentar saudável e aptos para publicidade dirigida a crianças (gráfico 3). Este resultado está diretamente associado a um enquadramento menos restritivo no que se refere aos valores-limite definidos na legislação para esta tipologia de produtos, em linha com as orientações de saúde pública que visam promover um maior consumo de pescado pela população.

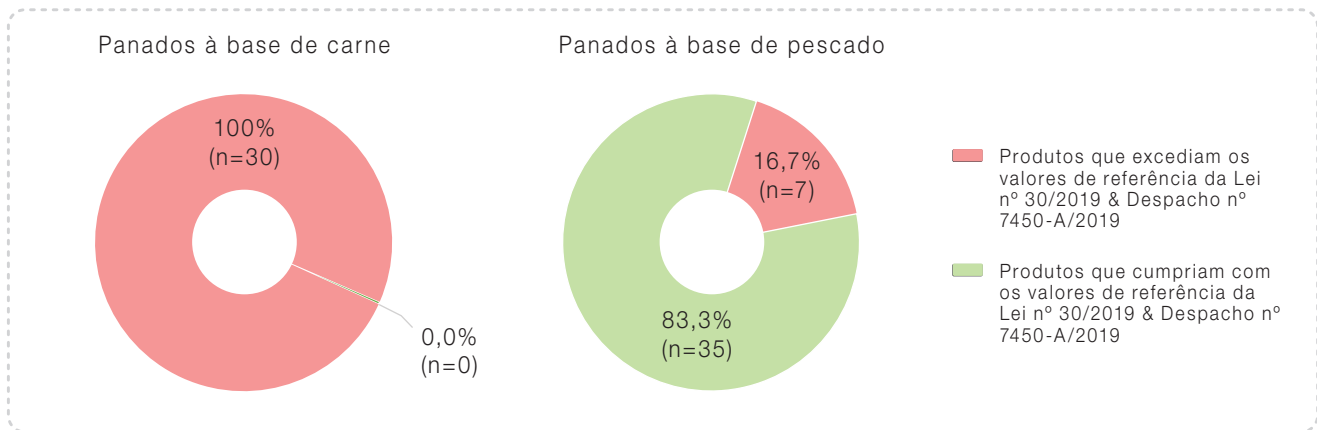
A análise dos parâmetros nutricionais definidos no perfil legislado evidenciou a grande variabilidade existente entre os produtos estudados, que é mais pronunciada nos produtos panados ultraprocessados congelados à base de carne. Verificou-se, igualmente, que estes produtos à base de carne excederam de forma consistente os valores-limite para os ácidos gordos saturados, sal e energia. Por outro lado, nos produtos à base de pescado, a maioria cumpriu com os limites estabelecidos, sendo os ácidos gordos saturados o principal fator de não conformidade, seguido do teor de sal.

Figura 2: Percentagens de produtos alimentares com teores “Alto”, “Médio” e “Baixo”, correspondentes aos diferentes parâmetros nutricionais avaliados, tendo em consideração os valores de referência do Descodificador de Rótulos da DGS (3), para os produtos panos ultraprocessados congelados no global e separadamente – panados à base de carne e panados à base de pescado.

Produtos panados no global					
n=72	Lípidos	Ácidos gordos saturados	Açúcares	Sal	
Alto	0,0%	0,0%	0,0%	8,3%	
Médio	98,6%	36,1%	0,0%	91,7%	
Baixo	1,4%	63,9%	100,0%	0,0%	

Panados à base de carne					Panados à base de pescado				
n=30	Lípidos	Ácidos gordos saturados	Açúcares	Sal	n=42	Lípidos	Ácidos gordos saturados	Açúcares	Sal
Alto	0,0%	0,0%	0,0%	13,3%	Alto	0,0%	0,0%	0,0%	4,8%
Médio	96,7%	70,0%	0,0%	86,7%	Médio	100,0%	11,9%	0,0%	95,2%
Baixo	3,3%	30,0%	100,0%	0,0%	Baixo	0,0%	88,1%	100,0%	0,0%

Gráfico 3: ↓ Concordância dos produtos panados ultraprocessados congelados, por tipologia – panados à base de carne e panos à base de pescado, com os valores-limite da Lei n.º 30/2019 ⁽⁵⁾ / Despacho n.º 7450-A/2019 ⁽⁴⁾.



Finalmente, no que se refere à análise ao teor de carne e de pescado nos produtos panados ultraprocessados congelados, com base na informação disponibilizada nos rótulos, observou-se que o teor médio nos panados à base de carne foi de 50% (mínimo: 30%; máximo: 87%), enquanto que nos panados à base de pescado foi de 56% (mínimo: 40%; máximo: 70%). A proporção de carne ou pescado declarada sugere que uma parte significativa da composição destes produtos panados corresponde a outros ingredientes, reforçando a importância de uma leitura atenta dos rótulos pelos consumidores no momento de compra, nomeadamente no que se refere à sua composição para além das frações de carne ou pescado.

_Conclusão

Nenhum dos produtos analisados estava de acordo com os critérios da EIPAS ⁽²⁾, devido ao teor excessivo de sal. Verificou-se, igualmente, que percentagens muito consideráveis destes alimentos apresentavam alto valor energético e teores médios ou altos de lípidos, ácidos gordos saturados e sal, com maior expressão nos produtos panados à base de carne em comparação com os panados à base de pescado, sobretudo no que se refere aos ácidos gordos saturados.

A concordância com os valores-limite definidos no perfil nutricional estabelecido pela Direção-Geral da Saúde (DGS) (Despacho n.º 7450-A/2019) ⁽⁴⁾ foi nula para os produtos panados à base de carne, o que evidencia a sua inadequação

para serem publicitados a menores de 16 anos, devido a características nutricionais não alinhadas com um padrão alimentar saudável. Os valores-limite mais frequentemente não atendidos dizem respeito aos teores de ácidos gordos saturados e de sal e ao valor energético. Por outro lado, 83,3% dos produtos panados à base de pescado cumpriram com os valores-limite definidos, sendo, assim, aptos a serem publicitados a crianças e alinhados com um padrão alimentar adequado, facto que resulta de um enquadramento legislativo mais permissivo para esta tipologia de produtos no que se refere a alguns dos parâmetros nutricionais avaliados.

Os resultados obtidos evidenciaram, ainda, uma elevada variabilidade dos valores nutricionais, mais relevante nos produtos panados à base de carne. Além disso, verificou-se que, para esta tipologia de produtos, o teor médio de carne foi de 50%, enquanto que nos panados à base de pescado o teor médio foi de 56%.

A realidade observada expõe uma grande margem de oportunidade para a reformulação destes produtos por parte da indústria alimentar, de modo a apresentarem perfis nutricionais mais equilibrados e saudáveis, bem como a eventual necessidade de revisão dos valores-limite definidos na legislação relativa à publicidade dirigida a crianças menores de 16 anos, no que se refere aos produtos panados à base de pescado, além da importância do reforço de iniciativas de literacia e educação alimentar.

Referências bibliográficas:

- (1) The Lancet. Ultra-processed foods: time to put health before profit. Lancet. 2025 Dec 6;406(10520):2601. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(25\)02322-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(25)02322-0)
- (2) Despacho n.º 11418/2017, de 29 de dezembro. DR n.º 249, Série II de 2017-12-29:29595-98. Aprova a Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS). <https://files.diariodarepublica.pt/2s/2017/12/249000000/2959529598.pdf>
- (3) Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável. Descodificador de Rótulos [online]. <https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/descodificador-de-rotulos/>
- (4) Despacho n.º 7450-A/2019. DR n.º 159, Série II (Supl. 1), 2019-08-21:335-(2)-(5). Determina os valores a ter em conta na identificação de elevado valor energético, teor de sal, açúcar, ácidos gordos saturados e ácidos gordos trans. <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/7450-a-2019-124097542>
- (5) Lei n.º 30/2019, de 23 de abril. DR n.º 79, Série I:2257-58 Introduce restrições à publicidade dirigida a menores de 16 anos de géneros alimentícios e bebidas que contenham elevado valor energético, teor de sal, açúcar, ácidos gordos saturados e ácidos gordos transformados. <https://data.dre.pt/eli/lei/30/2019/04/23/p/dre/pt/html>
- (6) Regulamento (CE) N.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de dezembro de 2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos. JO L 404 de 30.12.2006, pp. 9-25. <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1924/oj>

Características nutricionais e saudabilidade global de alimentos processados de base vegetal: análise do mercado português em 2025

Nutritional characteristics and overall healthiness of plant-based processed foods: an analysis of the Portuguese market in 2025

Roberto Brazão, Paulo Fernandes, Maria da Graça Dias

roberto.brazao@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

A crescente procura por produtos alimentares mais saudáveis e sustentáveis, registada a nível global, tem contribuído para o aumento da oferta de alimentos processados de base vegetal, que servem de alternativas aos produtos de origem animal.

Apesar dos benefícios para a saúde de uma dieta à base de produtos vegetais, estes alimentos apresentam, por vezes, limitações nutricionais e a sua disponibilização na forma processada e ultraprocessada pode apresentar formulações e características nutricionais inadequadas a um padrão alimentar saudável.

Neste âmbito, procurando avaliar as características nutricionais e a saudabilidade geral de alimentos processados de base vegetal disponíveis no mercado português, procedeu-se à recolha e à comparação de dados da respetiva composição nutricional com os valores de referência da Estratégia Integrada para Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS) e do descodificador de rótulos da Direção-Geral da Saúde (DGS). Paralelamente, fez-se a comparação com os valores nutricionais de produtos análogos de origem animal do mercado nacional.

Foram avaliados 452 produtos de base vegetal e 958 análogos de origem animal, distribuídos por 9 categorias alimentares. Observou-se que 92,9% dos produtos de base vegetal não estavam de acordo com os valores de referência da EIPAS, quando avaliados conjuntamente os teores de açúcares e de sal, comparativamente a 87,2% dos produtos de origem animal. Os alimentos processados de base vegetal apresentaram frequentemente teores médios de energia, hidratos de carbono, fibra e sal superiores aos observados nos análogos de origem animal, mas níveis mais baixos de ácidos gordos saturados, açúcares e proteínas.

De acordo com o descodificador de rótulos da DGS, 17,7%, 18,1% e 29,0% das alternativas de base vegetal no mercado português apresentaram teores altos de lípidos, ácidos gordos saturados e sal, respetivamente.

Os resultados deste estudo destacam uma grande variabilidade em vários parâmetros nutricionais, tanto entre como dentro das categorias de alimentos, e evidenciam que nem todos os alimentos de base vegetal apresentam um perfil nutricional equilibrado, apesar de serem frequentemente percecionados como mais saudáveis. Neste contexto, reforça-se a necessidade de implementar ações concretas de saúde pública e iniciativas de sensibilização dos consumidores em relação a este tipo de alimentos, incluindo medidas de reformulação de produtos, de rotulagem, de tributação de produtos não saudáveis, de potenciais restrições ao marketing, bem como de promoção da literacia alimentar dos consumidores.

_Abstract

The growing global demand for healthier and more sustainable food products has contributed to an increased availability of plant-based processed foods, often presented as alternatives to animal-origin products.

Despite the health benefits of a plant-based diet, these foods may present nutritional limitations, and their availability in processed or ultra-processed forms can result in formulations and nutritional characteristics that are inadequate for a healthy eating pattern.

In this context, seeking to assess the nutritional characteristics and overall healthiness of processed plant-based processed foods available in the Portuguese market, data on their nutritional composition were collected and compared with the reference values of the Portuguese Integrated Strategy for the Promotion of Healthy Eating (EIPAS) and of the Directorate-General for Health (DGS) Label Decoder. In parallel, comparisons with the nutritional values of analogous animal-origin food products available on the national market were made.

A total of 452 plant-based products and 958 animal-origin counterparts were evaluated across 9 food categories. It was observed that 92.9% of the plant-based products did not meet the EIPAS reference values when sugar and salt contents were evaluated jointly, compared with 87.2% of the animal-origin products. Plant-based processed foods frequently presented higher average levels of energy, carbohydrates, fibre and salt than their animal-origin counterparts, but lower levels of saturates, sugars and protein. According to the DGS Label Decoder, 17.7%, 18.1% and 29.0% of the plant-based food alternatives on the Portuguese market had high levels of fat, saturates and salt, respectively.

The results of this study highlight a substantial variability in multiple nutritional parameters, both between and within food categories, and show that not all plant-based foods have a balanced nutritional profile, despite being often perceived as healthier. In this context, the need to implement concrete public health actions and consumer awareness initiatives regarding these foods is reinforced, including measures on product reformulation, labelling, taxation of unhealthy products, potential marketing restrictions, and promotion of consumer's food literacy.

_Introdução

A procura de produtos alimentares mais saudáveis, sustentáveis e ambientalmente responsáveis tem vindo a aumentar por todo o mundo, impulsionada por razões relacionadas com a saúde, mudanças climáticas, impacto ambiental, bem-estar animal e sustentabilidade (1,2). Estas preocupações têm contribuído decisivamente para o desenvolvimento e comercialização acelerada de uma multiplicidade de novos alimentos processados de base vegetal (1), produzidos com uma grande diversidade de ingredientes, incluindo legumes, leguminosas, proteínas de cereais, frutos secos, sementes, condimentos, especiarias, temperos e aromatizantes, podendo ainda ser enriquecidos com diversas vitaminas e compostos bioativos (3).

Estes alimentos de base vegetal caracterizam-se pela total ausência de ingredientes de origem animal na sua composição, bem como, na maioria dos casos, pela adoção de formatos, designações e características organolépticas o mais aproximadas possível das dos produtos de origem animal que pretendem substituir (4). Com esta abordagem procuram apresentar-se como uma alternativa real, válida e eficaz a estes últimos, podendo contribuir para um consumo alimentar mais saudável e sustentável e, conseqüentemente, para a proteção das pessoas e do ambiente.

No geral, uma dieta predominantemente de base vegetal, com baixo teor de sal, gorduras saturadas e açúcares adicionados, é recomendada como parte de um estilo de vida saudável (5). Contudo, apesar dos benefícios para a saúde, sustentabilidade e ambiente associados à substituição de produtos de origem animal por alimentos de base vegetal, existem preocupações com as possíveis deficiências nutricionais em dietas estritamente vegetais e, simultaneamente, com o aumento da disponibilidade destes produtos na forma processada e ultraprocessada, desenvolvidos para responder à crescente procura dos consumidores (6).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os produtos processados e ultraprocessados de base vegetal estão a crescer em popularidade e a tornar-se amplamente disponíveis na região europeia da OMS, no entanto, faltam dados

sobre a qualidade nutricional e os impactos na saúde decorrentes do consumo desses alimentos (7). Esta Organização reforça, inclusivamente, que algumas destas alternativas vegetais da carne, pescado e laticínios, frequentemente apresentadas como mais saudáveis do que os análogos de origem animal, podem não o ser, uma vez que muitas se classificam como ultraprocessadas, contendo elevada densidade energética e altos teores de sal, gorduras saturadas e açúcares livres, juntamente com carências em fibra, vitaminas e minerais, componentes normalmente encontrados em alimentos não processados (incluindo os de origem animal) e em alimentos à base de plantas minimamente processados (8).

Alguns estudos recentes demonstraram que muitos alimentos de base vegetal presentes no mercado são ultraprocessados (1,9,10) e que o consumo destes produtos está associado a um maior risco de doenças cardiovasculares, diabetes e mortalidade, em contraste com os alimentos de base vegetal minimamente processados (11,12). Os potenciais impactos negativos incluem também malnutrição, excesso de peso, obesidade, distúrbios gastrointestinais, hipertensão e cancro (1,9).

As vendas de produtos de base vegetal em Portugal cresceram 20% entre 2020 e 2022, atingindo 64,7 milhões de euros (13). Embora Portugal permaneça entre os mercados europeus com menor volume (12.º lugar) (13), este crescimento, associado ao reconhecimento de que muitos destes alimentos apresentam uma qualidade nutricional inadequada, podendo agravar o consumo de lípidos, açúcares e sal pela população portuguesa, reforça a importância de avaliar o seu perfil nutricional e a sua saudabilidade geral.

O Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável (PNPAS), alinhado com as recomendações da OMS e da Comissão Europeia (CE), estabelece que a indústria alimentar deve disponibilizar alimentos de elevado valor nutricional e de baixa densidade energética, com teores reduzidos de açúcares e de sal e com um teor reduzido ou nulo de ácidos gordos *trans* (14). Apesar destas metas não serem dirigidas especificamente a produtos de base vegetal, aplicam-se transversalmente a todos os alimentos disponíveis no mercado.

Neste contexto, torna-se relevante caracterizar a realidade do mercado português no que se refere a estes alimentos processados de base vegetal, procurando aprofundar o conhecimento sobre a sua qualidade nutricional e fornecer evidência que apoie a definição de políticas de saúde pública e a promoção de escolhas alimentares mais saudáveis.

_Objetivos

Avaliar as características nutricionais e a saudabilidade geral de alimentos processados de base vegetal disponíveis no mercado português, através da comparação dos teores de vários componentes nutricionais com os correspondentes valores de referência definidos na Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável ⁽¹⁵⁾ (açúcares ≤ 5 g/100 g para sólidos e $\leq 2,5$ g/100 ml para líquidos; e sal $\leq 0,3$ g/100 g) e no descodificador de rótulos da Direção-Geral da Saúde ⁽¹⁶⁾ (figura 1), bem como, paralelamente, com os valores nutricionais de produtos análogos de origem animal existentes no nosso mercado, procurando caracterizar a realidade nacional atual.

Figura 1: Descodificador de rótulos da DGS - alimentos por 100 g ⁽¹⁶⁾.

ALIMENTOS por 100g				
	GORDURA (Lípidos)	GORDURA SATURADA	AÇÚCARES	SAL
ALTO	mais de 17,5g	mais de 5g	mais de 22,5g	mais de 1,5g
MÉDIO	entre 3 e 17,5g	entre 1,5 e 5g	entre 5 e 22,5g	entre 0,3 e 1,5g
BAIXO	3g ou menos	1,5g ou menos	5g ou menos	0,3g ou menos

_Métodos

Realizou-se a recolha da informação nutricional – energia (kcal), lípidos (g), ácidos gordos saturados (g), hidratos de carbono (g), açúcares (g), fibra (g), proteínas (g) e sal (g), por 100 g/100 ml; de 452 alimentos processados de base vegetal (ABVeg global) e de 958 produtos análogos de origem animal (AOA global), tendo-se agrupado estes alimentos em nove categorias alimentares (tabela 1). A categorização dos produtos de base vegetal foi feita independentemente de os

produtos procurarem imitar alimentos provenientes de vaca, porco, aves, borrego, cabra ou pescado.


Os dados dos produtos alternativos à carne, pescado e laticínios, bem como os seus equivalentes de origem animal foram recolhidos, de forma aleatória, entre janeiro entre 2022 e 2023, em *websites* nacionais de empresas do comércio e distribuição alimentar e de lojas especializadas em produtos biológicos, vegetarianos, veganos e de comida saudável. Na ausência de algum dos componentes obrigatórios da declaração nutricional, a informação em falta foi obtida, sempre que possível, a partir dos *websites* dos fabricantes.

Procedeu-se, posteriormente, à análise e avaliação das características nutricionais e da saudabilidade geral dos alimentos processados de base vegetal, através da comparação dos teores de açúcares e de sal recolhidos com os correspondentes valores de referência definidos na EIPAS ⁽¹⁵⁾ – açúcares ≤ 5 g/100 g para sólidos e $\leq 2,5$ g/100 ml para líquidos; e sal $\leq 0,3$ g/100 g (limiares alinhados com os valores definidos pelo Regulamento (CE) n.º 1924/2006 ⁽¹⁷⁾, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, para alimentos com baixo teor de açúcar e de sal). Foram também analisados os teores de vários componentes nutricionais (energia, lípidos, ácidos gordos saturados, hidratos de carbono, açúcares, fibra, proteína e sal) e, quando aplicável, comparados os valores obtidos com os valores de referência do descodificador de rótulos da DGS ⁽¹⁶⁾ (figura 1). Em paralelo, compararam-se os mesmos parâmetros nutricionais com os produtos equivalentes de origem animal. Considerando as diferenças relevantes do perfil nutricional existentes entre as alternativas de base vegetal não lácteas e as lácteas, o mesmo sucedendo para os correspondentes produtos análogos de origem animal, estas avaliações foram também feitas separadamente para cada subtipo de alimentos definido: alternativas de base vegetal não lácteas (ABVeg); alternativas de base vegetal lácteas (ABVeg láct); produtos análogos de origem animal não lácteas (AOA); e produtos análogos lácteas de origem animal (AOA láct).

De salientar que as refeições prontas de base vegetal e os produtos que não pretendem replicar alimentos de origem animal, nomeadamente o *tofu*, o *tempeh* e os *falafel* não foram considerados. A categoria dos produtos de base vegetal alternativos aos iogurtes (logVeg) e a categoria dos iogurtes (log) incluem produtos sólidos e líquidos, no entanto, para efeitos deste estudo, consideramos todos como sendo sólidos e, igualmente, que 100 ml é equivalente a 100 g, pelo que, desse modo, o valor de referência da EIPAS tido em consideração para os açúcares foi 5 g/100 g.

Dado que a indicação da fibra na declaração nutricional presente nos rótulos dos alimentos não é obrigatória (Regulamento n.º 1169/2011 (18)), não foi possível a recolha dessa informação para um grande número de produtos estudados. Deste modo, para assegurar uma avaliação completa dos alimentos, foi determinado o teor médio de fibra por categoria alimentar, considerando os valores nutricionais disponíveis.

A análise estatística detalhada dos resultados, incluindo uma comparação entre mercado português e o mercado do Reino Unido, encontra-se desenvolvida num artigo internacional previamente publicado (19).

Tabela 1:  Categorias alimentares definidas para os produtos alternativos de base vegetal e produtos análogos de origem animal. Abreviaturas correspondentes e descrição dos alimentos de base vegetal incluídos em cada categoria.

Categorias* Vegetal ↔ Animal	Abreviaturas		Descrição das categorias de origem vegetal**
	Vegetal	Animal	
Hambúrgueres	HambVeg	Hamb	Produtos alternativos à carne ou pescado que imitam hambúrgueres.
Salsichas	SalsVeg	Sals	Produtos alternativos à carne que imitam salsichas.
Chouriço & produtos similares	EnchVeg	Ench	Produtos alternativos à carne que mimetizam chouriço, <i>pepperoni</i> , linguiça, morcela e produtos afins.
<i>Nuggets</i> & douradinhos & panados	NugVeg	Nug	Alternativas à carne ou pescado que imitam <i>nuggets</i> , panados, escalopes, douradinhos.
Almôndegas	AlmdgVeg	Almdg	Alternativas à carne ou pescado que imitam almôndegas.
Carne & carne picada & tiras de carne	CarnPVeg	CarnP	Alternativas à carne ou pescado que imitam carne picada, bifes, filetes, tiras, rolo, <i>kebab</i> .
Fiambre & produtos de charcutaria	CharcVeg	Charc	Alternativas à carne que mimetizam fiambre, bacon, salame, <i>pastrami</i> e outros produtos similares.
Queijos	QueijVeg	Queij	Alternativas ao queijo que mimetizam a sua textura, sabor e formato, nomeadamente creme, barra, fatias, granulado, ralado.
Iogurtes	logVeg	log	Alternativas aos iogurtes sólidos ou líquidos e aos produtos à base de iogurte.

* Nomenclatura utilizada para as categorias de produtos de origem animal que foi replicada para as alternativas de base vegetal.

** A descrição das categorias de origem animal consiste na definição direta dos produtos que as alternativas de base vegetal descritas na tabela procuram imitar.

_Resultados

Foram avaliados 452 produtos processados de base vegetal: 134 HambVeg; 40 SalsVeg; 40 EnchVeg; 33 NugVeg; 23 AlmdgVeg; 13 CarnPVeg; 18 CharcVeg; 51 QueijVeg; 100 logVeg; tendo-se verificado que 98,7% (n=297) dos produtos alternativos de base vegetal não lácteos e 81,5% (n=123) dos produtos alternativos de base vegetal lácteos não estavam de acordo com os valores de referência da EIPAS, definidos para os teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente (**gráfico 1**). Analisando a totalidade dos produtos de base vegetal recolhidos, verificou-se que 92,9% (n=420) não estavam de acordo com esses valores de referência (**gráfico 1**), comparativamente a 87,2% (n=853) dos produtos análogos de origem animal.

Somente quatro das nove categorias alimentares estudadas apresentaram produtos processados de base vegetal dentro dos valores de referência da EIPAS para os teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente: HambVeg (0,7%, n=1); EnchVeg (7,5%, n=3); QueijVeg (3,9%, n=2); e logVeg (26,0%, n=26) (**gráfico 2**). Entre os alimentos análogos de origem animal, observou-se esta concordância em cinco categorias: Hamb (14,4%, n=13); Almdg (9,5%, n=2); CarnP (17,6%, n=3); Queij (1,0%, n=1); e log (25,2%, n=104) (**gráfico 3**).

Procurando avaliar os produtos processados de base vegetal de forma mais completa, no que se refere ao perfil nutricional e à sua saudabilidade geral, e aprofundar a comparação com os produtos análogos de origem animal, foram calculadas a média, o desvio-padrão e o intervalo (mínimo - máximo) dos vários parâmetros nutricionais recolhidos. Esta análise foi realizada para ambas as tipologias de produtos, de forma global e por subtipo - não lácteos e lácteos - (**tabela 2**).

Na comparação por tipologia de produtos, os alimentos processados de base vegetal (ABVeg global) apresentaram teores médios de energia (197 kcal/100 g), lípidos (11,0 g/100 g), hidratos de carbono (13,0 g/100 g), fibra (3,6 g/100 g) e sal (1,16 g/100 g) superiores aos observados para os produtos de origem animal (AOA global). Apesar da sua maior densidade energética (197 kcal/100 g vs. 160 kcal/100 g), verificou-se que os valores médios de ácidos gordos saturados (3,6 g/100

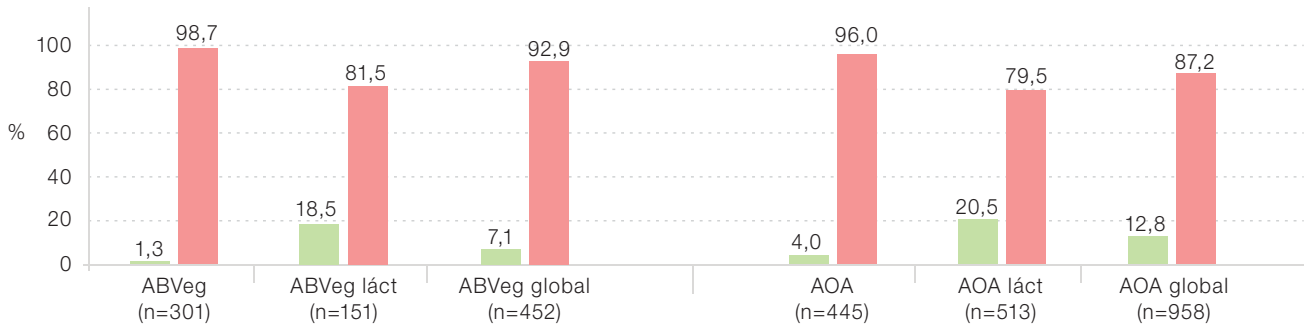
g) e de açúcares (2,9 g/100 g) eram inferiores aos dos seus análogos de origem animal (4,6 g/100 g e 4,5 g/100 g, respetivamente) (**tabela 2**). Verificou-se, ainda, que os produtos de base vegetal (ABVeg global) apresentaram um teor médio de proteínas inferior aos análogos de origem animal (AOA global) (10,1 g/100 g vs. 10,9 g/100 g), no entanto, e apesar de expectável, essa diferença não era muito expressiva. De salientar que, para ambas as tipologias de alimentos, as médias dos teores de açúcares (2,9 g/100 g e 4,5 g/100 g) eram inferiores ao valor de referência da EIPAS (≤ 5 g/100 g), enquanto as médias dos teores de sal (1,16 e 1,04 g/100 g) eram consideravelmente superiores ao respetivo valor de referência ($\leq 0,3$ g/100 g) (**tabela 2**). De acordo com a definição de “baixo valor energético” (≤ 40 kcal/100 g), constante do Regulamento (CE) n.º 1924/2006 (17), nenhuma das tipologias pode assumir essa classificação.

No que se refere à comparação pelos respetivos subtipos - não lácteos (ABVeg e AOA) e lácteos (ABVeg láct e AOA láct) - os alimentos de base vegetal não lácteos (ABVeg) apresentaram teores médios mais elevados de energia, hidratos de carbono, açúcares e fibra do que os seus equivalentes de origem animal (AOA), enquanto mostraram teores médios mais baixos de ácidos gordos saturados e sal (**tabela 2**), podendo indicar uma vantagem nutricional. Por outro lado, em comparação com os seus análogos lácteos de origem animal (AOA láct), as alternativas vegetais lácteas (ABVeg láct) apresentaram, em média, um perfil nutricional menos favorável, com teores médios mais elevados de energia, gordura, ácidos gordos saturados, hidratos de carbono e sal, apesar de um teor médio de açúcares mais baixo (**tabela 2**).

Nos produtos processados de base vegetal, incluindo os subtipos não lácteos e lácteos, observou-se um teor médio de proteína inferior e um teor médio de fibra superior em comparação com os seus equivalentes de origem animal (**tabela 2**).

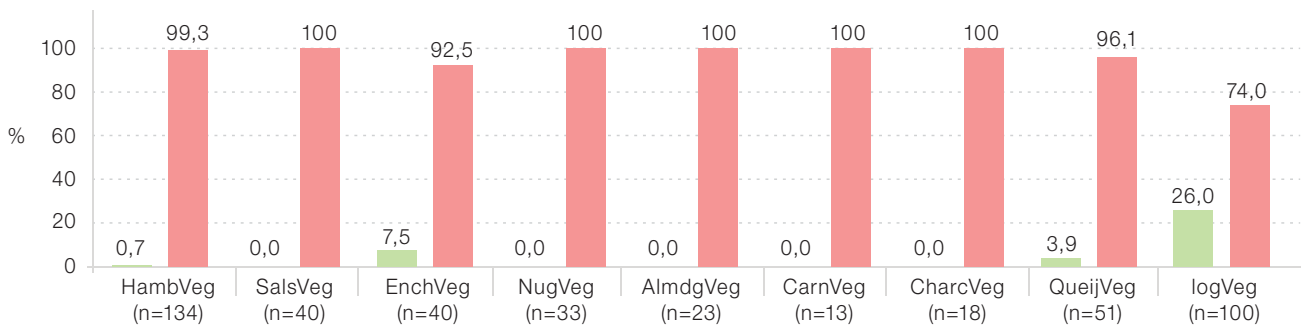
Para ambas as tipologias de produtos e respetivos subtipos lácteos e não lácteos, verificou-se que os intervalos de valores energéticos e de teores dos vários nutrientes avaliados são notavelmente amplos, refletindo uma elevada variabilidade nutricional e de saudabilidade.

Gráfico 1: Concordância dos alimentos processados de base vegetal (ABVeg global) e dos alimentos análogos de origem animal (AOA global) com os valores de referência da EIPAS, incluindo os subtipos de alimentos não lácteos (ABVeg e AOA) e lácteos (ABVeg láct e AOA láct).



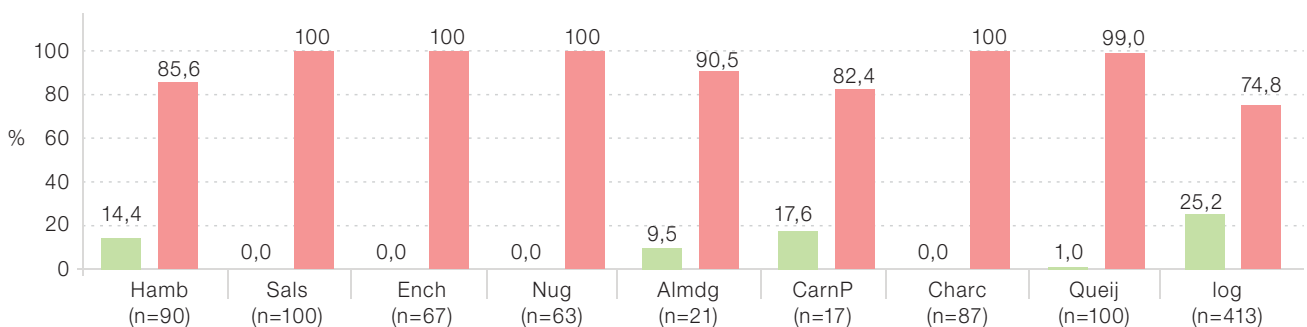
■ Produtos que estão de acordo com os valores de referência da EIPAS para os teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente
 ■ Produtos cujos teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente excedem os valores de referência da EIPAS

Gráfico 2: Concordância dos produtos processados de base vegetal (ABVeg global) com os valores de referência da EIPAS, por categorias alimentares.



■ Produtos que estão de acordo com os valores de referência da EIPAS para os teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente
 ■ Produtos cujos teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente excedem os valores de referência da EIPAS

Gráfico 3: Concordância dos produtos análogos de origem animal (AOA global) com os valores de referência da EIPAS, por categorias alimentares.



■ Produtos que estão de acordo com os valores de referência da EIPAS para os teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente
 ■ Produtos cujos teores de açúcares e de sal avaliados conjuntamente excedem os valores de referência da EIPAS

Tabela 2: Estatísticas dos parâmetros nutricionais recolhidos e avaliados para as diferentes tipologias de produtos em estudo – produtos processados de base vegetal (ABVeg global) e produtos análogos de origem animal (AOA global) – e para os respetivos subtipos – não lácteos (ABVeg e AOA) e lácteos (ABVeg láct e AOA láct).

Tipo/subtipo de alimento	Parâmetros nutricionais	Energia	Lípidos	Ácidos gordos saturados	Hidratos de carbono	Açúcares	Fibra*	Proteínas	Sal
	Estatísticas	kcal	g/100g						
ABVeg global	Média	197	11,0	3,6	13,0	2,9	3,6	10,1	1,16
	Desvio-padrão	85	7,7	5,4	9,0	3,0	3,0	8	0,80
	Intervalo	35 – 648	0 – 56,0	0 – 26,0	0 – 47,1	0 – 14,0	0 – 23,0	0 – 35,0	0,01 – 3,60
	n	452	452	452	452	452	332	452	452
ABVeg	Média	216	11,1	2	13,2	2	4,5	13,7	1,42
	Desvio-padrão	48	5,1	2,4	9	1,4	3	7	0,62
	Intervalo	104 – 358	0 – 31	0 – 19	0,5 – 47,1	0 – 5,8	0 – 23	0,7 – 35	0,03 – 3,60
	n	301	301	301	301	301	246	301	301
ABVeg láct	Média	160	10,7	6,6	12,7	4,8	1,2	3	0,64
	Desvio-padrão	96	4,6	3,5	12	4,5	1	2	0,15
	Intervalo	35 – 648	1,3 – 56	0,2 – 26	0 – 45	0 – 14	0 – 8,6	0 – 20	0,01 – 3,50
	n	151	151	151	151	151	86	151	151
AOA global	Média	160	9,7	4,6	7,1	4,5	0,5	10,9	1,04
	Desvio-padrão	110	10,6	5,6	6,2	5	0,8	7,6	1,10
	Intervalo	8 – 629	0 – 65,0	0 – 28,0	0 – 34,5	0 – 20,8	0 – 7,8	1,8 – 38,0	0 – 6,50
	n	958	958	958	958	958	411	958	958
AOA	Média	208	13,4	4,9	5,9	0,9	0,9	15,6	1,80
	Desvio-padrão	99	10,4	4,2	7,2	0,8	1	4,8	1,08
	Intervalo	8 – 469	0 – 41	0 – 28	0 – 21,7	0 – 20,8	0 – 3,6	1,8 – 33	0,04 – 3,70
	n	445	445	445	445	445	177	445	445
AOA láct	Média	118	6,4	4,3	8,1	7,6	0,3	6,9	0,38
	Desvio-padrão	101	9,6	6,5	5	5	0,5	7,3	0,57
	Intervalo	8 – 469	0 – 41	0 – 28	0 – 21,7	0 – 20,8	0 – 3,6	1,8 – 33	0,04 – 3,70
	n	513	513	513	513	513	234	513	513

* O número total de produtos para o teor em fibra difere do número de produtos para os outros componentes nutricionais avaliados, devido ao facto de não ser obrigatório a sua indicação na declaração nutricional (Regulamento n.º 1169/2011⁽¹⁹⁾).

A utilização dos valores de referência do descodificador de rótulos da DGS (figura 1) permitiu determinar as percentagens de produtos de base vegetal (ABVeg global) e dos correspondentes análogos de origem animal (AOA global), incluindo os subtipos não lácteos e lácteos, classificados como altos, médios e baixos em gordura (lípidos), gordura saturada (ácidos gordos saturados), açúcares e sal (tabela 3).

Considerando os valores nutricionais de referência estabelecidos no descodificador de rótulos da DGS (16) (figura 1), verificou-se que a percentagem de produtos de base vegetal classificados como tendo um 'Alto' teor de gordura (lípidos) e gordura saturada (ácidos gordos saturados) foi inferior à dos seus análogos de origem animal. Esta tendência verificou-se tanto na comparação da globalidade de produtos (ABVeg global vs. AOA global) – respetivamente: 17,7% vs. 20,7% para a gordura e 18,1% vs. 31,0% para a gordura saturada – como na comparação restrita aos subtipos não lácteos (ABVeg vs. AOA) – respetivamente: 12,6% vs. 25,6% para gordura e 6,6% vs. 40,7% para a gordura saturada (tabela 3). No caso dos subtipos lácteos, esta tendência não se verificou, observando-se uma maior percentagem de produtos de base vegetal lácteos (ABVeg láct) com 'Alto' teor para ambos os parâmetros face aos seus análogos lácteos de origem animal (AOA láct) – respetivamente: 27,8% vs. 16,4% para gordura e 41,1% vs. 22,6% para a gordura saturada (tabela 3). De salientar que os produtos análogos de origem animal apresentaram uma proporção consideravelmente maior de alimentos com 'Baixo' teor de gordura (lípidos) em comparação com os alimentos de base vegetal, quer globalmente quer pelos subtipos analisados – ABVeg global vs. AOA global (15,0% vs. 41,0%); ABVeg vs. AOA (2,0% vs. 16,2%); e ABVeg láct vs. AOA láct (41,1% vs. 62,6%) (tabela 3).

No que se refere aos açúcares, verificou-se que nenhum produto (0,0%), quer de base vegetal quer de origem animal, foi classificado como tendo 'Alto' teor (tabela 3). No geral, a percentagem de produtos classificados como tendo um 'Baixo' teor em açúcares foi superior nos alimentos de base vegetal comparativamente aos seus equivalentes de origem animal, com exceção feita (de forma muito ligeira) para os subtipos não lácteos (ABVeg = 97,0% vs. AOA = 99,8%) (tabela 3).

Relativamente ao sal, e no que se refere à globalidade dos produtos de base vegetal (ABVeg global), verificou-se que a percentagem de alimentos classificados como tendo "Alto" teor foi a mais expressiva entre os quatro parâmetros nutricionais avaliados, atingindo (29,0%) e sendo praticamente idêntica à percentagem observada para os análogos de origem animal (AOA global = 28,4%). Na comparação dos subtipos de alimentos, verificou-se que a percentagem de produtos não lácteos de base vegetal (ABVeg) com teor 'Alto' de sal é consideravelmente inferior à dos seus análogos não lácteos de origem animal (AOA) (33,2% vs. 54,6%, respetivamente), enquanto que nos subtipos lácteos, as alternativas de base vegetal (ABVeg láct) apresentaram uma percentagem consideravelmente superior relativamente aos equivalentes lácteos de origem animal (20,5 vs. 5,7%, respetivamente). Tal como observado para a gordura (lípidos), os produtos análogos de origem animal apresentaram uma proporção superior de alimentos classificados como de 'Baixo' teor em sal comparativamente às alternativas de base vegetal, sendo essa diferença bastante substancial tanto para os produtos no global (ABVeg global = 22,1% vs. AOA global = 45,0%) como para os subtipos lácteos (ABVeg láct = 63,3% vs. AOA láct = 80,5%).

Estes resultados refletem igualmente a grande discrepância de valores existente para os vários parâmetros nutricionais avaliados, tanto nos produtos processados de base vegetal como nos produtos análogos de origem animal.

Tabela 3: Estatísticas dos parâmetros nutricionais recolhidos e avaliados para as diferentes tipologias de produtos em estudo – produtos processados de base vegetal (ABVeg global) e produtos análogos de origem animal (AOA global) – e para os respetivos subtipos – não lácteos (ABVeg e AOA) e lácteos (ABVeg láct e AOA láct).

Parâmetros nutricionais	Tipo/subtipo de alimento	Alimentos processados de base vegetal			Produtos análogos de origem animal		
	Classificação do teor nutricional	ABVeg global (n=452)	ABVeg (n=301)	ABVeg láct (n=151)	AOA global (n=958)	AOA (n=445)	AOA láct (n=513)
Gordura (Lípidos)	Alto (>17,5 g)	17,7%	12,6%	27,8%	20,7%	25,6%	16,4%
	Médio (>3 – ≤17,5 g)	67,3%	85,4%	31,1%	38,3%	58,2%	21,1%
	Baixo (≤3 g)	15,0%	2,0%	41,1%	41,0%	16,2%	62,6%
Gordura saturada (Ácidos gordos saturados)	Alto (>5 g)	18,1%	6,6%	41,1%	31,0%	40,7%	22,6%
	Médio (>1,5 – ≤5 g)	28,3%	34,6%	15,9%	24,5%	29,2%	20,5%
	Baixo (≤1,5 g)	53,5%	58,8%	43,0%	44,5%	30,1%	56,9%
Açúcares	Alto (>22,5 g)	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	Médio (>5 – ≤22,5 g)	17,9%	3,0%	47,7%	32,7%	0,2%	60,8%
	Baixo (≤5 g)	82,1%	97,0%	52,3%	67,3%	99,8%	39,2%
Sal	Alto (>1,5 g)	29,0%	33,2%	20,5%	28,4%	54,6%	5,7%
	Médio (>0,3 – ≤1,5 g)	48,9%	65,4%	15,9%	26,6%	41,3%	13,8%
	Baixo (≤0,3 g)	22,1%	1,3%	63,6%	45,0%	4,0%	80,5%

_Conclusões

Os resultados deste estudo demonstraram que os produtos processados de base vegetal apresentam certas vantagens nutricionais em comparação com os seus análogos de origem animal, nomeadamente menores teores de gordura e de ácidos gordos saturados, bem como níveis mais elevados de fibra. No entanto, também apresentam desafios nutricionais muito significativos no que se refere aos teores de açúcares, de proteína e, muito em especial, de sal.

A grande maioria dos produtos à base de plantas, tanto na globalidade (ABVeg global = 92,9%) como por subtipos (não lácteos ABVeg = 98,7% e lácteos ABVeg láct = 81,5%) não estava de acordo com os valores de referência definidos na EIPAS quando avaliados conjuntamente os açúcares e o sal.

Considerando o decodificador de rótulos da DGS, verificou-se uma menor percentagem de produtos de base vegetal classificados como tendo um teor 'Alto' de gordura (lípidos) e de gordura saturada (ácidos gordos saturados), comparativamente aos produtos análogos de origem animal, excetuando-se os subtipos de base vegetal lácteos.

Salienta-se o facto da grande maioria dos produtos de base vegetal apresentar baixos teores de açúcares (ABVeg global = 82,1%; ABVeg = 97,0% e ABVeg láct = 52,3%), já expectável em função das categorias alimentares estudadas. Contudo, é importante realçar que as percentagens de alimentos de base vegetal com teores "Médio" ou 'Alto' de sal eram consideravelmente elevadas, nomeadamente de 77,9% para a globalidade dos referidos alimentos (ABVeg global), sendo inclusivamente muito superiores às verificadas para os produtos análogos de origem animal (AOA global = 55,0%).

Os resultados obtidos demonstraram uma elevada variabilidade de valores para os vários parâmetros nutricionais avaliados, em ambas as tipologias de produtos. Esta realidade evidencia a grande margem de oportunidade existente para a produção e indústria alimentar poderem ajustar/reformular estes alimentos, de forma a apresentarem perfis nutricionais mais equilibrados e saudáveis. Esta necessidade de reformulação é ainda mais significativa para os alimentos de base

vegetal, face à perceção generalizada da qualidade nutricional e de benefícios para a saúde que lhes são frequentemente atribuídos.

Neste contexto, a compra de alimentos processados de base vegetal, bem como a substituição, parcial ou total, dos análogos de origem animal por estes produtos, devem ser ponderadas com cuidado, sendo a literacia alimentar e a leitura completa e atenta do rótulo indispensáveis à realização de escolhas alimentares mais adequadas. São, igualmente, necessárias ações de saúde pública eficazes, nomeadamente medidas legislativas relacionadas com a re(formulação) destes alimentos, a rotulagem e a publicidade.

Este artigo corresponde a uma versão reduzida do artigo original: Brazão R, Batista R, Fernandes P, Lopes A, Graça Dias M. *Comparative analysis of the nutritional quality of plant-based processed foods and animal-origin counterparts in the Portuguese and UK markets*. Food Compos Anal. 2025;144:107631. doi:10.1016/j.jfca.2025.107631

Referências bibliográficas:

- (1) Alessandrini R, Brown MK, Pombo-Rodrigues S, et al. Nutritional Quality of Plant-Based Meat Products Available in the UK: A Cross-Sectional Survey. *Nutrients*. 2021 Nov 25;13(12):4225. <https://doi.org/10.3390/nu13124225>
- (2) Poore J, Nemecek T. Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*. 2018 Jun 1;360(6392):987-92. <https://doi.org/10.1126/science.aag0216>. Erratum in: *Science*. 2019 Feb 22;363(6429):eaaw9908. <https://doi.org/10.1126/science.aaw9908>
- (3) Benković M, Jurinjak Tušek A, Sokač Cvetnić T, et al. An Overview of Ingredients Used for Plant-Based Meat Analogue Production and Their Influence on Structural and Textural Properties of the Final Product. *Gels*. 2023 Nov 22;9(12):921. <https://doi.org/10.3390/gels9120921>
- (4) Bryant CJ. Plant-based animal product alternatives are healthier and more environmentally sustainable than animal products. *Future Foods*. 2022 Dec;6:100174. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100174>
- (5) World Health Organization. Plant-based diets and their impact on health, sustainability and the environment: a review of the evidence: WHO European Office for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. Copenhagen: WHO Europe, 2021. <https://iris.who.int/handle/10665/349086>
- (6) Petersen T, Hirsch S. Comparing meat and meat alternatives: an analysis of nutrient quality in five European countries. *Public Health Nutr*. 2023 Dec;26(12):3349-58. <https://doi.org/10.1017/S1368980023001945>
- (7) World Health Organization. Healthy and sustainable diets: key workstreams in the WHO European Region: factsheet 2021. Copenhagen: WHO Europe, 2021. <https://iris.who.int/handle/10665/340295>
- (8) World Health Organization. WHO factsheet: how can we tell if plant-based products are healthy? News release (22 December 2021). <https://www.who.int/europe/news/item/22-12-2021-new-who-factsheet-how-can-we-tell-if-plant-based-products-are-healthy>

artigos breves_ n. 8

- (9) Monteiro CA, Cannon G, Levy RB, et al. Ultra-processed foods: what they are and how to identify them. *Public Health Nutr.* 2019 Apr;22(5):936-41. <https://doi.org/10.1017/S1368980018003762>
- (10) Maganinho M, Almeida C, Padrão P. Industrially Produced Plant-Based Food Products: Nutritional Value and Degree of Processing. *Foods.* 2024 Jun 3;13(11):1752. <https://doi.org/10.3390/foods13111752>
- (11) Rauber F, Laura da Costa Louzada M, Chang K, et al. Implications of food ultra-processing on cardiovascular risk considering plant origin foods: an analysis of the UK Biobank cohort. *Lancet Reg Health Eur.* 2024 Jun 10;43:100948. <https://doi.org/10.1016/j.lanep.2024.100948>
- (12) Kim J, Kim H, Giovannucci EL. Plant-based diet quality and the risk of total and disease-specific mortality: A population-based prospective study. *Clin Nutr.* 2021 Dec;40(12):5718-25. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.10.013>
- (13) Good Food Institute Europe. Portugal: relatório do mercado retalhista de alimentos à base de plantas 2020-2022. GFI Europe, 2023. <https://gfi-europe.org/wp-content/uploads/2023/03/Translated-Portugal-report.pdf>
- (14) Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável: Indústria alimentar [Internet]. [https:// https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/](https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/)
- (15) Despacho n.º 11418/2017, de 29 de dezembro. Aprova a Estratégia Integrada para a Promoção da Alimentação Saudável (EIPAS). DRE 2.ª série, n.º 249, 29 dez 2017. <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/11418-2017-114424591>
- (16) Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável. Descodificador de Rótulos [Internet]. [consul. 3/3/202]. <https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/descodificador-de-rotulos/>
- (17) Regulamento (CE) N.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de dezembro de 2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos. JO L 404 de 30.12.2006: 9-25. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1924&from=GA> (versão consolidada: 13/12/2014 <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1924/2014-12-13>)
- (18) Regulamento (UE) N.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro de 2011, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. JO L 304 de 22.11.2011: 18-63. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1169/oj> (versão consolidada: 01/04/2025 <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1169/2025-04-01>)
- (19) Brazão R, Batista R, Fernandes P, et al. Comparative analysis of the nutritional quality of plant-based processed foods and animal-origin counterparts in the Portuguese and UK markets. *J Food Compos Anal.* 2025 Aug;144:107631. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.107631>

Potencial toxigénico de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* em estirpes isoladas em larvas de mosca soldado negro alimentadas com resíduos alimentares

Toxicogenic potential of Bacillus cereus and Escherichia coli in strains isolated from black soldier fly larvae fed with food waste

Joana Oliveira¹, Ana Margarida Pires², Daniel Murta^{1,3,4}, Ricardo Assunção^{1,5}

ricardo.assuncao@insa.min-saude.pt

(1) Egas Moniz Center for Interdisciplinary Research, Egas Moniz School of Health & Science, Almada, Portugal

(2) Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa, Campus de Caparica, Almada, Portugal

(3) Thunder Foods, SA – Santarém, Portugal

(4) Ingredient Odyssey, SA – Entogreen, Santarém, Portugal

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

_Resumo

A urgente transição para sistemas agroalimentares mais sustentáveis exige, a diferentes níveis, soluções inovadoras para enfrentar desafios como o desperdício alimentar. As larvas de mosca soldado negro (BSFL) têm emergido como uma estratégia para a valorização de resíduos alimentares, convertendo-os em proteína para a alimentação humana e animal. No entanto, a utilização destes substratos pode identificar preocupações de segurança microbiológica, nomeadamente associadas a bactérias toxigénicas.

Neste estudo foi utilizada a técnica de PCR para avaliar a presença de genes codificadores de toxinas de *Escherichia coli* (*stx1* e *stx2*) e *Bacillus cereus* (*cytK*, *nheA*, *hblD*) isoladas de matrizes associadas ao processo de bioconversão por BSFL, em contexto industrial. As larvas foram criadas em dois substratos: resíduos alimentares (teste) e dieta Gainesville (controlo). *E. coli* foi isolada em substrato e larvas, mas não na farinha de BSFL; *stx1* foi detetado apenas num isolado de larvas teste e *stx2* não foi detetado. *B. cereus* foi isolado em substrato e farinha de BSFL, apresentando todos os isolados pelo menos um gene de enterotoxina, sendo *cytK* o mais prevalente.

Apesar da deteção destes genes, os resultados evidenciam o potencial das BSFL como abordagem segura e sustentável para valorização de resíduos alimentares, numa perspetiva *One Health*.

_Abstract

The transition towards more sustainable agrifood systems requires innovative solutions to address challenges such as food waste. Black soldier fly larvae (BSFL) have emerged as a promising strategy for the valorisation of food waste, converting them into protein for human and animal food. However, the use of such substrates raises microbiological safety concerns, particularly related to toxigenic bacteria.

This study used PCR to evaluate the presence of toxin-encoding genes of *Escherichia coli* (*stx1* and *stx2*) and *Bacillus cereus* (*cytK*, *nheA*, *hblD*), isolated from matrices associated with the BSFL bioconversion process under industrial conditions. Larvae were reared on two substrates: food waste (test group) and Gainesville diet (control group). *E. coli* was isolated from substrate and larvae but not from the meal; *stx1* was detected in only one isolate from test larvae, while *stx2* was not detected. *B. cereus* was isolated from substrate and meal,

with all isolates harbouring at least one enterotoxin gene, with *cytK* being the most prevalent.

Despite the detection of these genes, the results support the potential of BSFL for the safe and sustainable valorisation of food waste, in a *One Health* perspective.

_Introdução

Os sistemas agroalimentares atuais enfrentam múltiplos desafios globais, incluindo a persistência da insegurança alimentar, a malnutrição, as elevadas emissões de gases com efeito de estufa, a pressão sobre os recursos naturais e os elevados níveis de perda e desperdício alimentar ao longo da cadeia alimentar (1). Estes desafios evidenciam a necessidade de promover a transição para sistemas alimentares mais sustentáveis, resilientes e eficientes na utilização de recursos. A redução da perda e do desperdício alimentar e a valorização de resíduos orgânicos assumem um papel central, dado que uma parte significativa dos alimentos produzidos globalmente é perdida ou desperdiçada ao longo da cadeia alimentar (2). Adicionalmente, os resíduos alimentares são um problema global de saúde pública, com implicações para a saúde humana e animal, devido à emissão de gases com efeito de estufa, à promoção da disseminação de agentes patogénicos e ao seu contributo para a insegurança alimentar (3,4). Assim, a valorização destes resíduos surge como uma estratégia promissora para sistemas agroalimentares mais sustentáveis e para a mitigação dos riscos associados à saúde pública.

As larvas da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*; BSFL) têm emergido como uma solução promissora para a valorização de resíduos orgânicos, convertendo substratos ricos em matéria orgânica em biomassa larval rica em proteína e lípidos, com potencial aplicação na alimentação humana e animal, contribuindo para o desenvolvimento de novos sistemas agroalimentares mais sustentáveis (5,6). No entanto, a utilização de resíduos alimentares como substrato de insetos levanta também desafios relacionados com a segurança microbiológica (7).

Entre os microrganismos potencialmente relevantes neste contexto destacam-se *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*, bactérias frequentemente associadas a doenças de origem alimentar, capazes de produzir toxinas (8,9). Estas bactérias podem estar presentes nos resíduos alimentares utilizados como substrato e, conseqüentemente, ser transferidas para as larvas durante o processo de bioconversão (7). Vários estudos têm investigado a sua presença em sistemas de criação de BSFL, sendo das espécies mais frequentemente estudadas em diferentes matrizes (10-12).

Algumas estirpes de *B. cereus* produzem enterotoxinas implicadas na síndrome diarreica decorrente de intoxicações alimentares, nomeadamente os complexos não hemolítico (*non-hemolytic enterotoxin*, NHE) e hemolítico (*hemolysin BL*, HBL), bem como a citotoxina K (CytK), codificados pelos genes *nhe*, *hbl* e *cytK*, respetivamente (8,13). Estas enterotoxinas são produzidas no intestino após ingestão de alimentos contaminados e podem causar danos nas células epiteliais intestinais, resultando em sintomas gastrointestinais como diarreia, dor abdominal e náuseas (8). A presença de estirpes de *B. cereus* portadoras destes genes, codificadores de enterotoxinas, em cadeias de produção alimentar pode representar um potencial risco para a segurança dos alimentos. De acordo com a combinação de genes de toxinas detetados, os isolados de *B. cereus* podem ser agrupados em diferentes perfis toxigénicos. De forma geral, sete perfis principais têm sido descritos na literatura: A (*nhe+*, *hbl+*, *cytK+*), B (*nhe+*, *cytK+*, *ces+*), C (*nhe+*, *hbl+*), D (*nhe+*, *cytK+*), E (*nhe+*, *ces+*),

F (*nhe+*), e G (*cytK+*). A caracterização destes perfis toxigénicos constitui uma abordagem relevante para avaliar o potencial de virulência das estirpes de *B. cereus* presentes em diferentes matrizes alimentares (14).

Escherichia coli é uma bactéria amplamente distribuída no trato gastrointestinal de humanos e animais, sendo frequentemente utilizada como indicador de contaminação fecal em alimentos e ambientes de produção alimentar (15). Algumas estirpes patogénicas de *E. coli*, designadas como *Shiga toxin-producing Escherichia coli* (STEC), são capazes de produzir toxinas Shiga, codificadas pelos genes *stx1* e *stx2* (9). Estas toxinas podem originar sintomas como diarreia, dor abdominal e, em casos mais graves, a síndrome hemolítica-urémica (9,16).

Neste contexto, a presença de estirpes portadoras destes genes pode representar um potencial risco para a saúde pública, tornando relevante a sua monitorização em novos sistemas agroalimentares baseados na valorização de resíduos, particularmente devido às elevadas cargas microbianas destes substratos, o que reforça a necessidade de avaliar a ocorrência de bactérias toxigénicas e dos respetivos genes de virulência ao longo do processo de produção (17,18). Apesar de estudos prévios abordarem a redução da carga microbiana pelas BSFL e a ocorrência destes microrganismos ao longo do processo de bioconversão, a informação sobre o potencial toxigénico das estirpes permanece limitada.

Assim, torna-se essencial aprofundar o conhecimento sobre a ocorrência de microrganismos potencialmente toxigénicos e dos respetivos genes codificadores de toxinas em insetos criados a partir de resíduos alimentares, de forma a garantir a segurança microbiológica dos produtos obtidos e apoiar o desenvolvimento sustentável destes novos sistemas agroalimentares. Até à data, o conhecimento sobre estes genes em BSFL permanece limitada, sendo este estudo, tanto quanto é do nosso conhecimento, o primeiro a investigá-los em diferentes matrizes do processo de bioconversão.

_Objetivos

O principal objetivo deste estudo foi aprofundar o conhecimento sobre a segurança da utilização de resíduos alimentares como substrato para a produção de larvas da mosca soldado negro (BSFL), em contexto industrial, através da deteção da presença de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* nos produtos derivados do processo de bioconversão, e da pesquisa de genes produtores de toxinas nas estirpes isoladas (*cytK*, *nheA*, *hblD* em *B. cereus* e *stx1*, *stx2* em *E. coli*).

Foi também objetivo deste trabalho propor potenciais estratégias de mitigação para reduzir os riscos associados a estas toxinas nestes novos sistemas alimentares.

_Materiais e métodos

Desenho experimental e amostragem

As larvas de mosca soldado negro foram criadas com dois substratos num ensaio de bioconversão realizado nas instalações de I&D da EntoGreen (Ingredient Odyssey SA, Santarém, Portugal): uma dieta estandardizada para insetos (Gainesville; 67% água, 17% farelo de trigo, 6,6% farinha de milho e 9,9% alfafa), utilizada como controlo, e uma mistura heterogénea de resíduos alimentares (vegetais e frutas, cereais, carne e peixe crus e cozinhados, ovos, cascas de ovo e produtos de padaria). Foram recolhidos 1847,5kg de resíduos alimentares de restaurantes de Santarém, com apoio da Câmara Municipal, posteriormente triturados e processados para obtenção do substrato de teste. Foram estabelecidas 114 unidades experimentais e 144 unidades de controlo, em caixas de PVC (60 x 40 x 11cm) desenvolvidas pela EntoGreen. Para a aná-

lise microbiológica, foram colhidas aleatoriamente amostras independentes de substrato (dia 1, antes da inoculação) e de larvas (dia 14, após separação do frass), sendo cada amostra obtida a partir de uma mistura homogeneizada de diferentes caixas por grupo (n=3 para teste e n=3 para controlo). As amostras de farinha de BSFL foram igualmente recolhidas aleatoriamente, a partir de diferentes lotes, imediatamente após o processamento das larvas (-90°C), correspondendo a n=3 para o grupo teste e n=3 para o grupo controlo.

Isolamento de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*

As bactérias foram isoladas a partir de três tipos de amostras dos grupos teste e controlo: (a) substrato das larvas; (b) larvas; e (c) farinha produzida a partir das BSFL destinada à utilização como fonte proteica para alimentação humana e animal. O isolamento foi realizado utilizando técnicas de microbiologia alimentar de acordo com as normas ISO 7932:2004/Amd 1:2020 e ISO 16649-2:2001/Amd 2:2023, para *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*, respetivamente.

Extração de ADN e Primers

As colónias isoladas das amostras foram inoculadas, individualmente, num tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo LB (VWR BDH® Chemicals, Leuven, Bélgica) e incubadas a 37°C durante 18 h, sob agitação a 225 rpm. As células bacterianas foram recolhidas por centrifugação, seguindo-se a extração de ADN com o kit DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN, Valencia, CA, USA), de acordo com o protocolo do fabricante para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Os primers utilizados neste estudo para amplificação de *cytK*, *nheA*, *hblD*, *stx 1* e *stx 2* encontram-se na [tabela 1](#).

Tabela 1: ↓ Lista de primers utilizados neste estudo.

Toxina	Sequência	Tamanho do amplificação	Referência
<i>cytK</i>	F: ATCGGTCAAATGCAAAAACAC R: ACCCAGTTACCAGTTCCGAATG	800 bp	
<i>nheA</i>	F: AGGTAAATGCGATGAGTAG R: TTGTTGAATGCGAAGAG	617 bp	(19)
<i>hblD</i>	F: GTTAGATACAGCGAAGCCAC R: CCGCCAGTTACAACAATA	465 bp	
<i>stx1</i>	F: TGT CGC ATAGTGAACCTCA R: TGCGCACTGAGAAGAAGAGA	655 bp	(20)
<i>stx2</i>	F: CCATGACAACGGACAGCAGTT R: TGTCGCCAGTTATCTGACATTC	477 bp	(21)

Resultados e discussão

A **tabela 2** compila os resultados obtidos no presente estudo.

O isolamento de *Escherichia coli* em amostras de substrato e de larvas em ambos os grupos (teste e controlo), mas não nas amostras de farinha de BSFL pode ser explicada pela sua inativação a temperaturas na ordem dos 70 °C, valores que são atingidos durante o processamento das larvas para obtenção de farinha (22,23).

Relativamente à pesquisa de *B. cereus*, a sua deteção na farinha, apesar da ausência nas amostras de larvas analisadas (tabela 2), poderá estar associada à capacidade de *B. cereus* formar esporos altamente resistentes a condições ambientais adversas e a etapas de processamento necessários para a obtenção de farinha (8,23). Assim, embora as células vegetativas possam ser reduzidas durante as diferentes etapas do processo, incluindo pela atividade das larvas (hidrólise enzi-

mática e produção de péptidos antimicrobianos) e pelas temperaturas aplicadas, os esporos podem persistir e germinar posteriormente, permitindo a sua deteção (8,24).

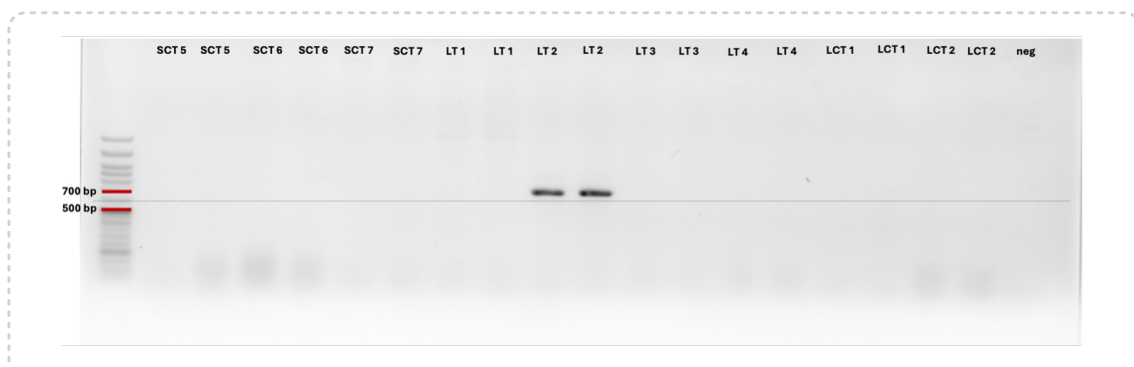
A deteção do gene *stx1* numa estirpe de *E. coli* isolada a partir de larvas do grupo teste (tabela 2) sugere a existência de estirpes potencialmente patogénicas, devendo, no entanto, ser interpretada com cautela por corresponder a um único isolado. A sequenciação desta estirpe poderá permitir a caracterização detalhada do seu perfil genético, a confirmação da presença e integridade do gene de virulência, enquanto que a sequenciação do microbioma das BSFL poderá esclarecer a sua origem (microbiota ou introdução via substrato). A figura 1 ilustra o resultado da eletroforese em gel de agarose, na qual se observa a amplificação do gene *stx1*. As amostras de substrato do grupo teste e algumas do grupo controlo não estão incluídas na imagem por não apresentarem qualquer amplificação. O gene *stx2* não foi detetado em nenhum dos isolados analisados.

Tabela 2: Número de estirpes de *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* isoladas em cada uma das amostras testadas e respetivos genes/ perfis de virulência detetados.

	Grupo controlo (n=3)			Grupo teste (n=3)			Total
	Substrato	Larvas	Farinha	Substrato	Larvas	Farinha	
<i>E. coli</i>	6	2	0	6	4 (<i>stx1</i> (n=1))	0	18
<i>B. cereus</i>	5 (perfil D (n=1); perfil G (n=4))	0	4 (perfil F (n=1); perfil G (n=3))	1 (perfil A)	0	6 (perfil G (n=1); perfil F (n=5))	16 (perfil A(n=1); perfil D (n=1); perfil F (n=6); perfil G (n=8))

Perfis de virulência de *B. cereus*: A (*nhe+*, *hbl+*, *cytK+*), B (*nhe+*, *cytK+*, *ces+*), C (*nhe+*, *hbl+*), D (*nhe+*, *cytK+*), E (*nhe+*, *ces+*), F (*nhe+*), G (*cytK+*)

Figura 1: Resultado da eletroforese em gel de agarose para deteção do gene *stx1* por PCR.

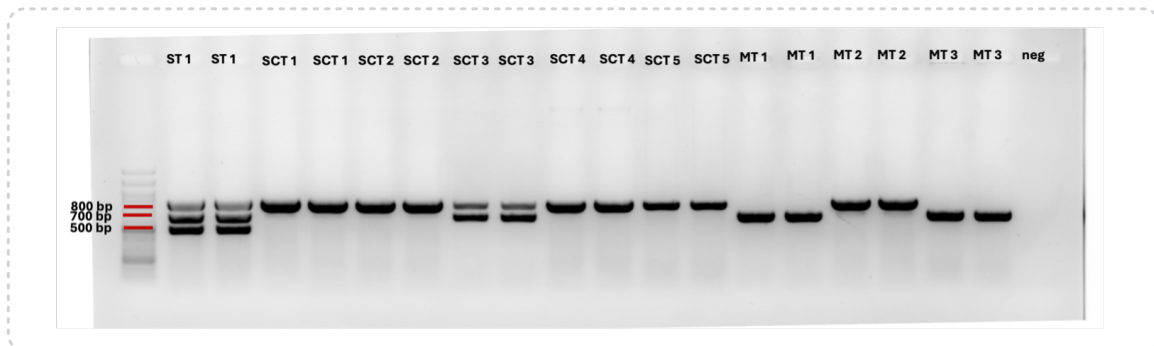


Observa-se a amplificação de um fragmento de tamanho compatível ao gene *stx1* (655 bp) num isolado de larvas do grupo teste. SCT – substrato de controlo; LT – larvas do grupo teste; LCT – larvas do grupo de controlo; neg – controlo negativo

Relativamente aos genes codificadores de enterotoxinas de *B. cereus*, todos os isolados apresentaram amplificação de pelo menos um dos genes analisados (tabela 2). O único isolado de substrato teste apresentou os três genes em estudo (*cytK*, *nheA* e *hbID*). Os genes de enterotoxinas mais prevalentes foram *cytK* e *nheA*. O *cytK* foi detetado em 56,25% (9/16) dos isolados totais, incluindo 100% (5/5) dos isolados do substrato de controlo, em 16,7% (1/6) dos

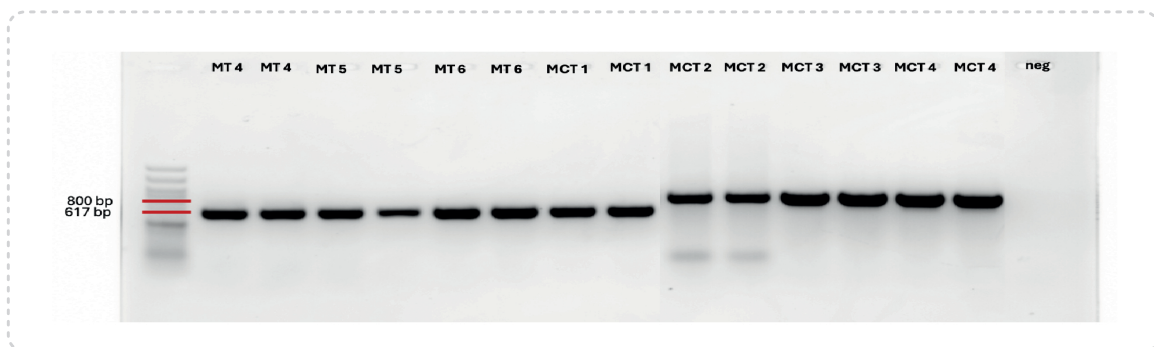
isolados de farinha de teste e em 75% (3/4) dos isolados de farinha de controlo. O *nheA*, foi identificado em 50% (8/16) dos isolados, correspondendo a 83,3% (5/6) dos isolados da farinha de teste e 25% (1/4) dos isolados da farinha de controlo. O gene *hbID* foi detetado apenas em 6,25% (1/16) dos isolados, correspondendo ao isolado de substrato do grupo teste. As figuras 2 e 3 apresentam os resultados da eletroforese em gel de agarose.

Figura 2: Resultado da eletroforese em gel de agarose para deteção dos genes *cytK*, *nheA* e *hbID* por PCR.



Observa-se a amplificação de diferentes fragmentos de tamanho compatível com o gene *cytK* (800 bp), *nheA* (617 bp) e *hbID* (465 bp). ST – substrato de teste; SCT – substrato de controlo; MT – farinha do grupo teste; MCT – farinha do grupo de controlo; neg – controlo negativo

Figura 3: Resultado da eletroforese em gel de agarose para deteção dos genes *cytK*, *nheA* e *hbID* por PCR.



Observa-se a amplificação de diferentes fragmentos de tamanho compatível com o gene *cytK* (800 bp) e *nheA* (617 bp). A banda de menor tamanho observada na amostra MCT 2 corresponde a dímeros de primers. MT – farinha do grupo teste; MCT – farinha do grupo de controlo; neg – controlo negativo

Os resultados obtidos estão parcialmente em concordância com a literatura, que descreve os genes do complexo *nhe* como os determinantes de enterotoxinas mais prevalentes em isolados de *B. cereus* (25), embora a sua prevalência possa variar consoante o tipo de alimento ou substrato de origem (26). Com base na combinação de genes detetados, os isolados de *B. cereus* foram classificados consoante os diferentes perfis toxigénicos, já estabelecidos e mencionados em cima. No presente estudo, foi identificado um isolado compatível com o perfil A, oito isolados com o perfil G, um isolado com o perfil D e seis isolados com o perfil F (tabela 2). A predominância do perfil G (*cytK+*) reflete a elevada prevalência deste gene entre os isolados analisados, enquanto a baixa ocorrência do perfil A deve ser interpretada com cautela, podendo estar relacionada com a reduzida representatividade das amostras de substrato do grupo teste analisadas. O perfil toxigénico dos isolados provenientes da farinha de BSFL do grupo controlo foi consistente com o do respetivo substrato, sendo *cytK* o gene mais frequentemente detetado em ambas as matrizes. Estudos futuros poderão incluir a sequenciação das estirpes isoladas e dos genes de toxinas amplificadas, permitindo caracterizar com maior detalhe o perfil toxigénico destes isolados e a diversidade genética das estirpes de *B. cereus* associadas às diferentes matrizes analisadas.

Importa ainda salientar que a deteção de genes de toxinas, incluindo enterotoxinas de *B. cereus* e o gene *stx1* de *E. coli*, não implica necessariamente, nas condições analisadas, a sua expressão, produção de toxinas ou capacidade de causar tox infeção alimentar (26,27). A produção efetiva depende de vários processos celulares, incluindo a transcrição dos genes de enterotoxinas, modificações pós-transcricionais e pós-traducionais, bem como a secreção das proteínas (26). Neste contexto, estudos futuros poderão recorrer a técnicas de análise de expressão génica, como a PCR quantitativa (qPCR) ou a PCR quantitativa com transcrição reversa (RT-qPCR), de modo a avaliar a expressão destes genes nas diferentes matrizes, para clarificar o risco microbiológico real, contribuindo para uma avaliação mais robusta da segurança destes sistemas de produção (27,28).

Apesar da deteção de *B. cereus* e *E. coli*, as contagens observadas nos substratos, nas larvas e na farinha encontravam-se dentro dos limites microbiológicos considerados satisfatórios para alimentos e rações (29-31), reforçando o potencial das BSFL na valorização de resíduos alimentares para a produção de ingredientes seguros.

No entanto, devido à capacidade de *B. cereus* formar esporos altamente resistentes, a implementação de estratégias de mitigação durante o processamento da farinha de BSFL poderá contribuir para reduzir ainda mais o risco microbiológico associado a estes produtos. Entre as abordagens possíveis incluem-se a otimização das condições térmicas durante o processamento, nomeadamente através da aplicação de temperaturas mais elevadas do que 100 °C, capazes de promover uma diminuição ou mesmo a inativação de esporos (32,33). A gestão adequada do substrato utilizado na alimentação das larvas poderá igualmente desempenhar um papel importante na redução da introdução de esporos, incluindo a aplicação de pré-tratamentos aos resíduos alimentares (por exemplo, tratamento térmico a altas temperaturas).

_Conclusão

Em conjunto, os resultados obtidos sugerem que o processo de bioconversão por larvas de mosca soldado negro apresenta um elevado potencial para a valorização segura de resíduos alimentares, mantendo níveis microbiológicos dentro dos limites considerados aceitáveis e evidenciando um potencial toxigénico controlado entre os isolados analisados.

Estes resultados reforçam a viabilidade da utilização deste sistema na produção sustentável de ingredientes destinados à alimentação humana e animal, contribuindo simultaneamente para estratégias de economia circular e para a redução do desperdício alimentar.

Financiamento:

Joana Oliveira é financiada pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), Lisboa, Portugal, através de uma bolsa de doutoramento (referência 2022.13540.BDANA; <https://doi.org/10.54499/2022.13540.BDANA>). Este trabalho foi financiado pelo projeto "InsectERA" (n.º C644917393-00000032), no âmbito dos WPs *InBioremediation* e *One Health*, com o apoio do Fundo Europeu Next Generation EU e do Plano de Recuperação e Resiliência (PRR) de Portugal, no quadro da linha de incentivo "Agendas para a Inovação Empresarial", através do regime de financiamento C5 – Capitalização e Inovação Empresarial, e por CiiEM Investiga "FlyWaste" através do projeto 10.54499/UIDB/04585/2020, financiado pela FCT.

Referências bibliográficas:

- (1) Bodirsky BL, Beier F, Humpenöder F, et al. A food system transformation pathway reconciles 1.5 °C global warming with improved health, environment and social inclusion. *Nat Food*. 2025 Dec;6(12):1133-52. <https://doi.org/10.1038/s43016-025-01268-y>
- (2) Food and Agriculture Organization. *FAO Tackling Food Loss and Waste: A Triple Win Opportunity* [Internet]. 29/09/2022. [consult. 27/2/2023]. <https://www.fao.org/news-room/detail/FAO-UNEP-agriculture-environment-food-loss-waste-day-2022/en>
- (3) Krystosik A, Njoroge G, Odhiambo L, et al. Solid Wastes Provide Breeding Sites, Burrows, and Food for Biological Disease Vectors, and Urban Zoonotic Reservoirs: A Call to Action for Solutions-Based Research. *Front Public Health*. 2020 Jan 17;7:405. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00405>
- (4) Rudziak P, Batung E, Luginah L. The effects of gases from food waste on human health: A systematic review. *PLoS One*. 2024 Mar 27;19(3):e0300801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300801>
- (5) Siddiqui SA, Harahah IA, Osei-Owusu J, et al. Bioconversion of organic waste by insects – A comprehensive review. *Process Saf Environ Prot*. 2024;187:1-25. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.04.122>
- (6) Siddiqui SA, Ristow B, Rahayu T, et al. Black soldier fly larvae (BSFL) and their affinity for organic waste processing. *Waste Manag*. 2022 Mar 1;140:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.12.044>
- (7) EFSA Scientific Committee. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA J*. 2015;13(10):4257. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257>
- (8) Granum PE, Lindbäck T. *Bacillus cereus*. In: Doyle MP, Buchanan RL (eds). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 4th ed. Washington, DC: ASM Press, 2013, pp. 491–502. <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch19>
- (9) Meng J, LeJeune JT, Zhao T, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Doyle MP, Buchanan RL (eds). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 4th ed. Washington, DC: ASM Press, 2013, pp. 287–309. <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch12>
- (10) van Kessel K, Castelijin G, van der Voort M, et al. Investigation of *Bacillus cereus* growth and sporulation during *Hermetia illucens* larval rearing. *Heliyon*. 2024 Dec 7;10(24):e40912. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40912>
- (11) Alagappan S, Dong A, Hoffman L, et al. Microbial safety of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) reared on food waste streams. *Waste Manag*. 2025 Feb 15;194:221-27. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2025.01.019>
- (12) Bessa LW, Pieterse E, Marais J, et al. Food Safety of Consuming Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae: Microbial, Heavy Metal and Cross-Reactive Allergen Risks. *Foods*. 2021 Aug 20;10(8):1934. <https://doi.org/10.3390/foods10081934>
- (13) McDowell RH, Friedman H. *Bacillus Cereus*. [Updated 2023 Jan 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2026 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459121/>
- (14) Ehling-Schulz M, Guinebretiere MH, Monthán A, et al. Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett*. 2006 Jul;260(2):232-40. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00320.x>
- (15) Yang X, Wang H. *ESCHERICHIA COLI* | Pathogenic *E. coli* (Introduction). In: Batt CA, Tortorello ML (eds). *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd. Academic Press, 2014, pp. 695-701. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00383-9>
- (16) Travert B, Rafat C, Mariani P, et al. Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: Specificities of Adult Patients and Implications for Critical Care Management. *Toxins (Basel)*. 2021 Apr 26;13(5):306. <https://doi.org/10.3390/toxins13050306>
- (17) Gold M, von Allmen F, Zurbrugg C, et al. Identification of Bacteria in Two Food Waste Black Soldier Fly Larvae Rearing Residues. *Front Microbiol*. 2020 Nov 23;11:582867. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582867>
- (18) Wu S, Xu S, Chen X, et al. Bacterial Communities Changes during Food Waste Spoilage. *Sci Rep*. 2018 May 29;8(1):8220. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26494-2>
- (19) Zhang Z, Feng L, Xu H, et al. Detection of viable enterotoxin-producing *Bacillus cereus* and analysis of toxigenicity from ready-to-eat foods and infant formula milk powder by multiplex PCR. *J Dairy Sci*. 2016 Feb;99(2):1047-55. Epub 2015 Dec 10. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10147>
- (20) Bai J, Shi X, Nagaraja TG. A multiplex PCR procedure for the detection of six major virulence genes in *Escherichia coli* O157:H7. *J Microbiol Methods*. 2010 Jul;82(1):85-89. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.05.003>. Epub 2010 May 16
- (21) Fagan PK, Hornitzky MA, Bettelheim KA, et al. Detection of shiga-like toxin (stx1 and stx2), intimin (eaeA), and enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) hemolysin (EHEC hlyA) genes in animal feces by multiplex PCR. *Appl Environ Microbiol*. 1999 Feb;65(2):868-72. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.2.868-872.1999>
- (22) Hutchison ML, Thomas DJ, Avery SM. Thermal death of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle feeds. *Lett Appl Microbiol*. 2007 Apr;44(4):357-63. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02091.x>
- (23) Costa JM, Murta D, Magalhães T. *Manual de Boas Práticas na Produção, Processamento e Utilização de Insetos na Alimentação Animal*. Lisboa: Direção-Geral da Alimentação e Veterinária, 2018. <https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/08/MANUAL-INSSETOS.pdf>
- (24) Gold M, Tomberlin JK, Diener S, et al. Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. *Waste Manag*. 2018 Dec;82:302-18. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.022>
- (25) Jovanovic J, Tretiak S, Begyn K, et al. Detection of Enterotoxigenic Psychrotrophic Presumptive *Bacillus cereus* and Cereulide Producers in Food Products and Ingredients. *Toxins (Basel)*. 2022 Apr 16;14(4):289. <https://doi.org/10.3390/toxins14040289>
- (26) Dietrich R, Jessberger N, Ehling-Schulz M, et al. The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins (Basel)*. 2021 Jan 28;13(2):98. <https://doi.org/10.3390/toxins13020098>
- (27) Jessberger N, Krey VM, Rademacher C, et al. From genome to toxicity: a combinatorial approach highlights the complexity of enterotoxin production in *Bacillus cereus*. *Front Microbiol*. 2015 Jun 10;6:560. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00560>
- (28) Vinje MA, Friedman DA. Exogenous spike-in mouse RNAs for accurate differential gene expression analysis in barley using RT-qPCR. *Biol Methods Protoc*. 2023 Nov 28;8(1):bpad034. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpad034>
- (29) Commission Regulation (EU) No 142/2011 of 25 February 2011 implementing Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and implementing Council Directive 97/78/EC as regards certain samples and items exempt from veterinary checks at the border under that Directive. *OJ L 54*, 26.2.2011, pp. 1-254. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/142/oj>
- (30) Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on Microbiological Criteria for Foodstuffs. *OJ L 338*, 22.12.2005, pp. 1–26. <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj>
- (31) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. *Interpretação de Resultados de Ensaios Microbiológicos em Alimentos Prontos para Consumo e em Superfícies do Ambiente de Preparação e Distribuição Alimentar: Valores-Guia*. Lisboa: INSA, 2019. <http://hdl.handle.net/10400.18/5610>
- (32) Pereira APM, Stelari HA, Carlin F, et al. Inactivation kinetics of *Bacillus cereus* and *Geobacillus stearothermophilus* spores through roasting of cocoa beans and nibs. *LWT*. Aug 2019;111:394-400. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.063>
- (33) Stoeckel M, Westermann AC, Atamer Z, et al. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores in infant formula under shear conditions. *Dairy Sci Technol*. Mar 2013;93(2):163-75. <https://doi.org/10.1007/s13594-012-0101-6>

Avaliação das boas práticas para garantia da qualidade em laboratórios clínicos de países de língua oficial portuguesa

Assessment of good practices for quality assurance in laboratories in Portuguese-speaking countries

Flávia Martinello¹, Alice Berlanda Seidler², Maria Elisabeth Menezes³, Helena Correia⁴, Silvania Leal⁵, Armandina Miranda⁶, Ana Faria⁴

ana.paula.faria@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Análises Clínicas. Universidade Federal Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil

(2) Curso de Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil

(3) Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

(5) Instituto Nacional de Saúde Pública de Cabo Verde, Praia, Cabo Verde

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

Resumo

Os laboratórios clínicos devem garantir a qualidade dos resultados, porém, há pouca informação sobre boas práticas laboratoriais (BPL) adotadas por países de língua oficial portuguesa (PLP). Este estudo procurou identificar a adesão às boas práticas laboratoriais pelos laboratórios clínicos nos países de língua portuguesa através do envio de um questionário, entre julho e setembro de 2024, aos participantes do Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade, Portugal e membros do Projeto de Melhoria da Qualidade Laboratorial para PLP. Dos 54 laboratórios participantes, 63% pertencem ao setor público, 85% possuem um profissional responsável pela gestão da qualidade, 57% tem sistema de gestão implementado, e metade destes refere ser laboratório certificado. A maioria dos laboratórios participantes realiza plano anual de formação (85%), elabora matriz de competências (65%), utiliza indicadores da qualidade para as fases pré-analítica (87%) e pós-analítica (83%), realiza controlo interno (70%) e externo da qualidade (89%), regista as causas de rejeição de resultados de amostra controlo (59%), constrói gráficos de controlo (66%) e utiliza especificações da qualidade para avaliar o desempenho analítico (72%). O país com mais participantes neste estudo (72%) é Portugal. Os resultados obtidos apoiam a conclusão de que as boas práticas laboratoriais estão implementadas numa fração importante dos países participantes, havendo, no entanto, oportunidade para melhorias. A realização de formações e o envolvimento de mais laboratórios clínicos dos países de língua portuguesa contribuirá para a implementação e harmonização de BPL, podendo contribuir para a garantia da qualidade dos resultados e a segurança do doente. É importante garantir a participação de todos os Países de Língua Oficial Portuguesa em futuros estudos acerca deste assunto.

Abstract

Clinical laboratories (CL) must ensure the quality of results, however, there is little information on good laboratory practices (GLP) required by Portuguese-speaking countries (PSC). This study identified adherence to GLP by CL in PSC by sending a questionnaire, between July and September 2024, to participants of the National External Quality Assessment Program, Portugal and members of the Laboratory Quality Improvement Project for PSC. Of the 54 participating laboratories, the majority are from Portugal (72%), 63% belong to the public service, 85% have a professional responsible for management, 57% have a management system implemented, and half of these refer to being certified.

The majority carry out a training plan (85%), develop a competency matrix (65%), use quality indicators for the pre-analytical (87%) and post-analytical (83%) phases, perform internal (70%) and external quality control (89%), record the causes of analysis of control sampling results (59%), build control charts (66%) and use quality specifications to assess performance (72%). GLP are breaking through, with opportunities for improvement. Carrying out training and involving more CL from the PSC will contribute to the improvement and harmonization of GLP, and may contribute to ensuring the quality of results and patient safety.

Introdução

O Projeto de Melhoria da Qualidade Laboratorial (ProMeQualab; <https://promequalab.org.cv/>) foi iniciado em 2015 para difundir conhecimento, capacitar profissionais, implementar boas práticas laboratoriais (BPL) e harmonizar e monitorizar o controlo da qualidade em países de língua oficial portuguesa (PLP). Os países participantes incluem Angola, Brasil, Cabo Verde, Guiné-Bissau, Moçambique, Portugal, São Tomé e Príncipe e Timor.

Os laboratórios clínicos devem ter um sistema de gestão da qualidade eficaz que possibilite identificar e minimizar os erros analíticos, visando a garantia de resultados confiáveis e seguros para os doentes (1).

Oferecer segurança aos doentes significa melhorar continuamente os processos que os impactam. Isso exige conhecimento da complexidade dos processos e dos fatores de riscos envolvidos e o controlo de todas as etapas críticas de uma organização de saúde (2).

A acreditação e a certificação de um laboratório promovem segurança, responsabilidade, ética profissional, eficiência e orientam o fornecimento de serviços de alta qualidade e o alinhamento com as melhores práticas.

Devido à escassa informação sobre as práticas adotadas por laboratórios de PLP, este estudo procurou caracterizar laboratórios de PLP e as respetivas BPL adotadas, fornecendo dados para estabelecer políticas e estratégias educacionais para melhoria dos procedimentos laboratoriais.

_Objetivo

Avaliar a implementação das boas práticas laboratoriais em países de língua oficial portuguesa, entre os participantes do Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade de Portugal e os membros do Projeto de Melhoria da Qualidade Laboratorial.

_Material e métodos

Este estudo descritivo, com abordagem qualitativa e quantitativa, analisou as boas práticas em laboratórios clínicos de PLP. A recolha de dados ocorreu entre 7 de julho e 30 de setembro de 2024, pelo envio de um formulário digital aos participantes do Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade de Portugal e do ProMeQuaLab. A participação foi voluntária e anónima, exceto a informação do país de origem.

O questionário continha questões para resposta aberta e para resposta por múltipla escolha, abrangendo todas as etapas do processo laboratorial, incluindo as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, com o intuito de assegurar maior confiabilidade nos resultados.

Os dados foram recolhidos e tabulados eletronicamente usando o *forms* da *Microsoft*. As respostas foram anónimas, exceto o país de origem e os resultados expressos como número absoluto, razões ou percentuais.

_Resultados e discussão

Participaram no estudo cinquenta e nove (59) laboratórios, dos quais a maioria é de Portugal (39), seguida de Cabo Verde (7), Guiné-Bissau (4) e São Tomé e Príncipe (1), enquanto um laboratório não informou o país de origem. Angola, Brasil, Moçambique e Timor não tiveram representantes. Porém, cinco (5) laboratórios não permitiram a divulgação dos seus dados. A **tabela 1** apresenta as respostas consideradas relevantes no âmbito deste estudo.

A maioria dos laboratórios que responderam possui um sistema de informação e gestão implementado (89%), mas esse resultado reflete principalmente a realidade de Portugal. Nos demais PLP, a implementação ainda é limitada, embora seja uma meta futura (18%). Um Sistema de Gestão da Qualidade é essencial para garantir padrões laboratoriais e prevenir erros ⁽³⁾.

Os laboratórios portugueses participantes, 82% (32/39) possuem sistema de gestão, dos quais 72% (23/32) são certificados e 28% (9/32) acreditados. Em comparação, no Brasil, de todos os laboratórios, apenas 3,43% possui pelo menos acreditação/certificação, de acordo com o levantamento realizado por Pires, *et al.* (2023) ⁽⁴⁾. Um estudo realizado por Kopčinović, *et al.* (2022) ⁽⁵⁾ na Croácia indicou que apenas uma pequena parcela dos laboratórios (9%) possuía acreditação.

De forma semelhante ao Brasil (90%) ⁽⁶⁾ e aos países europeus ⁽⁷⁾, a maioria dos laboratórios que participaram neste estudo utiliza indicadores da qualidade para as fases pré-analítica (87%) e pós-analítica (83%).

Como indicador da qualidade da fase pós-analítica, nas pesquisas feitas por Sciacovelli *et al.* (2016) ⁽⁸⁾ e Zorbozan *et al.* (2022) ⁽⁹⁾, a segunda maior causa de erros na fase pós-analítica foi a entrega de relatórios de resultados fora do prazo, o que se assemelha ao reportado pelos laboratórios deste estudo.

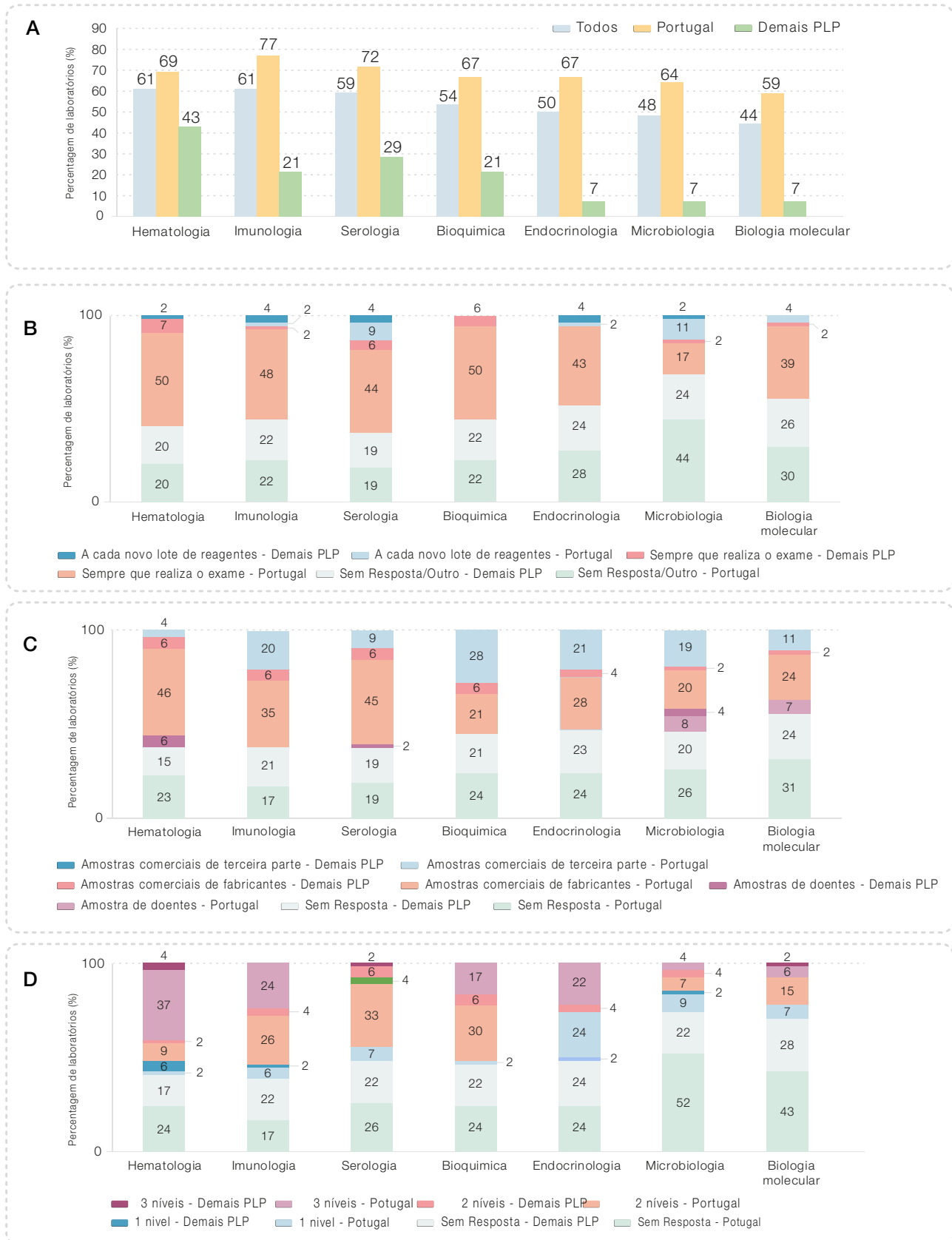
Entre os laboratórios que realizam Controlo Interno da Qualidade (CIQ), as áreas contempladas estão apresentadas no **gráfico 1A**. Os tipos e os níveis de concentração das amostras controlo e a frequência de realização do CIQ pelas diferentes áreas dos laboratórios estão apresentados no **gráfico 1B, C e D**.

Tabela 1: Respostas às questões colocadas neste estudo, pelo conjunto dos laboratórios, apenas pelos laboratórios de Portugal e pelos laboratórios dos demais países de língua portuguesa, agrupadas consoante o tema em caracterização dos laboratórios e sistema de Gestão da Qualidade.

Questões	Todos os Laboratórios N (%)	Laboratórios de Portugal N (%)	Laboratórios dos demais PLP N (%)
Caracterização dos Laboratórios n/N (%)			
Natureza do laboratório			
Laboratório público	34/54 (63,0)	21/39 (53,8)	21/39 (53,8)
Laboratório privado	20/54 (37,0)	18/39 (46,2)	18/39 (46,2)
Tipo de Laboratório			
Hospitalar	23/54 (42,7)	13/39 (33,3)	13/39 (33,3)
Ambulatório	24/54 (44,4)	22/39 (56,4)	22/39 (56,4)
Ambulatório e Hospitalar	4/54 (7,4)	1/39 (2,6)	1/39 (2,6)
S/R	3/54 (5,5)	3/39 (7,7)	3/39 (7,7)
Sistema de Gestão da Qualidade			
<i>O laboratório realiza plano anual de formação?</i>			
Sim	46/54 (85,2)	34/39 (87,1)	11/14 (78,6)
Não	6/54 (11,1)	3/39 (7,7)	3/14 (21,4)
S/R	2/54 (3,7)	2/39 (5,2)	0/14 (0)
<i>Tem implementada matriz de competências?</i>			
Sim	35/54 (64,9)	30/39 (76,8)	5/14 (35,8)
Não	16/54 (29,6)	7/39 (18,0)	8/14 (57,1)
S/R	3/54 (5,5)	2/39 (5,2)	1/14 (7,1)
<i>O laboratório regista as causas de rejeição de resultados de amostra controlo?</i>			
Sim	32/54 (59,2)	25/39 (64,2)	7/14 (50)
Não	11/54 (20,4)	10/39 (25,6)	1/14 (7,2)
S/R	11/54 (20,4)	4/39 (10,2)	6/14 (42,8)
<i>Participa em programas de avaliação externa da qualidade (AEQ)?</i>			
Sim	48/54 (88,9)	39/39 (100)	8/14 (57,2)
Não	5/54 (9,2)	0/39 (0)	5/14 (35,7)
S/R	1/54 (1,9)	0/39 (0)	1/14 (7,1)
<i>Tem procedimentos escritos para a realização dos exames?</i>			
Sim	50/54 (92,6)	36/39 (92,3)	13/14 (92,9)
Não	1/54 (1,9)	0/39 (0)	1/14 (7,1)
S/R	3/54 (5,5)	3/39 (7,7)	0/14 (0)
<i>Utiliza especificações da qualidade para avaliar o desempenho analítico?</i>			
Sim	39/54 (72,2)	32/39 (82,1)	6/14 (42,9)
Não	11/54 (20,4)	4/39 (10,2)	7/14 (50,0)
S/R	4/54 (7,4)	3/39 (7,7)	1/14 (7,1)

S/R: sem resposta; N: total de respostas; n: número de respostas

Gráfico 1: ▾ Controlo Interno da Qualidade (CIQ) nas áreas laboratoriais (A), frequência de realização do CIQ (B), tipos de amostra controlo (C), e níveis de amostras controlo (D).



A proporção de laboratórios que realiza CIQ no nosso estudo (85%) foi inferior à observada noutro estudo realizado no Brasil (95%) (6). Tal como no estudo realizado no Nepal em 2024 por Pant, *et al.* (10), a maioria dos laboratórios no presente estudo realiza CIQ diariamente. No entanto, enquanto que a maioria dos laboratórios neste estudo utiliza amostras comerciais fornecidas pelo fabricante, no Nepal, 88,4% utiliza amostras comerciais de terceiros. Por outro lado, neste estudo, a percentagem de laboratórios que utiliza dois níveis de amostra controlo (48%) é semelhante aos resultados obtidos por outros autores (68%) (10,11).

Mais especificamente na área da hematologia, em comparação aos 63% (33/52) dos laboratórios que relataram realizar CIQ neste estudo, uma pesquisa apontou que nos laboratórios croatas a realização é de 100% (12). Entre os que realizam CIQ em hematologia, tanto neste estudo quanto na Croácia (12), a maioria utiliza amostras comerciais dos fabricantes, 84% e 98%, respetivamente.

Neste estudo, uma taxa significativamente maior de laboratórios (90%) relatou realizar o Controlo Externo da Qualidade (CEQ) em relação aos laboratórios brasileiros (55%). No Brasil, entre as dificuldades para implementar o CIQ e o CEQ foram relatados os custos e a dificuldade de encontrar um único fornecedor de amostras controlo para todos os exames (6).

Dos outros laboratórios (não portugueses) que participaram no estudo observou-se uma baixa percentagem de implementação das BPL que pode estar associada a vários fatores, nomeadamente, a limitações financeiras, acesso a formação e a material controlo, à garantia da calibração/manutenção dos equipamentos laboratoriais e informatização de sistemas. Torna-se necessário o reforço da implementação das BPL de modo a melhorar a qualidade laboratorial com benefícios para a saúde pública.

Por perspetivas deste estudo, e com as formações decorrentes das atividades do ProMeQuaLab, esperamos em monitorizações futuras, que apresentem um número maior de participantes, e de todos os países de língua portuguesa com melhores índices.

_Conclusões

As boas práticas laboratoriais são essenciais para garantir a qualidade nas análises clínicas, mas a sua implementação ainda enfrenta desafios. Apesar da existência de normas internacionais, o estudo mostrou que os laboratórios dos países de língua oficial portuguesa (PLP) evidenciam necessidade de melhorias nos sistemas de qualidade, provavelmente devido à falta de profissionais capacitados e ao avanço rápido do conhecimento.

Estes resultados permitirão direcionar o plano de formação do ProMeQuaLab e ampliar o envolvimento de mais laboratórios dos PLP, promovendo a harmonização de boas práticas laboratoriais e garantindo maior qualidade nos resultados e segurança para os doentes.

Referências bibliográficas:

- (1) Sousa ACN, Rodrigues Junior OM. Principais erros na fase pré-analítica de exames laboratoriais: uma revisão bibliográfica integrativa. *Res Soc Dev.* 2021;10(15):e261101523662. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.23662>
- (2) Berlitz FA. Controle da qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do paciente. *J Bras Patol Med Lab.* 2010;46(5):353-63. <https://www.scielo.br/j/jbpm/la/4WDGyv4yhv8fWnKXLVnZR-D/?format=pdf&lang=pt>
- (3) Allen LC. Role of a quality management system in improving patient safety - laboratory aspects. *Clin Biochem.* 2013 Sep;46(13-14):1187-93. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.028>
- (4) Pires CP, Gomes KB, Pestana RMC. Atualização do panorama das acreditações e certificações laboratoriais no Brasil. *RBAC.* 2023;55(2):104-14. <https://hdl.handle.net/1843/79617>
- (5) Kopčinović LM, Juričić G, Bokulić A, et al. Verification policies in Croatian medical biochemistry laboratories: a survey of the practice. *Biochem Med (Zagreb).* 2022 Jun 15;32(2):020703. <https://doi.org/10.11613/BM.2022.020703>
- (6) Leskowicz GH, Melo R, Rateke ECM, et al. Dez anos da RDC 302/2005: avaliação da implantação em laboratórios de análises clínicas do estado de Santa Catarina. *Rev Bras Anal Clin.* 2018;50(2):161-70. <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201800617>
- (7) Cadamuro J, Lippi G, von Meyer A, et al. European survey on preanalytical sample handling - Part 1: How do European laboratories monitor the preanalytical phase? On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Biochem Med (Zagreb).* 2019 Jun 15;29(2):020704. <https://doi.org/10.11613/BM.2019.020704>
- (8) Sciacovelli L, Aita A, Padoan A, et al. Performance criteria and quality indicators for the post-analytical phase. *Clin Chem Lab Med.* 2016 Jul 1;54(7):1169-76. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0897>
- (9) Zorbozan N, Zorbozan O. Evaluation of preanalytical and postanalytical phases in clinical biochemistry laboratory according to IFCC laboratory errors and patient safety specifications. *Biochem Med (Zagreb).* 2022 Oct 1;32(3):030701. <https://doi.org/10.11613/BM.2022.030701>
- (10) Pant V, Loh TP, Pradhan S, et al. A Pilot Survey on Quality Control and Method Evaluation Practices in Clinical Laboratories in Nepal. *EJIFCC.* 2024 Oct 30;35(3):166-74. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11536274/>
- (11) Krishnan S, Webb S, Henderson AR, et al. An overview of quality control practices in Ontario with particular reference to cholesterol analysis. *Clin Biochem.* 1999 Mar;32(2):93-99. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(98\)00103-9](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(98)00103-9)
- (12) Biljak VR, Lapić I, Vidranski V, et al. Policies and practices in the field of laboratory hematology in Croatia - a current overview and call for improvement. *Clin Chem Lab Med.* 2021 Dec 1;60(2):271-82. <https://doi.org/10.1016/10.1515/cclm-2021-1027>

ficha técnica

_ Título: Boletim Epidemiológico Observações

_ Periodicidade: Quadrimestral

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

_ Numeração: 2ª série

Volume 15, número 39
janeiro - abril 2026

_ 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

Cristina **Furtado**, Departamento de Doenças Infecciosas

Manuela **Cano**, Departamento de Saúde Ambiental

Maria João **Silva**, Departamento de Genética Humana

Paulo **Dario**, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis

Rita **Batista**, Departamento de Alimentação e Nutrição

Luísa **Romão**, Conselho Científico do INSA

_ Coordenação editorial Elvira **Silvestre**, Biblioteca da Saúde

_ Composição e paginação Rodrigo **Jorge**

(segundo layout inicial de Nuno Almodovar Design, Lda.)

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2026.

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

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

www.insa.pt