



Lisboa_INSA, IP

publicação quadrimestral_janeiro - abril

ISSN: 2183-8873 (em linha)

Observações

— Boletim Epidemiológico

sumário_

_Editorial

A biomonitorização humana como suporte das políticas de saúde e ambiente p 02

Human biomonitoring as a support for health and environment policies

Maria João Silva

_Artigos breves

_Doenças genéticas e condições de base genética

1_ Avanços no diagnóstico das doenças mitocondriais através da sequenciação de nova geração p 05

Advances in the diagnosis of mitochondrial diseases by next generation sequencing

Célia Nogueira, Cristina Pereira, Lisbeth Silva, Marisa Encarnação, Elisa Leão Teles, Esmeralda Rodrigues, Teresa Campos, Patrícia Janeiro, Ana Gaspar, Gabriela Soares, Anabela Bandeira, Esmeralda Martins, Marina Magalhães, Helena Santos, Luís Vieira, Laura Vilarinho

2_ Vitamina D e autoimunidade na população portuguesa p 09

Vitamin D and autoimmunity in the Portuguese population

Andreia Bettencourt, António Marinho, Ana Martins da Silva, Berta Martins da Silva, Paulo Pinho e Costa

3_ Colesterol total, nem oito(enta) nem (duzentos e) oitenta: Parte 1 – Defeitos da biossíntese do colesterol p 12

Total cholesterol, low is not always the best: Part 1 - Cholesterol biosynthesis defects

Maria Luís Cardoso, Ana Catarina Alves, Mafalda Bourbon

_Avaliação da qualidade laboratorial

4_ Participação em programas de avaliação externa da qualidade na fase pré-analítica – o papel do PNAEQ p 17

Participation in pre-analytical external quality assessment programs - the role of PNAEQ

Ana Cardoso, Helena Correia, Ana Faria, Gizela Santos, Marília Faisca, Rosário Luís

_Infeções gastrointestinais e toxinfecções alimentares

5_ Caracterização fenotípica de isolados de *Shigella* spp. entre 2015 e 2017 p 21

Phenotypic characterization of isolates of Shigella spp. between 2015 and 2017

Leonor Silveira, Ângela Pista, Jorge Machado

6_ Investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, 2016 p 24

Laboratory investigation of foodborne disease outbreaks, 2016

Margarida Saraiva, Cristina Belo Correia, Isabel Campos Cunha, Anabela Coelho, Carla Maia, Cláudia Pena, Conceição Costa Bonito, Cristina Flores, Isabel Bastos Moura, Isabel Sousa, Maria João Barreira, Maria Manuel Toscano, Rosália Furtado, Sílvia Marcos, Susana Santos, Teresa Teixeira Lopes, Maria Antónia Calhau

7_ Kit Educar para prevenir (10º-12º anos): prevenção de toxinfecções alimentares p 29

Kit Educate to prevent (high school level): foodborne outbreaks prevention

Sílvia Viegas, Paulo Fernandes, Roberto Brazão, M Graça Dias

_Lesões e acidentes

8_ Encaminhamento das vítimas de acidentes domésticos e de lazer em Portugal: resultados do sistema EVITA entre 2013 e 2015 p 33

Referral of victims of home and leisure accidents in Portugal: results from the EVITA system from 2013 to 2015

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

A biomonitorização humana como suporte das políticas de saúde e ambiente

Human biomonitoring as a support for health and environment policies

Na sociedade moderna, o homem encontra-se exposto a um vasto espectro de poluentes ou estressores ambientais e suas misturas, presentes no ar, solo, água, produtos de consumo e alimentos. Alguns desses poluentes causam efeitos deletérios no organismo, sendo que a exposição humana prolongada, mesmo que a baixas doses, pode associar-se ao desenvolvimento de patologias crônicas e cancro. De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde, cerca de 23% do total de mortes ocorridas em 2012, a nível mundial, são atribuíveis a fatores ambientais, englobando os agentes físicos, químicos e biológicos externos ao indivíduo, bem como os comportamentos com eles relacionados (1). De entre as principais doenças com causas predominantemente ambientais estão as doenças cardiovasculares (20%), as doenças respiratórias (14%) e as doenças oncológicas (4%) (1). Importa, pois, proteger a saúde humana relativamente aos riscos decorrentes da exposição ambiental, para prevenir futuros casos de doença. Visando essa proteção precoce, dois tipos de abordagem podem ser seguidos: determinar e tentar controlar a exposição aos estressores ambientais através de ações de biomonitorização humana (BMH), ou determinar as concentrações dessas substâncias nas matrizes ambientais, isto é, realizar uma monitorização ambiental (2).

A BMH pode ser definida como um método para avaliação da exposição humana a substâncias químicas, ou os efeitos da mesma, através da determinação das concentrações dessas substâncias, dos seus metabolitos ou de produtos de reação nos fluídos biológicos (3). Assim, a BMH envolve a colheita de amostras biológicas tais como sangue, urina, saliva, leite materno, cabelo e unhas e a análise de biomarcadores de exposição numa amostra de indivíduos representativa de uma população. A comparação dos dados obtidos com os valores de referência, ou com os valores de uma população não exposta aos agentes em causa, contribuirá para avaliar o risco para a saúde dos indivíduos expostos, e conduzirá, se neces-

sário, a ações corretivas (4,5). Apesar de, num sentido mais estrito, a BMH compreender essencialmente uma análise da exposição, os estudos têm vindo a progredir para a designada epidemiologia molecular em que, a um desenho epidemiológico se aliam indicadores de efeitos biológicos e de suscetibilidade individual, por forma a obter uma relação contínua entre exposição ambiental e doença (figura 1). Esses eventos compreendem a estimativa da dose biologicamente efetiva num determinado tecido ou órgão, bem como a caracterização de efeitos biológicos precoces (p. ex., lesões do genoma, alterações do metabolismo, alterações endócrinas) e da variabilidade interindividual na resposta aos poluentes, determinada, em grande parte, pela constituição genética de cada indivíduo. Mais recentemente, a incorporação das tecnologias “ómicas”, por ex., metabolómica, transcritómica ou proteómica nos estudos epidemiológicos tem sido prometedora (6), embora exija ainda o desenvolvimento de mais ferramentas bioinformáticas para facilitar a análise e interpretação da grande quantidade de dados gerados.

Os resultados produzidos nos estudos ou programas de BMH refletem a exposição agregada de uma população a poluentes ambientais, bem como os seus efeitos precoces; a utilidade desses achados está representada na figura 2. A sua comunicação aos profissionais de saúde, reguladores e decisores políticos é de grande relevância para a gestão do risco, por exemplo, através da implementação de medidas de prevenção da exposição ou de mitigação dos riscos identificados (7). Uma aplicação menos óbvia, mas não menos importante da BMH, está na avaliação da exposição humana a substâncias químicas após a ocorrência de acidentes ou incidentes ambientais (p.ex., incêndios florestais de grandes dimensões) ou ocupacionais (p.ex., derrames químicos) e na avaliação do seu impacto na saúde (8).

Com o objetivo de colmatar as lacunas de conhecimento no domínio da BMH e promover abordagens inovadoras de uma forma harmonizada, ao nível europeu, surgiu a Iniciativa Europeia de Biomonitorização Humana – HBM4EU (<https://www.hbm4eu.eu/>), financiada pela União Europeia através do Programa Horizonte 2020, da qual o Instituto

Figura 1: Continuum de eventos desde a exposição a poluentes ambientais até ao desenvolvimento de doença e biomarcadores associados.

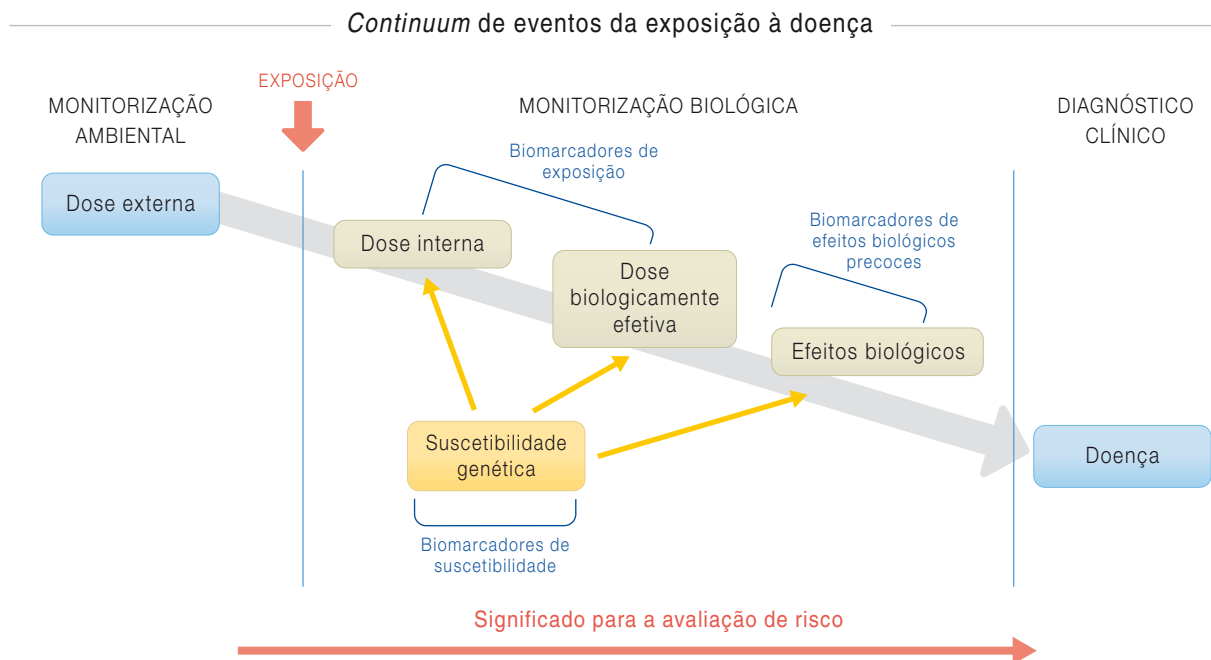
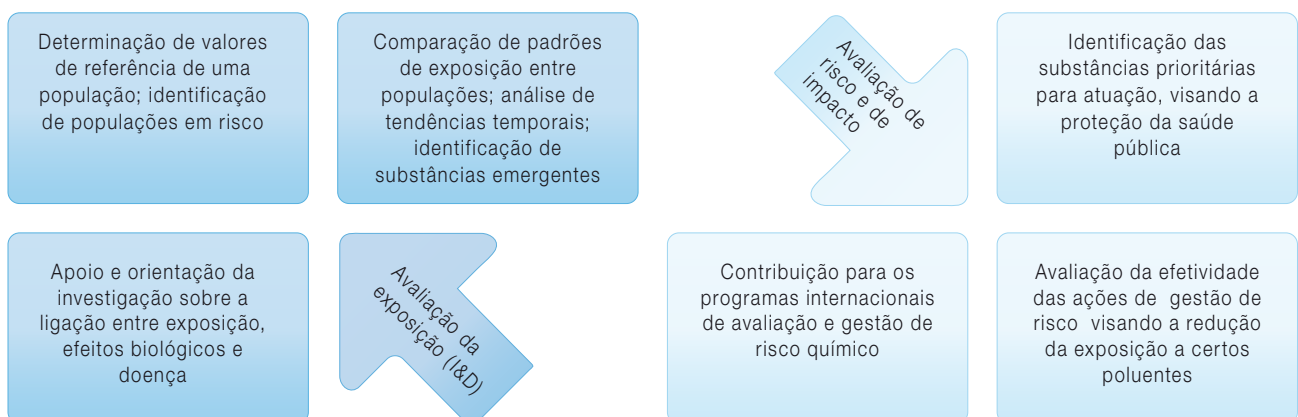


Figura 2: Potencial de utilização dos dados da biomonitorização humana pela comunidade científica, profissionais de saúde, reguladores e decisores políticos, com vista à prevenção da doença associada a fatores ambientais.

Utilidade dos dados de biomonitorização humana



Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge é parceiro. Esta iniciativa coordenada pela Agência Federal do Ambiente Alemã, que representa um esforço conjunto de 28 países, assenta num programa estruturado em três áreas temáticas centrais, a saber: i) interface entre a ciência e as políticas setoriais; ii)

implementação de uma plataforma europeia de biomonitorização humana e iii) investigação de associações entre exposição e saúde. O projeto HBM4EU tem como principal objetivo coordenar e promover a BMH na Europa, procurando fornecer evidências sobre a exposição dos cidadãos europeus a subs-

tâncias químicas e os seus potenciais efeitos na saúde. Tentará, ainda, estabelecer pontes entre os domínios da investigação científica e da regulamentação, no sentido de apoiar a formulação de melhores políticas de ambiente e saúde. Em Portugal, e contrariamente ao que acontece noutros países europeus, não existe um Programa Nacional de Biomonitorização Humana. Por esse motivo, os dados existentes sobre a exposição da população portuguesa a poluentes ambientais ou ocupacionais encontram-se dispersos por algumas dezenas de publicações científicas e relatórios, o que dificulta uma visão integrada do problema e, bem assim, a implementação de políticas baseadas na evidência científica. A participação no projeto HBM4EU promoveu o estabelecimento de um protocolo de colaboração entre a Fundação para a Ciência e Tecnologia, a Direção-Geral da Saúde, a Agência Portuguesa do Ambiente e o Instituto Nacional de Saúde, todos parceiros do HBM4EU, para a criação de uma Plataforma Nacional sobre Biomonitorização Humana. Esta congregará os interesses nacionais nessa matéria procurando, por um lado, que os dados nacionais sejam refletidos no HBM4EU e beneficiando, por outro, do conhecimento produzido no âmbito desse projeto. Espera-se que a recolha e análise de dados, bem como os estudos de BMH que se venham a realizar no âmbito desse projeto, contribuam para apoiar as políticas de saúde e ambiente na Europa visando, em última instância, a prevenção da doença associada a fatores ambientais.

Maria João Silva

Investigadora Auxiliar, Unidade de Investigação e Desenvolvimento do Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

Referências bibliográficas:

- (1) Prüss-Ustün A, Wolf J, Corvalán C, et al. Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the burden of disease from environmental risks. Geneva: World Health Organization, 2016. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/204585>
- (2) Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health*. 2007;210(3-4):201-28.
- (3) Centers for Disease Control and Prevention. Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta, GA: CDC, 2015.
- (4) Zielhuis, RL. Recent and potential advances applicable to the protection of workers' health - biological monitoring. II. In: Berlin A, Yodaiken RE, Henman BA. (eds). Assessment of toxic agents at the workplace - roles of ambient and biological monitoring. Boston: Martinus Nijhoff Publishers/Commission of the European Communities, 1984, pp. 84-94. <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/44e66237-ad1c-4233-8646-d52a333e5a9a>
- (5) Ganzleben C, Antignac JP, Barouki R, et al. Human biomonitoring as a tool to support chemicals regulation in the European Union. *Int J Hyg Environ Health*. 2017 ;220(2 Pt A):94-97.
- (6) Bonassi S, Taioli E, Vermeulen R. Omics in population studies: a molecular epidemiology perspective. *Environ Mol Mutagen*. 2013;54(7):455-60.
- (7) World Health Organization. Human biomonitoring: facts and figures. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/276311/Human-biomonitoring-facts-figures-en.pdf?ua=1
- (8) RIVM Project Team Health Research Firework Disaster Enschede. Firework disaster Enschede: Measurements of elements in blood and urine; health impact assessment. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment, 2001. <https://www.rivm.nl/dsresource?objectid=e5d4b606-03a9-4468-bea1-25ba0ff964f8&type=org&disposition=inline>

Avanços no diagnóstico das doenças mitocondriais através da sequenciação de nova geração

Advances in the diagnosis of mitochondrial diseases by next-generation sequencing

Célia Nogueira^{1,2}, Cristina Pereira², Lisbeth Silva¹, Marisa Encarnação¹, Elisa Leão Teles³, Esmeralda Rodrigues³, Teresa Campos³, Patrícia Janeiro⁴, Ana Gaspar⁴, Gabriela Soares⁵, Anabela Bandeira⁵, Esmeralda Martins⁵, Marina Magalhães⁵, Helena Santos⁶, Luís Vieira⁷, Laura Vilarinho^{1,2}

celia.nogueira@insa.min-saude.pt

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

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

(3) Centro Hospitalar São João, Porto, Portugal.

(4) Centro Hospitalar Lisboa Norte, Lisboa, Portugal

(5) Centro Hospitalar Universitário do Porto, Porto, Portugal.

(6) Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, Vila Nova de Gaia, Portugal.

(7) Unidade de Tecnologia e Inovação. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

_Resumo

O recente desenvolvimento da tecnologia de sequenciação de nova geração (NGS) revolucionou o diagnóstico molecular das doenças genéticas raras, de difícil diagnóstico, tais como as doenças mitocondriais. O estudo destas patologias foi implementado em 1993 pelo nosso grupo e até à data foram investigados mais de 2500 doentes portugueses. Muitos destes doentes ainda não dispõem de diagnóstico molecular, pelo que foi desenvolvida uma estratégia de NGS para a identificação da mutação causal. A sequenciação de um painel de 209 genes nucleares associados a doenças mitocondriais e do DNA mitocondrial completo por NGS, foi realizada num sequenciador MiSeq (Illumina). O estudo de 145 doentes permitiu identificar 41 mutações causais e caracterizar 35 doentes. Esta investigação contribuiu para esclarecer a etiologia molecular destes doentes (35/145; 24%), ii) alargar o espetro mutacional destas patologias e, iii) oferecer um aconselhamento genético e um eventual diagnóstico pré-natal aos casais em risco. O desenvolvimento de um painel, específico para estas patologias, tem um caráter inovador e reforça o nosso Centro como laboratório nacional para o estudo e investigação de doenças mitocondriais.

_Abstract

Recent development of high throughput, next-generation sequencing (NGS) technology has revolutionized the research and molecular diagnosis of hard-to-diagnose genetic disorders such as mitochondrial disorders. The study of these diseases was implemented in 1993 by our group and to date more than 2,500 Portuguese patients have been investigated. As many of these patients do not yet have molecular diagnosis, an NGS strategy was developed to identify the causal mutation. NGS was performed in a MiSeq Illumina instrument using a custom mitochondrial gene panel with around 209 genes involved in mitochondria metabolism and the entire human mitochondrial genome. The study of 145 patients allowed the identification of 41 causal mutations and the molecular characterization of 35 patients. This investigation contributed to i) identify the pathogenic mutations in the studied patients (35/145; 24%), ii) expand the mutational spectrum in the etiology of these disorders, and iii) propose an accurate genetic counseling. Custom design panels have been widely used for molecular heterogeneous disorders however, the development of this panel will be innovative in our country strengthening our Center as a national reference for the study and research of mitochondrial disorders.

_Introdução

As doenças mitocondriais constituem um importante grupo de doenças hereditárias do metabolismo de expressão clínica e genética heterogénea. A maioria das doenças mitocondriais descritas é causada por disfunções ao nível do sistema da fosforilação oxidativa (OXPHOS), originando consequentemente uma deficiente produção de energia. O correto funcionamento do OXPHOS resulta de uma interação coordenada entre o genoma nuclear e mitocondrial. Assim, estas doenças podem ser causadas por alterações no genoma mitocondrial, no genoma nuclear ou na interação entre os dois genomas (1,2). Estas disfunções podem afetar qualquer órgão ou tecido do organismo, embora o músculo-esquelético, o músculo cardíaco e o sistema nervoso central sejam os mais afetados, devido à sua elevada dependência do metabolismo energético (3). Aproximadamente 1:5.000 indivíduos na população adulta e infantil são portadores deste grupo de doenças raras ou correm o risco de as virem a desenvolver. Estas doenças são uma causa comum de mortalidade e/ou morbidade crónica, não estando disponível, salvo raras exceções, nenhuma terapia eficaz (4). Estima-se que 30-40% dos doentes afetados, na sua maioria de idade pediátrica, não dispõem de diagnóstico molecular.

As vias metabólicas envolvidas na comunicação mito-nuclear são complexas, e segundo a literatura, o proteoma mitocondrial possui cerca de 1500 proteínas com um número de genes

candidatos equivalente (5,6). Todos estes genes podem ser considerados potenciais candidatos para estas doenças, no entanto até à data cerca de 200 genes apresentam mutações causais descritas.

O estudo destas patologias foi implementado em 1993 pelo nosso grupo e até à data foram investigados mais de 2500 doentes clinicamente suspeitos de doença mitocondrial. Estes doentes têm sido selecionados por clínicos especializados nas áreas de neurologia, pediatria, neuropediatria, entre outras, com o objetivo de esclarecer a sua respetiva etiologia molecular. Os estudos moleculares realizados permitiram diagnosticar grande parte destes doentes, no entanto alguns continuam sem a identificação da mutação causal.

A aplicação da tecnologia de sequenciação de nova geração (NGS) ao diagnóstico molecular destas patologias é inovadora no nosso país e reforça o nosso Centro como laboratório nacional para o estudo e investigação de doenças mitocondriais.

_Objetivo

Desenvolver uma estratégia de NGS para a identificação das mutações causais em doentes suspeitos de doenças raras, nomeadamente doenças mitocondriais, de um modo mais rápido e a um custo acessível.

_Doentes e métodos

Foram estudados 145 doentes, provenientes de vários Centros Hospitalares do país, com suspeita clínica bioquímica e/ou histológica de doença mitocondrial. Estes doentes têm sido investigados ao nível molecular no nosso laboratório durante vários anos, pelo método clássico de Sanger, no entanto a sua etiologia molecular continua por esclarecer.

O DNA genómico foi extraído a partir de sangue periférico utilizando o *kit* QIAamp DNA Blood (QIAGEN).

O NGS foi realizado num sequenciador MiSeq (*Illumina*), através da utilização de um painel desenhado, de acordo com a metodologia *SureSelect QXT* da *Agilent*, com 209 genes nucleares associados a doenças mitocondriais, assim como

pela sequenciação do DNA mitocondrial completo (mtDNA), utilizando a metodologia *Nextera XT* da *Illumina* (figura 1). Este sequenciador foi adquirido através do projeto de investigação do NORTE 2020 (NORTE-01-0246-FEDER-000014 DESVENDAR “DESCobrir, VENcer as Doenças rARas”).

As sequências geradas pelo Miseq (ficheiros FASTQ) foram alinhadas com o genoma humano de referência NCBI (GRCh37/hg19), utilizando o algoritmo *Burrows-Wheeler* (BWA) do *software Surecall*, e com o genoma mitocondrial de referência através do *software SeqMan* (DNASTAR), respetivamente (figura 1).

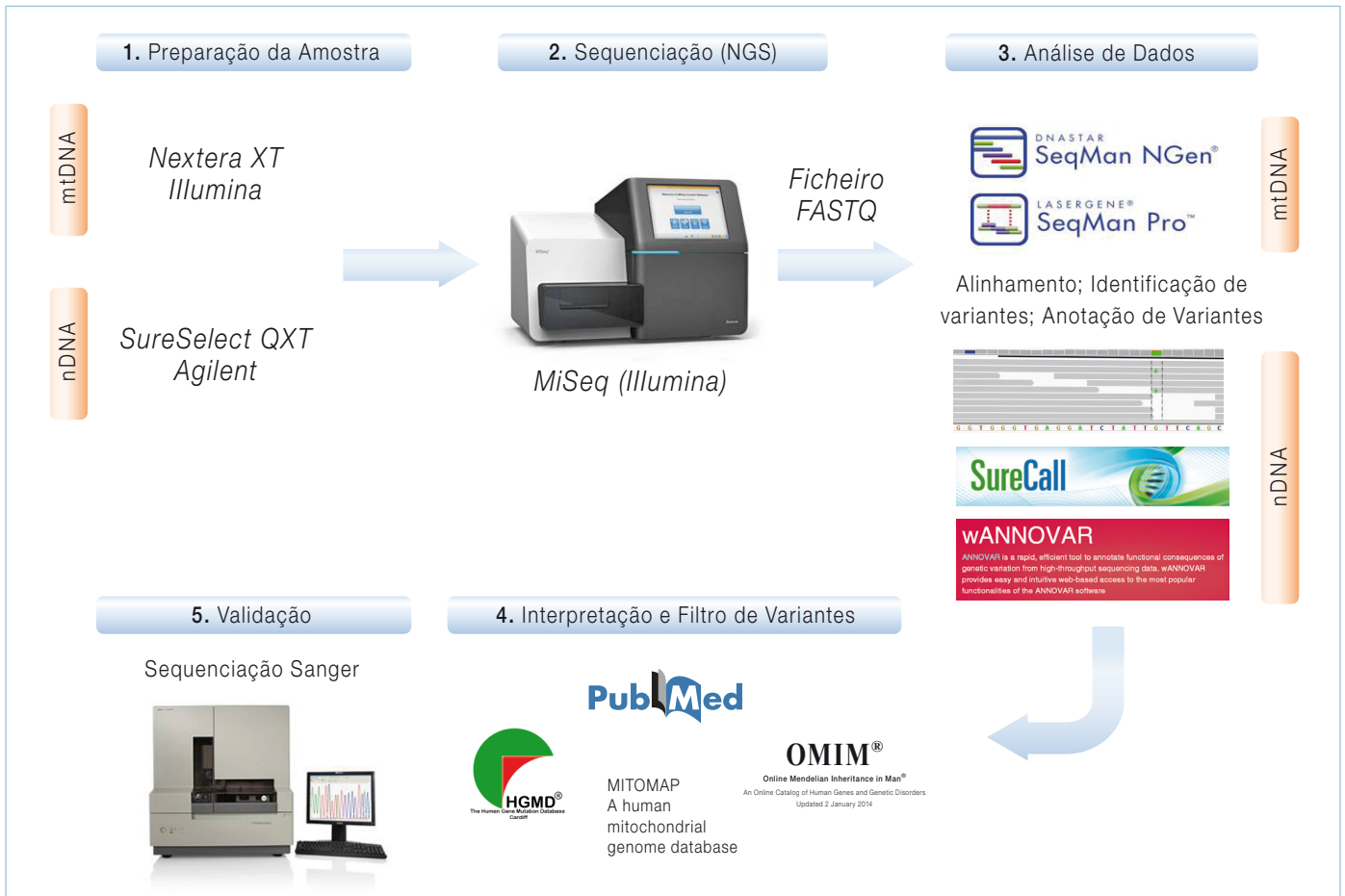
Em relação ao painel de genes nucleares, a deteção e anotação das variantes de nucleotídeo único (SNVs) e das pequenas inserções/deleções (INDELs) foram realizadas utilizando programas comerciais disponíveis (*Surecall* e *AnnoVar*). As variantes foram filtradas tendo em conta o tipo de mutação, a frequência populacional, a presença em bases de dados (dbSNP, HGMD, ClinVar, etc.), preditores *in-silico*, etc. Para o mtDNA a deteção de variantes foi realizada com o *software SeqMan* (DNASTAR) e cada variante identificada foi pesquisada na base de dados *Mitomap* (7) (figura 1).

As variantes já classificadas como mutações patogénicas ou com previsões *in-silico* sugestivas de patogenicidade, foram confirmadas pela sequenciação tradicional de Sanger. Quando disponíveis amostras de outros membros da família realizaram-se estudos de co-segregação.

_Resultados

Através da sequenciação do painel de genes nucleares nos 145 doentes obteve-se uma média de 4.193.476 leituras/amostra e uma profundidade de leitura média de 213X por amostra. A média de variantes identificadas para cada amostra foi de 438 e após a análise destas, filtrando através de vários parâmetros, identificamos a mutação ou mutações patogénicas em genes nucleares em 29 casos. Em oito casos encontraram-se mutações em homocigotia e nos restantes 21 identificaram-se mutações em heterocigotia, em genes com hereditariedade autossómica dominante ou recessiva. A maioria das mutações identificadas não se

Figura 1: Fluxo de trabalho utilizado na sequenciação de nova geração do DNA mitocondrial e do painel de genes nucleares.



(1) As regiões de interesse são preparadas utilizando o *kit* Nextera XT (mtDNA) e o *kit* Sureselect QXT (painel de genes nucleares). (2) A *pool* equimolar das amostras preparadas é sequenciada no MiSeq. (3) As seqüências obtidas (ficheiros FASTQ) são alinhadas contra os respetivos genomas de referência e as variantes são detetadas utilizando algoritmos disponíveis em programas como o Surecall (painel de genes nucleares) e o SeqMan (mtDNA). As variantes são anotadas utilizando o programa SeqMan (mtDNA) e wANNOVAR (painel de genes nucleares). (4) A interpretação e filtro das variantes são efetuados através da pesquisa em bases de dados. (5) As variantes patogénicas ou provavelmente patogénicas são confirmadas pelo método de Sanger.

encontra descrita na literatura (n=21), no entanto localizam-se em genes recentemente associados a estas doenças com um número ainda reduzido de mutações descritas.

Através da sequenciação do genoma mitocondrial completo foram identificadas mutações patogénicas em seis casos, tendo sido descritas pela primeira vez neste estudo.

Dos 145 doentes sequenciados, identificaram-se mutações patogénicas associadas a doença mitocondrial em 35 (24%). Todas as mutações foram confirmadas e efetuaram-se estudos familiares de co-segregação.

_Discussão

A tecnologia de NGS tem revolucionado o diagnóstico molecular destas doenças, uma vez que tem capacidade de gerar uma enorme quantidade de dados num curto espaço de tempo a um custo acessível. Esta abordagem é ideal para uma vasta gama de aplicações, tais como: a sequenciação de um conjunto de genes previamente selecionados (painéis de NGS) ou a sequenciação do exoma humano completo (WES) ou do genoma humano completo (WGS) (8,9). O NGS está a ser aplicado a várias áreas, principalmente na investigação de doenças raras e do cancro e permite a multianálise de genes

artigos breves_ n. 1

diferentes na mesma corrida proporcionando efetuar uma medicina personalizada com base na epidemiologia molecular.

O presente estudo possibilitou esclarecer a etiologia molecular de 24% dos doentes estudados, contribuindo para o seu diagnóstico definitivo. Se compararmos a percentagem de casos positivos com a obtida noutros estudos, verificamos que os resultados são sobreponíveis (10,11). Os doentes que após esta primeira abordagem permaneçam sem diagnóstico molecular irão ser selecionados para WES, na tentativa de se identificarem novos genes associados a estas doenças raras de difícil diagnóstico.

A aplicabilidade de plataformas de NGS provou ser uma ferramenta essencial para atingirmos um diagnóstico final para estes doentes, uma vez que é muito difícil obter estes resultados pelo método tradicional, por ser um método bastante moroso e dispendioso.

Conclusão

A tecnologia de NGS é extremamente versátil e permite assim num único teste sequenciar um elevado número de genes de um modo mais rápido e económico, sendo considerada no atual estado da arte o novo *gold-standard* em diagnóstico genético. A transferência desta tecnologia da investigação para a rotina laboratorial vai melhorar o diagnóstico das doenças mitocondriais e permitir oferecer um aconselhamento genético e diagnóstico pré-natal às famílias afetadas.

Financiamento:

Estudo financiado por: Fundação da Ciência e Tecnologia (PTDC/DTP-PIC/2220/2014, *Genetic Defects of Mitochondrial Diseases: a Next Generation Sequencing Approach*) - implementação da tecnologia de NGS e o desenho de um painel de genes nucleares aplicado ao diagnóstico das doenças mitocondriais; Programa NORTE 2020 (NORTE-01-0246-FEDER-000014, DESVENDAR "DESCobrir, VENcer as Doenças rARas") - aquisição de equipamentos para a realização da sequenciação de nova geração.

Referências bibliográficas:

- (1) DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med*. 2003 Jun 26;348(26):2656-68.
- (2) Ghezzi D, Zeviani M. Assembly factors of human mitochondrial respiratory chain complexes: physiology and pathophysiology. *Adv Exp Med Biol*. 2012;748:65-106.
- (3) Goldstein AC, Bhatia P, Vento JM. Mitochondrial disease in childhood: nuclear encoded. *Neurotherapeutics*. 2013;10(2):212-26.
- (4) Chinnery PF. Mitochondrial Disorders Overview. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. (eds). *SourceGeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018. 2000 Jun 8 [updated 2014 Aug 14]. www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1224/
- (5) Herrmann JM, Longen S, Weckbecker D, et al. Biogenesis of mitochondrial proteins. *Adv Exp Med Biol*. 2012;748:41-64.
- (6) Calvo SE, Clauser KR, Mootha VK. MitoCarta2.0: an updated inventory of mammalian mitochondrial proteins. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):D1251-7. Epub 2015 Oct 7. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4702768/
- (7) MITOMAP - A human mitochondrial genome database [Internet]. [consult. 3/4/2018] <http://www.mitomap.org>
- (8) Carroll CJ, Brilhante V, Suomalainen A. Next-generation sequencing for mitochondrial disorders. *Br J Pharmacol*. 2014;171(8):1837-53. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3976608/
- (9) Wong LJ. Next generation molecular diagnosis of mitochondrial disorders. *Mitochondrion*. 2013;13(4):379-87.
- (10) Legati A, Reyes A, Nasca A, et al. New genes and pathomechanisms in mitochondrial disorders unraveled by NGS technologies. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1857(8):1326-35. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.02.022>
- (11) Fernandez-Marmiesse A, Gouveia S, Couce ML. NGS Technologies as a Turning Point in Rare Disease Research, Diagnosis and Treatment. *Curr Med Chem*. 2018;25(3):404-32. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5815091/

Vitamina D e autoimunidade na população portuguesa

Vitamin D and autoimmunity in the Portuguese population

Andreia Bettencourt¹, António Marinho^{1,2}, Ana Martins da Silva^{1,3}, Berta Martins da Silva¹, Paulo Pinho e Costa^{1,4}

paulo.costa@insa.min-saude.pt

(1) Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

(2) Unidade de Imunologia Clínica. Centro Hospitalar do Porto-Hospital de Santo António, Porto, Portugal.

(3) Serviço de Neurologia. Centro Hospitalar do Porto-Hospital de Santo António, Porto, Portugal.

(4) Departamento de Genética Humana. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal.

_Resumo

A vitamina D é única entre as vitaminas pois trata-se de uma verdadeira hormona, à qual tem sido atribuída grande importância na homeostasia do sistema imune, para lá do seu reconhecido papel no metabolismo fosfocálcico. A ampla expressão do seu recetor (VDR), e os numerosos locais de ligação deste em todo o genoma, dão suporte a essa hipótese. Alguns polimorfismos do gene do VDR têm sido associados com doenças autoimunes. Na população portuguesa, demonstramos que o polimorfismo Fok I do VDR está associado à esclerose múltipla (EM), e à gravidade da doença no lúpus eritematoso sistémico (LES). Os baixos níveis séricos de vitamina D também estão associados com um risco aumentado de desenvolver doenças autoimunes como o LES, a EM e a artrite reumatoide. A insuficiência de vitamina D é muito comum em Portugal, podendo afetar entre os 60% e os 95% da população em função da estação do ano e do índice de massa corporal. O desenvolvimento de estratégias para o rastreio da deficiência de vitamina D é crucial, particularmente em grupos de risco. Não existem ainda, no entanto, evidências suficientes que possibilitem emitir recomendações claras e bem fundamentadas para a suplementação de vitamina D como medida preventiva de doenças crónicas, tendo em conta os riscos e benefícios inerentes.

_Abstract

Vitamin D is unique among vitamins, as it represents a real hormone to which great importance in the homeostasis of the immune system has been ascribed, beyond its known role in phosphocalcic metabolism. The wide expression of its receptor (VDR), and the numerous binding sites for this receptor along the genome support this hypothesis. Some well known VDR polymorphisms have been associated with autoimmune disease susceptibility. In the Portuguese population, we have shown that the VDR Fok I polymorphism is associated with multiple sclerosis (MS), and with disease severity in systemic lupus erythematosus (SLE). Low vitamin D serum levels are also associated with an increased risk of developing autoimmune diseases such as SLE, MS and rheumatoid arthritis. Vitamin D insufficiency is extremely common in Portugal, and can affect 60% to 85% of the population, depending on the season of the year and body-mass index. The development of screening strategies for vitamin D deficiency is needed, particularly for high-risk individuals. However, sufficient evidences are not yet available to make it possible to provide clear and well founded recommendations for the use of vitamin D supplementation in the prevention of chronic disease, taking into account the inherent risks and benefits.

_Introdução e objetivo

A vitamina D tem emergido na comunicação social com considerável relevo, sendo-lhe atribuída grande importância na manutenção do estado de saúde em geral, e na homeostasia do sistema imune em particular.

A vitamina D é única entre as vitaminas pois funciona como uma hormona, e pode ser sintetizada na pele a partir da exposição à luz solar. Existem duas formas principais desta vitamina: a vitamina D2 (ergocalciferol, de origem vegetal) e vitamina D3 (colecalfiferol, que pode ser sintetizado na pele através da radiação ultravioleta – fonte principal – ou ingerido através da dieta – fonte secundária). Ambas são biologicamente inertes, sendo convertidas para a sua forma ativa através de duas reações de hidroxilação enzimática: primeiro no fígado, formando a 25-hidroxitamina D [25(OH)D], pela 25-hidroxilase, e em segundo lugar no rim, mediada pela 1 α -hidroxilase, produzindo a 1,25-dihidroxitamina D [1,25(OH)2D] ou calcitriol, a forma biologicamente ativa da vitamina D (1).

Para além dos efeitos há muito conhecidos na regulação do metabolismo fosfocálcico, outras funções têm sido atribuídas à vitamina D. Este facto é explicado pela presença de recetores de vitamina D (VDR) e de enzimas necessárias à sua conversão numa grande diversidade de células. O VDR pertence à superfamília dos receptores nucleares. No núcleo, o VDR forma complexos que podem reprimir ou ativar um grande número de genes (pensa-se que poderá envolver 3-4% de todo o genoma) implicados nos mais diversos processos fisiológicos, com relevo para a imunidade inata e adaptativa (2).

Desde 2015, temo-nos debruçado sobre o potencial efeito da insuficiência em vitamina D e das alterações genéticas do recetor da vitamina D nas doenças autoimunes.

_Resultados e discussão

Vários polimorfismos têm sido descritos no gene VDR (3), quatro dos quais amplamente investigados: FokI C>T (rs2228570), BsmI A>G (rs1544410), ApaI G>T (rs7975232), and TaqI C>T (rs731236). Na linha do que tem sido reportado noutras populações (4), observamos que na população portuguesa o polimorfismo Fok I está associado à suscetibilidade à esclerose múltipla (5) e no lúpus está associado a uma doença mais severa (6).

O nível sérico de 25(OH)D é o melhor indicador do conteúdo corporal de vitamina D uma vez que reflete a vitamina obtida a partir da ingestão alimentar e da exposição à luz solar, bem como a conversão de vitamina D a partir dos depósitos adiposos no fígado (7). Apenas as populações em risco, nomeadamente idosos, institucionalizados, grávidas e mulheres pós-menopausa (maior risco de fraturas) fazem um rastreio regular dos valores de vitamina D.

Níveis insuficientes de vitamina D têm sido correlacionados com um risco aumentado de desenvolvimento de patologias autoimunes como o lúpus, a esclerose múltipla e a artrite reumatóide (8). A associação da insuficiência de vitamina D com a esclerose múltipla também foi por nós confirmada para a população portuguesa (9).

Apesar de não haver consenso sobre os níveis ótimos de 25(OH)D, a deficiência de vitamina D é habitualmente definida como valores inferiores a 50nmol/L (20ng/ml) sendo que um nível de 50 a 75nmol/L (21 a 29ng/ml) é considerado insuficiente e níveis superiores a 75nmol/L (30ng/ml) como adequados. Considerando estes intervalos de referência, cerca de mil milhões de pessoas no mundo teriam deficiência de vitamina D ou vitamina D insuficiente (10). Contudo, os diferentes estudos realizados caracterizam-se pela diversidade dessas definições assim como do método laboratorial utilizado na determinação dos níveis séricos de vitamina D, o que impossibilita uma avaliação da real prevalência de deficiência de vitamina D (11).

Utilizando esses critérios, diferentes estudos sobre os níveis de vitamina D realizados em Portugal apresentam uma varia-

ção de deficiência ou insuficiência que varia de 60,3% a 92,7%. No entanto, a grande maioria destes estudos foi efectuada em grupos específicos, que possuem um risco aumentado de défice de vitamina D, como indivíduos hospitalizados, crianças/adolescentes ou idosos (12-25).

Em 2016 realizámos um estudo que caracterizou pela primeira vez os níveis de vitamina D numa amostra da população adulta saudável, constituída por 198 indivíduos, com idades entre os 18 e os 67 anos, que revelou que a deficiência ou insuficiência de vitamina D é prevalente no norte de Portugal (78%) (26). Como se poderia esperar tendo em conta a dependência do metabolismo da vitamina D da exposição solar, esta percentagem flutua ao longo do ano, apresentando no verão o valor mais baixo (62%), e atingindo no inverno valores de cerca de 95%. Os indivíduos entre os 36 e 50 anos apresentavam uma maior prevalência de deficiência vitamínica, e foi ainda observado que o índice de massa corporal e a estação do ano são preditores para níveis mais baixos de vitamina D. Não foram encontradas diferenças entre os géneros.

Mais recentemente, em 2017, um sub-estudo do projeto PORMETS – um estudo transversal nacional com o objetivo de determinar a prevalência da síndrome metabólica e as suas determinantes em Portugal, revelou uma prevalência de deficiência ou insuficiência de vitamina D de 85,6% (27). Para este sub-estudo 500 participantes (286 mulheres e 214 homens) foram seleccionados aleatoriamente da amostra inicial do projecto. Os níveis séricos de 25(OH)D estavam negativamente associados com síndrome metabólica, bem como com a pressão arterial e os valores de triglicédeos. A prevalência de hipovitaminose foi maior em participantes com IMC elevado e estilos de vida sedentários (27).

_Conclusão

Em comparação com outras populações europeias (28) e mundiais (29), os níveis médios de 25(OH)D observados nestes estudos foram relativamente baixos, sugerindo que muitos indivíduos em Portugal não se expõem os 10 a 15 minutos diários considerados suficientes para serem mantidos os níveis ideais de vitamina D. Além disso, a ingestão de vitamina D na população portuguesa é relativamente baixa (28).

Considerando os baixos níveis e a ingestão inadequada de vitamina D, assim como a eventual insuficiente exposição solar, seria desejável o desenvolvimento de políticas nacionais para aumentar a conscientização da importância da vitamina D para a saúde, e o desenvolvimento de estratégias para a identificação da deficiência de vitamina D, especialmente em grupos de risco. Não existem ainda, no entanto, evidências suficientes que possibilitem emitir recomendações claras e bem fundamentadas para a suplementação de vitamina D como medida preventiva de doenças crónicas, tendo em conta os riscos e benefícios inerentes (30).

Referências bibliográficas:

- (1) Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol.* 2014;21(3):319-29. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3968073/
- (2) Pike JW, Meyer MB, Benkuský NA, et al. Genomic Determinants of Vitamin D-Regulated Gene Expression. *Vitam Horm.* 2016;100:21-44. Epub 2015 Nov 27.
- (3) Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;177(1-2):145-59.
- (4) Basit S. Vitamin D in health and disease: a literature review. *Br J Biomed Sci.* 2013;70(4):161-72.
- (5) Bettencourt A, Boleixa D, Guimarães AL, et al. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism and Multiple Sclerosis in a Northern Portuguese population. *J Neuroimmunol.* 2017;309:34-37.
- (6) arvalho C, Marinho A, Leal B, et al. Association between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Portuguese patients. *Lupus.* 2015;24(8):846-53.
- (7) Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol.* 2009;19(2):73-8. Epub 2008 Mar 10.
- (8) Dankers W, Colin EM, van Hamburg JP, et al. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Front Immunol.* 2017;7:697. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5527850/
- (9) Bettencourt A, Boleixa D, Reguengo H, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in multiple sclerosis patients from the north of Portugal. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017 Sep 22. pii: S0960-0760(17)30264-9.
- (10) Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-81.
- (11) Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):1033-44. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5527850/
- (12) Alves M, Bastos M, Leitão F, et al. Vitamin D – importance of laboratory evaluation. *Rev port Endocrinol Diabetes Metab.* 2013;8(1):32-9.
- (13) Boura M, Sutre AF, Badura R, et al. Hypovitaminosis D in HIV-infected patients in Lisbon: a link with antiretroviral treatment. *J Int AIDS Soc.* 2014;17(4 Suppl 3):19826.
- (14) Castro FD, Magalhaes J, Carvalho PB, et al. Lower Levels of Vitamin D Correlate with Clinical Disease Activity and Quality of Life in Inflammatory Bowel Disease. *Arq Gastroenterol.* 2015;52(4):260-5. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-28032015000400003>
- (15) Lucas R, Costa L, Barros H. Ingestão de Cálcio e Vitamina D numa amostra urbana de mulheres portuguesas. *Arq Med.* 2005;19(1-2):7-14. www.scielo.mec.pt/pdf/am/v19n1-2/v19n1a01.pdf
- (16) Matias PJ, Jorge C, Ferreira C, et al. Cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients: effects on mineral metabolism, inflammation, and cardiac dimension parameters. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(5):905-11. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863968/
- (17) Nunes JP, Martins CS. Myocardial infarction, hypovitaminosis D and vitiligo. *Rev Port Cardiol.* 2010;29(5):839-40. www.spc.pt/DL/RPC/artigos/1202.pdf
- (18) Peixoto D, Teixeira F, Costa J, et al. Avaliação dos níveis de vitamina D na artrite idiopática juvenil. *Acta Pediatr Port* 2013;44(4):183-4. <http://actapediatrica.spp.pt/article/viewFile/778/2677>
- (19) Santiago T, Rebelo M, Porto J, et al. Hypovitaminosis D in patients admitted to an internal medicine ward. *Acta Med Port* 2012;25(2):68-76. www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/19
- (20) Santos MJ, Fernandes V, Garcia FM. Vitamin D Insufficiency in a Hospital Population: A Photograph from the Laboratory Perspective. *Acta Med Port.* 2015;28(6):726-34. www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/6253
- (21) Silva L, Freitas J, Sampaio L, et al. Vitamin D measurement in Portuguese patients with fragility fractures. *Acta Reumatol Port.* 2010;35(3):352-7. www.actareumatologica.pt/oldsite/conteudo/pdfs/12_AO_-_Vit_D_ARP2010.33AO.pdf
- (22) Cardoso S, Santos A, Guerra RS, et al. Association between serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and ultraviolet index in Portuguese older adults: a cross-sectional study. *BMC Geriatr.* 2017;17(1):256. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5664428/
- (23) Santos A, Amaral TF, Guerra RS, et al. Vitamin D status and associated factors among Portuguese older adults: results from the Nutrition UP 65 cross-sectional study. *BMJ Open.* 2017;7(6):e016123. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5724139/
- (24) Cabral M, Araújo J, Lopes C, et al. Relationship between dietary vitamin D and serum 25-hydroxyvitamin D levels in Portuguese adolescents. *Public Health Nutr.* 2018;21(2):325-332. Epub 2017 Oct 30.
- (25) Cabral M, Araújo J, Teixeira J, et al. Vitamin D levels and cardiometabolic risk factors in Portuguese adolescents. *Int J Cardiol.* 2016 Oct 1;220:501-7.
- (26) Bettencourt A, Boleixa D, Reis J, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in a healthy population from the North of Portugal. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;175:97-101. Epub 2016 Nov 5.
- (27) Raposo L, Martins S, Ferreira D, et al. Vitamin D, parathyroid hormone and metabolic syndrome - the PORMETS study. *BMC Endocr Disord.* 2017;17(1):71. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5693479/
- (28) Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull.* 2014;39(4):322-350. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4288313/
- (29) Hilger J, Friedel A, Herr R, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr.* 2014;111(1):23-45. Epub 2013 Aug 9.
- (30) Vaz-Carneiro A. Vitamin D in the Prevention of Chronic Diseases: An Evidence Based Analysis. *Acta Med Port.* 2017;30(5):351-3. www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/9176

Colesterol total, nem oito(enta) nem (duzentos e) oitenta: Parte 1 – Defeitos da biossíntese do colesterol

Total cholesterol, low is not always the best: Part 1 - Cholesterol biosynthesis defects

Maria Luís Cardoso¹, Ana Catarina Alves^{1,2}, Mafalda Bourbon¹

mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e desenvolvimento. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(2) Biosystems & Integrative Sciences Institute. Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

_Resumo

O colesterol é um componente importante das membranas celulares e da mielina, desempenhando também um papel essencial na embriogénese e desenvolvimento. As hipercolesterolemias, patologias frequentes e bastante conhecidas, têm vindo a ser alvo de atenção especial dado a sua relação com o aumento do risco cardiovascular. Pelo contrário, poucos estudos relatam as consequências por vezes dramáticas dos níveis baixos de colesterol para as células. O reconhecimento destas situações depende não só da clarificação dos limites inferiores da normalidade, dos níveis de colesterol total e lipoproteínas na população em estudo, mas também da identificação dos fenótipos (clínico e bioquímico) associados a concentrações muito baixas dos referidos parâmetros analíticos. Este artigo, é o primeiro de uma série de três, dedicados à classificação e diagnóstico de hipolipidemias, elaborados com o objetivo de favorecer o reconhecimento e diagnóstico destas doenças, e nele serão abordadas primariamente as patologias polimalformativas devidas a erros hereditários da biossíntese do colesterol; a segunda parte será dedicada às formas benignas e às hipolipidemias patológicas causadas por alterações do metabolismo das lipoproteínas e outras; finalmente na terceira parte serão abordadas as formas secundárias de hipolipidemia.

_Abstract

Cholesterol is an important structural component of cellular membranes and myelin, and it was found to play an essential role on embryogenesis and development. Special attention has been focused on hypercholesterolemia and its relationship with increased cardiovascular risk, and only a few studies reported the dramatic consequences of low cholesterol levels for cells. The diagnosis of such situations depends on the easy recognition of the normal low limits of total cholesterol and lipoproteins levels as well as on the identification of clinical and biochemical phenotypes associated with very low concentrations of cholesterol and lipoproteins in serum. This paper is the first one of a series of three, whose objective is to contribute to the classification and diagnosis of hypolipidemias and it will be primarily addressed to human malformation syndromes due to inborn errors of cholesterol biosynthesis pathway; the second part will be concerned to benign hypolipidemias, as well as to the pathological forms caused by alterations of lipoprotein metabolism; finally, secondary forms of hypolipidemia will be reported in the third part.

_Introdução

Odiado, demonizado, combatido, o colesterol é, na verdade, uma molécula indispensável à vida animal que existe de modo ubiqüitário nos tecidos e órgãos de todos os vertebrados.

As células obtêm-no por duas vias: i) interiorização de lipoproteínas circulantes (LDL) ricas em colesterol esterificado e ii) síntese endógena.

Uma vez dentro da célula o colesterol pode ser incorporado nas membranas, nas bainhas de mielina do sistema nervoso central e periférico e, dependendo do tipo de célula, pode ser distintamente metabolizado, dando origem a hormonas, oxisteróis, neuroesteróis ou sais biliares. Ele é também um agente sinaptogénico, um elemento essencial à progressão da mitose e atua como modulador da morfogénese embrionária a nível fetal (via proteínas *Sonic Hedgehog*) (1-4).

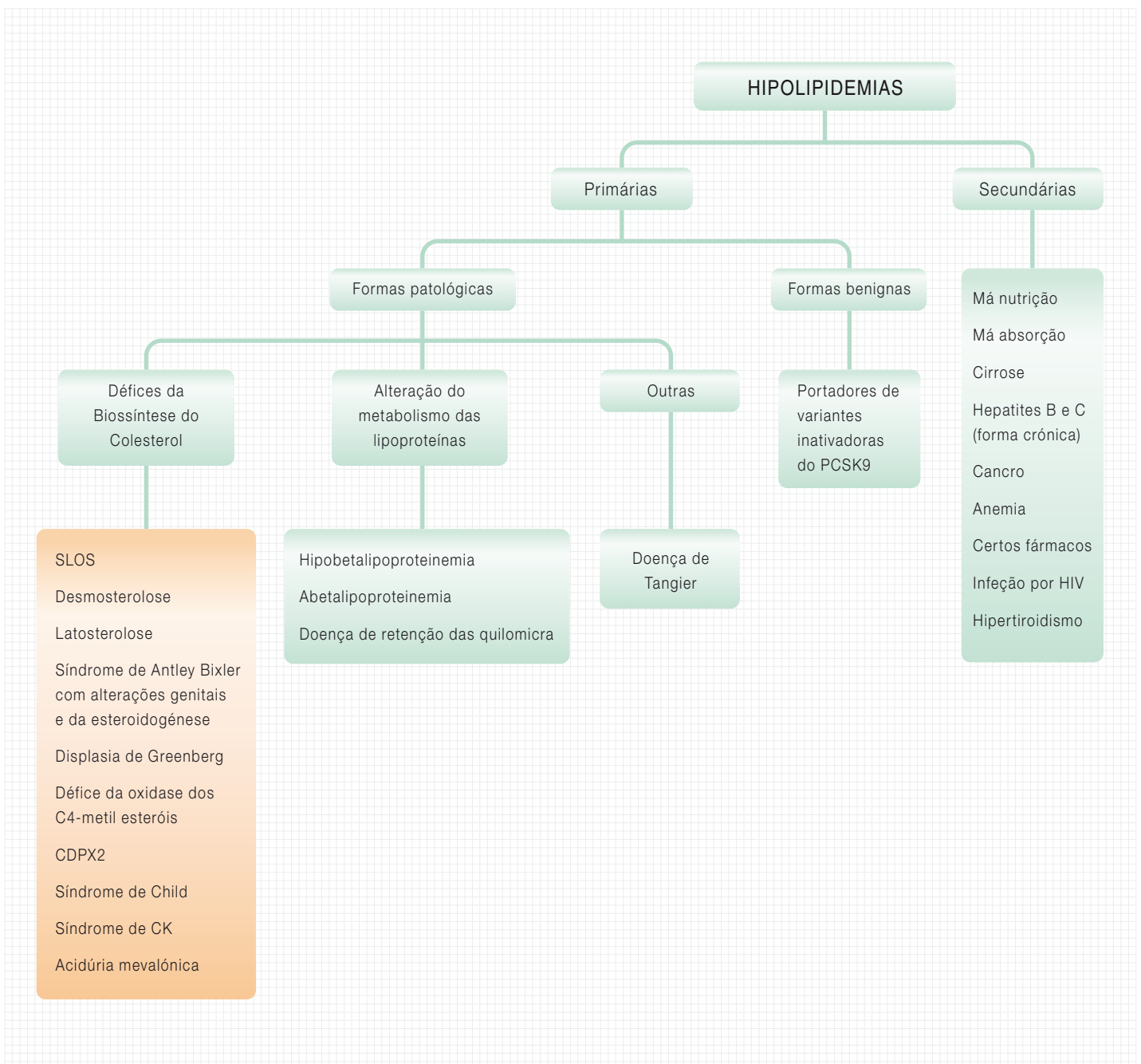
O colesterol total sérico e as suas frações HDL e LDL são parâmetros analíticos de rotina, determinados sobretudo para identificação de uma eventual hipercolesterolemia, uma vez que a alteração da homeostasia do colesterol é um fator que contribui para diversas patologias, nomeadamente a doença cardiovascular aterosclerótica, acidente vascular cerebral, doença de Alzheimer e algumas síndromes de natureza genética (5). Contrariamente à hipercolesterolemia, a hipocolesterolemia – situação fisiológica que se caracteriza por uma concentração de colesterol total sérico e colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) inferior ao percentil 5 do grupo-controlo (com a mesma idade e sexo) – não tem sido valorizada enquanto marcador bioquímico com significado patológico (6, 7), suportada pelo facto de os valores

de referência utilizados nos boletins de análises clínicas, na maioria das vezes, não especificarem um limite inferior de normalidade para o colesterol total sérico.

As hipolipidemias são entidades ainda pouco conhecidas quer dos profissionais de saúde quer da população em geral; englobam as hipolipidemias primárias – situações de natureza

hereditária (associadas a valores diminuídos de colesterol e/ou lipoproteínas), bem como condições em que, secundariamente, estes parâmetros surgem diminuídos, seja por diminuição do aporte e absorção, seja devido a processos patológicos que interferem com a biossíntese ou aumento da utilização periférica – hipolipidemias secundárias (1,5,7) (figura 1).

Figura 1: Hipolipidemias primárias e secundárias.



As hipolipidemias primárias são monogénicas, têm hereditariedade autossómica recessiva ou ligada ao cromossoma X, e podem dividir-se em dois grupos: i) benignas (englobam indivíduos portadores de variantes inativadoras do PCSK9); ii) e patológicas. Estas podem ainda subdividir-se em três grupos: défices da biossíntese do colesterol (**quadro 1**), alteração do metabolismo das lipoproteínas, e um terceiro grupo, que presentemente só é preenchido pela doença de Tangier.

_Objetivo

Este artigo é o primeiro de uma série de três, dedicados à classificação e diagnóstico de hipolipidemias e elaborados com o objetivo de favorecer o reconhecimento e diagnóstico destas patologias. Nesta parte serão abordadas as síndromes polimalformativas causadas pelos erros hereditários da biossíntese do colesterol. A parte 2 será dedicada às formas benignas de hipocolesterolemia bem como às formas patológicas devidas a alterações do metabolismo das lipoproteínas e outras causas. Por último, na parte 3 serão referidas as formas secundárias de hipolipidemias.

_Métodos

Neste trabalho realizou-se um levantamento bibliográfico das características principais do fenótipo de quinze doentes portugueses com hipolipidemia primária devida a défice na biossíntese do colesterol confirmada bioquímica e geneticamente, e confrontaram-se os níveis de colesterol total apresentados pelos doentes no momento do diagnóstico com o percentil 5 deste parâmetro (recentemente determinado para a população portuguesa pelo Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças não Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge).

_Resultados e discussão

Nos défices da biossíntese do colesterol, o processo patológico subjacente à penúria em colesterol decorre como consequência do bloqueio da via metabólica responsável pela sua síntese. Se por um lado há carência de produto, por outro observa-se uma acumulação de esteróis precursores

em quantidades anómalas, que podem ser incorporados erradamente a nível membranar, modificando as suas propriedades, ou ser metabolizados originando compostos atípicos suscetíveis de exercer uma ação biológica distinta. Os problemas começam precocemente, com um desenvolvimento embrionário anormal o qual leva ao aparecimento de diversas características fenotípicas ainda no período pré-natal, uma vez que a passagem do colesterol da mãe para o feto através da barreira placentária é limitada (8).

A mais frequente e mais estudada deste grupo de doenças hereditárias do metabolismo (**quadro 1**) é a síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS). Foi descrita em termos clínicos pela primeira vez em 1964 como uma síndrome caracterizada por atraso mental e malformações várias, e redefinida na década de noventa como doença hereditária do metabolismo quando lhe foram inesperadamente associadas a hipocolesterolemia e mutações no gene *DHCR7* (9-11).

Da análise de uma série de 15 doentes portugueses com SLOS (12) oriundos de distintos hospitais portugueses e cuja idade ao diagnóstico variou entre os oito dias e os 11 anos de idade verificou-se que, todos sem exceção apresentavam anomalias de diversos órgãos e sistemas. Em 29% dos casos foram detetadas alterações ecográficas pré-natais. As malformações mais comuns localizavam-se no esqueleto, face e aparelho genito-urinário. A sindactilia dos 2º e 3º dedos dos pés foi encontrada em 93% dos doentes e é um sinal fortemente orientador de SLOS quando associado a microcefalia. Também o “rosto SLOS” é muito característico: 87% dos doentes portugueses tinham microcefalia e narinas antevertidas (87%), estando o retrognatismo (60%) e a ptose palpebral (67%) também presentes na maioria deles; o palato alto (53%) acompanhado ou não de úvula bífida e/ou fenda labial ou palatina também foram achados bastante comuns. As alterações oculares (microftalmia, estrabismo, epicanto e cataratas) só foram observadas em alguns dos doentes. Também foram encontradas alterações pontuais no aparelho genito-urinário, nomeadamente a presença de hipospadias (37,5% dos rapazes), criptorquidia, hipoplasia renal e rim em ferradura (12,13).

Quadro 1: ↓ Défices da biossíntese do colesterol.

Patologia	MIM	Enzima deficitária	Gene e localização cromossómica	Modo de transmissão
SLOS	270400	3 β -Hidroxiesterol Δ^7 -reductase	<i>DHCR7</i> 11q12-13	AR
Desmosterolose	602398	3 β Hidroxiesterol Δ^{24} -reductase	<i>DHCR24</i> 1p31.1-p3.3	AR
Latosterolose	607330	3 β -Hidroxiesterol Δ^5 -dessaturase	<i>SC5D</i> 11q23.3	AR
Síndrome de AB com alterações genitais e da esteroidogénese	201750	P450 oxidoreductase	<i>POR</i> 7q11.2	AR
Displasia de Greenberg	215140	3 β -Hidroxiesterol Δ^{14} -reductase	<i>LBR</i> 1q42.1	AR
Défice da oxidase dos C4-metilesteróis	607545	Isoenzima da oxidase dos C4-metilesteróis	<i>SC4MOL</i> 4q3 2-q34	AR
CDPX2	302960	Esterol Δ^8 - Δ^7 isomerase	<i>EBP</i> Xp11.22-11.23	XD
Síndrome de CHILD	308050	C4-esterol desidrogenase	<i>NSDHL</i> Xq28	XD
Síndrome CK	300831	C4-esterol desidrogenase	<i>NSDHL</i> Xq28	XR
Acidúria Mevalónica	610377	Cínase do Mevalonato	<i>MVK</i> 12q24	AR

MIM – *Mendelian Inheritance in Man database*, SLOS – Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, CDPX2 – Condrodisplasia puntata do tipo 2, CHILD – Hemidisplasia congénita com nevus ictiosorme e alterações dos membros, AB – Antley Bixler, AR – Autossómico recessivo, XR – Ligado ao X recessivo, XD – Ligado ao X dominante.

Todos os doentes apresentaram positividade para o teste de pesquisa de 7-dehidrocolesterol (marcador bioquímico da síndrome) e grau variável de hipocolesterolemia (a concentração de colesterol ao diagnóstico variou entre 17 e 143 mg/dL) (12,13). Se considerarmos o valor do percentil 5 para o colesterol total na população de Portugal Continental: homens - 130 mg/dL e mulheres - 135 mg/dL (14), 14/15 doentes com SLOS acima referidos seriam rapidamente identificados e encaminhados para estudos complementares pois apresentavam valores de colesterol total entre 17 e 118 mg/dL e só um jovem do sexo masculino apresentava um valor de colesterol um pouco mais elevado (143 mg/dl) encontrando-se no percentil 10. Se nuns doentes a hipocolesterolemia é clara (14/15) noutros (1/15) pode ser ligeira

ou indetetável (facto que se explica pelo doseamento conjunto do colesterol e seus precursores, nomeadamente do 7-dehidrocolesterol, pelos micro-métodos empregados nos autoanalisadores dos laboratórios de química clínica o que implica que para diagnóstico definitivo se tenha de recorrer à análise cromatográfica dos esteróis séricos que permite a separação, identificação e quantificação do colesterol e seus precursores) (15).

Conclusão

A SLOS deverá ser considerada no diagnóstico diferencial de situações de hipocolesterolemia, associadas a síndromes polimalformativas, especialmente em crianças e jovens que apresentam simultaneamente sindactilia dos 2º e 3º dedos

dos pés e microcefalia e/ou narinas antevertidas, entre outras malformações.

Para favorecer o diagnóstico destas patologias hereditárias (doenças raras, com manifestações e início pré-natal e que cursam com valores de colesterol baixos) é importante que os laboratórios passem a disponibilizar informação relativamente à distribuição dos valores de colesterol total da população por percentis, que assinalem como alterados aqueles que se enquadram no percentil 5, e que se considere que a expressão “colesterol quanto mais baixo melhor” não pode ser aplicada de forma generalizada.

Referências bibliográficas:

- (1) Cardoso ML, Barbosa M, Fortuna AM, et al. Current issues regarding prenatal diagnosis of inborn errors of cholesterol biosynthesis. In: Choy R, Leung T (eds). Prenatal diagnosis - morphology scan and invasive methods. InTech, 2012, pp. 111-36. <https://www.intechopen.com/books/prenatal-diagnosis-morphology-scan-and-invasive-methods>
- (2) Xu F, Rychnovsky SD, Belani JD, et al. Dual roles for cholesterol in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(41):14551-6. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1239893/
- (3) Suárez Y, Fernández C, Ledo B, et al. Sterol stringency of proliferation and cell cycle progression in human cells. Biochim Biophys Acta. 2005;1734(2):203-13.
- (4) Goritz C, Mauch DH, Pfrieder FW. Multiple mechanisms mediate cholesterol-induced synaptogenesis in a CNS neuron. Mol Cell Neurosci. 2005;29(2):190-201.
- (5) Porter FD, Herman GE. Malformation syndromes caused by disorders of cholesterol synthesis. J Lipid Res. 2011;52(1):6-34. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC20929975/
- (6) Criqui MH. Very low cholesterol and cholesterol lowering. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association Task Force on Cholesterol Issues. Circulation. 1994;90(5):2591.
- (7) Moutzouri E, Elisaf M, Liberopoulos EN. Hypocholesterolemia. Curr Vasc Pharmacol. 2011;9(2):200-12.
- (8) Cardoso ML, Fortuna AM, Castedo S, et al. Diagnóstico Pré-natal de Síndrome de Smith-Lemli-Opitz. Arq Med. 2005; 19(1-2) 23-27. www.scielo.mec.pt/pdf/am/v19n1-2/v19n1a03.pdf
- (9) Smith DW, Lemli L, Opitz JM. A newly recognized syndrome of multiple congenital anomalies. J Pediatr. 1964; 64:210-7.
- (10) Tint GS, Irons M, Elias ER, et al. Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. N Engl J Med. 1994;330(2):107-13.
- (11) Waterham HR, Wijburg FA, Hennekam RC, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome is caused by mutations in the 7-dehydrocholesterol reductase gene. Am J Hum Genet. 1998;63(2):329-38. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1377322/
- (12) Cardoso ML, Bandeira A, Lopes A, et al. A síndrome de Smith-Lemli-Opitz: características fenotípicas e genotípicas dos doentes portugueses. Acta Ped Port. 2012;43(2):47-52. <http://actapediatrica.spp.pt/article/view/1100>
- (13) Cardoso ML, Balreira A, Martins E, et al. Molecular studies in Portuguese patients with Smith-Lemli-Opitz syndrome and report of three new mutations in DHCR7. Mol Genet Metab. 2005; 85(3):228-35.
- (14) Bourbon M, Mariano C, Antunes M. Establishment of lipid metabolism reference values based on population specific percentiles. 2018 (submitted for publication).
- (15) Jira PE, de Jong JG, Janssen-Zijlstra FS, et al. Pitfalls in measuring plasma cholesterol in the Smith-Lemli-Opitz syndrome. Clin Chem. 1997 Jan;43(1):129-33. www.clinchem.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=8990234

Participação em programas de avaliação externa da qualidade na fase pré-analítica – o papel do PNAEQ

Participation in pre-analytical external quality assessment programs – the role of PNAEQ

Ana Cardoso¹, Helena Correia¹, Ana Faria¹, Gizela Santos², Marília Faísca³, Rosário Luís⁴

ana.cardoso@insa.min-saude.pt

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

(2) Laboratório de Análises Clínicas Dr. J. Leitão Santos, Vila Franca de Xira, Portugal.

(3) Gnóstica – Laboratório de Análises Clínicas, Faro, Portugal.

(4) Laboratório de Patologia Clínica, Hospital Distrital de Santarém, Santarém, Portugal.

_Resumo

A fase pré-analítica tem como objetivo obter amostras de qualidade e em segurança para o técnico e o utente. Cabe ao laboratório implementar um sistema de deteção, monitorização e redução ou eliminação de erros com impacto nos resultados laboratoriais e na saúde do utente. Estas ferramentas são fornecidas no programa de AEQ da fase pré-analítica do PNAEQ, cuja taxa de participação é baixa. A realização de dois tipos de ensaios com intervenção direta do PNAEQ foi utilizada como incentivo na participação no programa, demonstrando que a avaliação de situações reais facilita a deteção de ocorrências e a implementação de ações preventivas, corretivas ou de melhoria. O cliente mistério simulou um utente com questões; na auditoria presencial observou-se o procedimento de colheita e comparou-se a avaliação do PNAEQ com a autoavaliação do laboratório. No primeiro, a taxa de participação foi de 95% e a taxa de desempenho foi de 60%; no segundo, verificou-se discordância de resultados em três pontos observados, para um dos laboratórios auditados, e concordância em todos os itens para o outro laboratório em observação. A integração destas ferramentas na rotina laboratorial permite avaliar a competência dos colaboradores e verificar a adequação dos procedimentos implementados no laboratório. A presença do PNAEQ nos laboratórios promove o diálogo com os participantes e a partilha de orientações.

_Abstract

The aim of preanalytical phase is to ensure quality samples with safety procedures. The laboratory should implement a system for detection, monitoring and reduction or elimination of errors, which may have impact on the results and the health of the patient. PNAEQ preanalytical program provides these tools to laboratories. Due to the low participation rate, were launched two scheme types with PNAEQ direct intervention as an incentive to registration in the program, demonstrating that the evaluation of real situations facilitates the detection of occurrences and the implementation of preventive, corrective or improvement actions. Mystery Client simulated a patient with questions; in the presential audit, PNAEQ observed the collecting procedure and compared with the laboratory autoevaluation. In the first scheme, the participation rate was 95% and the performance rate was 60%; in the second, there was a results disagreement in three points observed for one of the audited laboratories, and agreement in all items for the other laboratory under examination. The integration of these tools in the laboratory routine allows the evaluation of the collaborators competence and verify the acceptability of the implemented procedures. The presence of PNAEQ in the laboratories promotes the dialogue with the participants and the guidelines sharing.

_Introdução

Com as ferramentas estatísticas disponíveis para a avaliação e monitorização do controlo da qualidade da fase analítica, o objetivo dos laboratórios volta-se agora para a qualidade das amostras e para a segurança dos procedimentos na fase pré-analítica.

Para tal, o laboratório deverá implementar um sistema adequado para deteção, monitorização e redução, ou eliminação de erros com impacto potencial negativo na qualidade da amostra e, conseqüentemente, com repercussão nos resultados laboratoriais e na saúde do utente (1).

Apesar de uma maior consciencialização das direções técnicas dos laboratórios relativamente a este tema, a taxa de participação no programa nacional de avaliação da fase pré-analítica é ainda baixa, o que significa que o organizador de programas de avaliação externa da qualidade (AEQ) deve ter uma intervenção mais ativa do que a que tem sobre os programas de AEQ da fase analítica.

O Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ), inserido no Departamento de Epidemiologia (DEP) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), implementou o Programa de Avaliação Externa da Qualidade na fase pré-analítica em 2007, e tem ativo um Grupo de Trabalho (GT) desde 2015.

_Objetivos

Para incentivar a participação no programa de AEQ na fase pré-analítica, o INSA, através do PNAEQ, disponibiliza dois tipos de ensaios em que a participação dos laboratórios depende

principalmente do organizador. Um, denominado "cliente mistério", simula uma situação real visando verificar se a informação fornecida ao utente está dependente do colaborador do laboratório; a realização deste ensaio é da exclusiva responsabilidade do PNAEQ, que realiza os contactos telefónicos em dia e hora desconhecidos para o participante. O outro é a realização de uma auditoria presencial realizada por elementos do PNAEQ a laboratórios voluntários pertencentes ao GT, que permite identificar eventuais erros ocorridos durante a colheita de sangue.

Nos dois casos são avaliadas situações com impacto nos resultados analíticos. O objetivo destes dois tipos de ensaio é demonstrar que a participação em AEQ permite detetar, corrigir ou eliminar a maioria dos erros pré-analíticos quando esta fase do processo é avaliada e monitorizada.

Material e métodos

Em 2017, o PNAEQ contou com 196 laboratórios participantes em programas de AEQ para a área clínica. Destes, 10% inscreveram-se no programa de avaliação da fase pré-analítica.

Em 2015, o PNAEQ criou um GT no âmbito da fase pré-analítica, tendo sido convidados a integrar este GT todos os inscritos no programa de avaliação da fase pré-analítica. Atualmente, o GT mantém três elementos como membros ativos.

Dos vários instrumentos disponibilizados para monitorização e avaliação da fase pré-analítica e integrados no programa de AEQ, o PNAEQ tem intervenção direta na taxa de participação dos laboratórios em dois tipos de ensaios, bem como na organização de ações de formação:

Cliente mistério: foram realizadas duas chamadas telefónicas anónimas aos laboratórios que se inscreveram voluntariamente neste programa, em 2 dias diferentes, uma no período da manhã e uma no período da tarde. As chamadas foram realizadas com base num guião preparado pelo PNAEQ simulando um utente com questões.

Auditoria presencial: na reunião anual do GT foi proposta a realização de uma auditoria por dois elementos do PNAEQ, a dois laboratórios selecionados aleatoriamente (Laboratórios A e B) entre os pertencentes ao GT. Os dois auditores observaram

5 colheitas de sangue por 3 técnicos diferentes, num total de 15 observações. Os pontos observados, distribuídos por 10 itens, focavam três temas principais: identificação da amostra, qualidade da amostra e práticas de segurança.

Foi solicitado aos laboratórios inscritos neste programa que aplicassem o mesmo formulário aos técnicos que realizam colheitas de sangue, em dois momentos distintos (1º e 4º trimestres de 2017). Este exercício permitiu comparar e validar os resultados obtidos por autoavaliação do laboratório (auditor interno) e pelo auditor PNAEQ (auditor externo).

A avaliação deste ensaio resultou num relatório com os resultados gerais, incluindo comentários, recomendações e bibliografia. O envio do relatório foi acompanhado de um breve questionário de caracterização das ações implementadas (preventivas, corretivas ou de melhoria) em 2017 pelos laboratórios, após receção do relatório do 1º trimestre.

Ação de formação: integrada no Plano de Oferta Formativa 2017 do DEP/INSA, foi promovida pelo PNAEQ a formação intitulada "Avaliação e monitorização da fase pré-analítica" que teve como principais temas: as potenciais causas de erro da fase pré-analítica; a apresentação dos indicadores da qualidade selecionados pelo GT; a apresentação das metodologias e a distribuição das ferramentas de avaliação e monitorização disponibilizadas no programa, bem como a sua aplicação na avaliação do risco; a análise dos resultados do PNAEQ; e o esclarecimento de dúvidas.

Resultados

A taxa de participação e os resultados de desempenho para cada um dos ensaios foram os seguintes:

Cliente mistério: em 2017 foram rececionados 19/20 resultados, correspondentes a uma taxa de participação de 95%. De salientar que a taxa de participação em outros tipos de ensaios que dependem apenas dos laboratórios é 62% nas auditorias e 64% na monitorização de indicadores. Os resultados revelaram discordância entre as informações fornecidas pelos colaboradores entre os dois contactos telefónicos em 40% das questões colocadas ([tabela 1](#)).

Tabela 1: Resultados obtidos nas chamadas realizadas (chamada 1 versus chamada 2) para cada uma das questões colocadas, no cliente mistério.

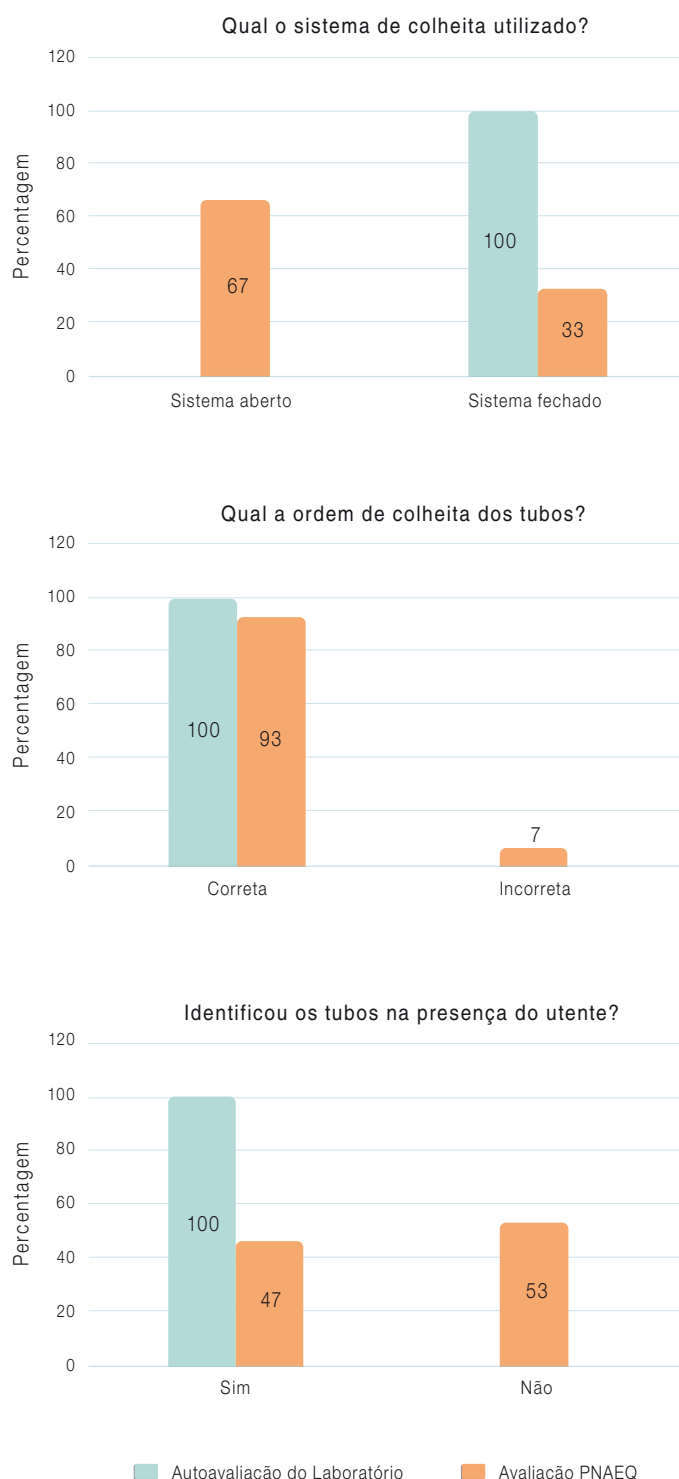
Questões colocadas	Respostas diferentes (%) (chamada 1 vs chamada 2)
Preparação prévia do utente	5
Instruções de colheita fornecidas pelo laboratório	47
Informação disponível no site	63
Valor a pagar	63
Horário de colheitas	47
Possibilidade de marcação de colheita	16
Média	40

Auditoria presencial: para o Laboratório A, a auditoria realizada pelo PNAEQ evidenciou incumprimento de boas práticas em 3 itens, quando comparada com a autoavaliação do laboratório: sistema de colheita utilizado (67% das colheitas de sangue observadas pelo PNAEQ foram realizadas com sistema aberto, ou seja, agulha e seringa, em contraste com 0% reportado pelo laboratório); ordem de colheita dos tubos (7% das colheitas observadas pelo PNAEQ obedeceram a ordem de colheita incorreta, de acordo a norma da CLSI H3-A6, em oposição a 0% reportado pelo laboratório); e identificação dos tubos na presença do utente (em 53% das colheitas de sangue observadas pelo PNAEQ, os tubos coletores não foram identificados na presença do utente, em contraste com 0% reportado pelo laboratório) (gráfico 1).

Para o Laboratório B, a auditoria PNAEQ confirmou as boas práticas em comparação com a autoavaliação do laboratório.

Em resposta ao questionário solicitando quais as ações implementadas, dos 9 laboratórios participantes, apenas 3 tiveram algum tipo de ação/melhoria no âmbito das colheitas de sangue (ações de formação, alteração de procedimentos e/ou implementação de registos complementares).

Gráfico 1: Percentagem de respostas observadas referentes às questões reportadas por autoavaliação do Laboratório A e por avaliação do PNAEQ.



Ação de formação: a taxa de inscrição na ação de formação realizada em 2017 foi de 3% (5 participantes dos 196 laboratórios inscritos no PNAEQ na área clínica). Foram registadas como necessidades de formação dos presentes a seleção de indicadores, a interpretação dos dados e a elaboração de matriz de risco.

Discussão e conclusão

As ferramentas disponibilizadas pelo PNAEQ, quando regularmente utilizadas pelos laboratórios, podem auxiliar na deteção, monitorização, avaliação e correção ou eliminação de erros pré-analíticos. A integração destes instrumentos na rotina laboratorial como parte integrante do controlo da qualidade permite comparar as suas práticas com as dos seus pares, avaliar a competência dos colaboradores e verificar a adequação dos procedimentos implementados de acordo com os requisitos legislativos, normativos e recomendações, nacionais e internacionais.

O GT da pré-analítica da *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (EFLM) identificou cinco pontos-chave para harmonização urgente (2), dos quais três foram avaliados pelo PNAEQ nestes dois ensaios (ordem da colheita, preparação do utente e procedimento de colheita), tendo sido discutidos os outros dois (transporte e acondicionamento das amostras e critérios de repetição) na ação de formação realizada. A abordagem deste tipo de ensaios/ações é essencialmente educacional, promovendo a adoção de boas práticas.

A comunicação ativa entre o PNAEQ e os participantes é uma metodologia a manter e a reforçar em ensaios futuros da fase pré-analítica. Esta cooperação permite esclarecer as dificuldades dos laboratórios nesta área e partilhar bibliografia, nomeadamente as orientações das sociedades científicas, com o objetivo último de melhorar a qualidade das amostras e garantir as boas práticas laboratoriais.

As reuniões anuais do grupo de trabalho da fase pré-analítica permitem discutir os indicadores a selecionar e as ferramentas mais adaptadas à recolha de dados pelos laboratórios, tendo como referência resultados nacionais e internacionais.

A colaboração do PNAEQ com os seus congéneres europeus, essencialmente na distribuição de questionários *online* aos participantes portugueses, permite a partilha de resultados bem como o posicionamento dos laboratórios nacionais relativamente ao seu desempenho em comparação com os laboratórios internacionais.

Referências bibliográficas:

- (1) Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 6th ed. Wayne, Pa.: CLSI, 2007. (CLSI document H3-A6)
- (2) Cornes MP, Church S, van Dongen-Lases E, et al.; Working Group for Preanalytical Phase, European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. The role of European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group for Preanalytical Phase in standardization and harmonization of the preanalytical phase in Europe. *Ann Clin Biochem.* 2016;53(Pt 5):539-47.

Caracterização fenotípica de isolados de *Shigella* spp. entre 2015 e 2017

Phenotypic characterization of isolates of *Shigella* spp. between 2015 and 2017

Leonor Silveira, Ângela Pista, Jorge Machado

leonor.silveira@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infeciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

_Resumo

Em Portugal, a shigelose é uma gastroenterite pouco frequente. Com este estudo pretendeu-se descrever os serotipos de *Shigella* spp. identificados no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2015 e 2017. Foram analisadas estirpes isoladas de 53 doentes, que foram enviadas a nível nacional ao INSA para serotipagem. A suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizada segundo as recomendações do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). Os serotipos mais frequentemente encontrados foram *Sh. sonnei* (n=37; 69,8%), *Sh. flexneri* 2 (n=7; 13,2%), *Sh. flexneri* 3 (n=3; 5,7%). Foi observada uma elevada percentagem de resistência à tetraciclina (47/53; 88,7%). Em 2017, todas as estirpes apresentaram resistência à ampicilina e a percentagem de estirpes com resistência à ciprofloxacina aumentou consideravelmente, de 5,0% em 2015 para 62,5% em 2017. Cerca de 50% das estirpes apresentaram resistência à azitromicina durante o período em análise. Foram detetados 4 casos de *Shigella* spp. multirresistentes em homens que fazem sexo com homens (HSH). O aumento de resistências aos antibióticos observados nestes dois anos alerta para a importância de uma vigilância ativa das mesmas e impõe uma articulação efetiva entre os diversos serviços de saúde envolvidos.

_Abstract

Shigella is a rare cause of gastrointestinal disease in Portugal. This study describes *Shigella* serotypes identified in National Reference Laboratory for Gastrointestinal Diseases of National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge (INSA) from 2015 to 2017. We analysed the strains isolated from fifty three patients. Antimicrobial susceptibility testing was performed according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). The most frequent serotypes were *Sh. sonnei* (n=37; 69.8%), *Sh. flexneri* 2 (n=7; 13.2%), *Sh. flexneri* 3 (n=3; 5.7%). We observed a high frequency of resistance to tetracycline (47/53; 88.7%). In 2017, all strains presented resistance to ampicillin and the percentage of strains resistant to ciprofloxacin increased from 5.0% in 2015 to 62.5% in 2017. About 50% of the strains were resistant to azithromycin. We detected four cases of multiresistant *Shigella* spp. in men who have sex with men (MSM). The increase of resistant strains observed in these two years alerts to the importance of an active vigilance and to the need of an effective articulation of the several health services involved.

_Introdução e objetivo

Shigella spp. é uma enterobactéria altamente infecciosa transmitida pela via fecal-oral, diretamente de pessoa-a-pessoa ou indiretamente através de alimentos ou água contaminados (1). As infeções por *Shigella* spp. são um importante problema de saúde pública, em particular nos países em desenvolvimento, sendo a maior parte das infeções notificadas em cidadãos da União Europeia e adquiridas durante viagens a países endémicos, nomeadamente nos continentes asiático, africano e sul-americano (1). Em Portugal, a shigelose é uma gastroenterite pouco frequente.

Existem quatro espécies de *Shigella* spp. que causam doença no Homem: *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. boydii* e *S. dysenteriae*. A *Sh. sonnei* é mais frequente na Europa e Estados Unidos da América e a espécie *flexneri* na Ásia e África (1).

O aparecimento de estirpes multirresistentes, especialmente em homens que fazem sexo com homens (HSH), tem sido referido mundialmente, destacando-se o aparecimento de estirpes resistentes à ciprofloxacina, antibiótico de 1ª linha atualmente recomendado para o tratamento de infeções por *Shigella*, e à azitromicina, utilizada como tratamento de primeira linha de diversas infeções sexualmente transmissíveis (2-4).

Com este estudo pretendeu-se descrever os serotipos de *Shigella* identificados no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2015 e 2017.

_Material e métodos

Entre 2015 e 2017 foram recebidas no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais do Departamento de Doenças Infeciosas do INSA, estirpes de *Shigella* isoladas

artigos breves_ n. 5

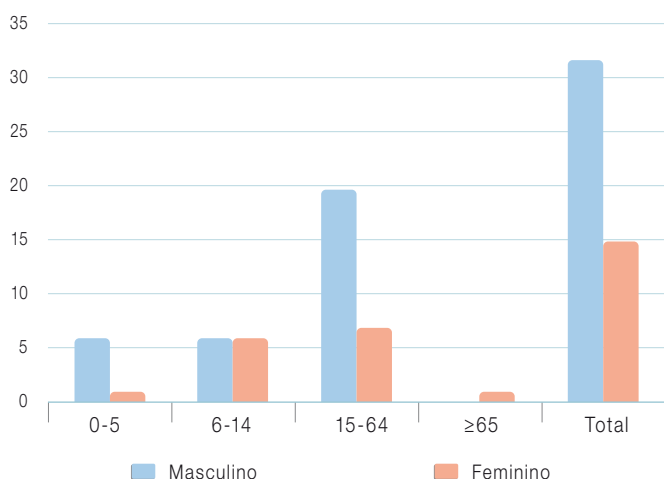
de 53 doentes portugueses e provenientes de várias regiões do país. A serotipagem das estirpes foi efetuada através de testes de aglutinação com antisoros específicos. A suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA) foi realizada pelo método de difusão em disco, segundo as recomendações do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)* (5). Foi testada a resistência aos seguintes antibióticos: Ácido Nalidíxico (Na); Azitromicina (Az); Ampicilina (A); Cefoxitina (Cf); Ceftriaxone (Ct); Ceftazidima (Cz); Cefotaxima (Cx); Cefepima (Cp); Ciprofloxacina (Cip); Cloranfenicol (C); Eritromicina (E); Gentamicina (G); Pefloxacina (P); Meropenemo (M); Sulfametoxazole (Smx); Tetraciclina (Te); Tigeciclina (Tgc); Trimetoprim (T).

Resultados e discussão

Durante o período entre 2015 e 2017 foram recebidas estirpes de *Shigella* spp de 53 doentes, 20 em 2015, 17 em 2016 e 16 em 2017. Desconhece-se, na maioria dos casos, datas de isolamento das respetivas estirpes, assim como o local ou distrito de onde a infeção foi adquirida. O grupo etário mais frequente dos doentes foi entre os 15 e os 64 anos de idade e o sexo masculino foi o mais afetado (gráfico 1).

Entre dezembro de 2015 e janeiro de 2016 decorreu um surto de *Sh. sonnei* num infantário na região norte de Portugal, com 24 casos confirmados e 4 internamentos hospitalares.

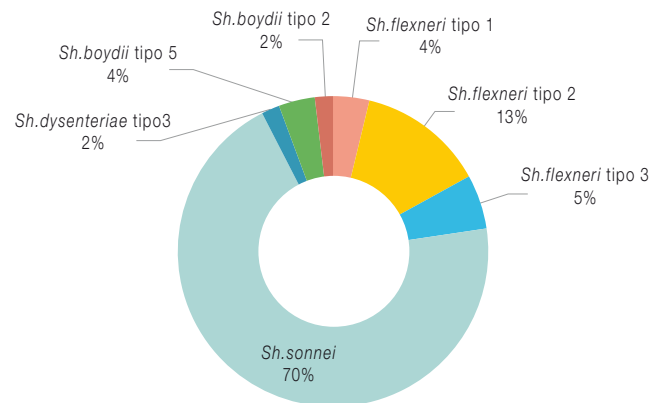
Gráfico 1: Número de casos de shigelose identificados no Instituto Nacional de Saúde, por grupo etário e por sexo, 2015-2017.



Foram recebidas no INSA 10 estirpes relacionadas com o surto, 6 casos em 2015 e 4 casos em 2016, para confirmação do serotipo e realização de TSAs.

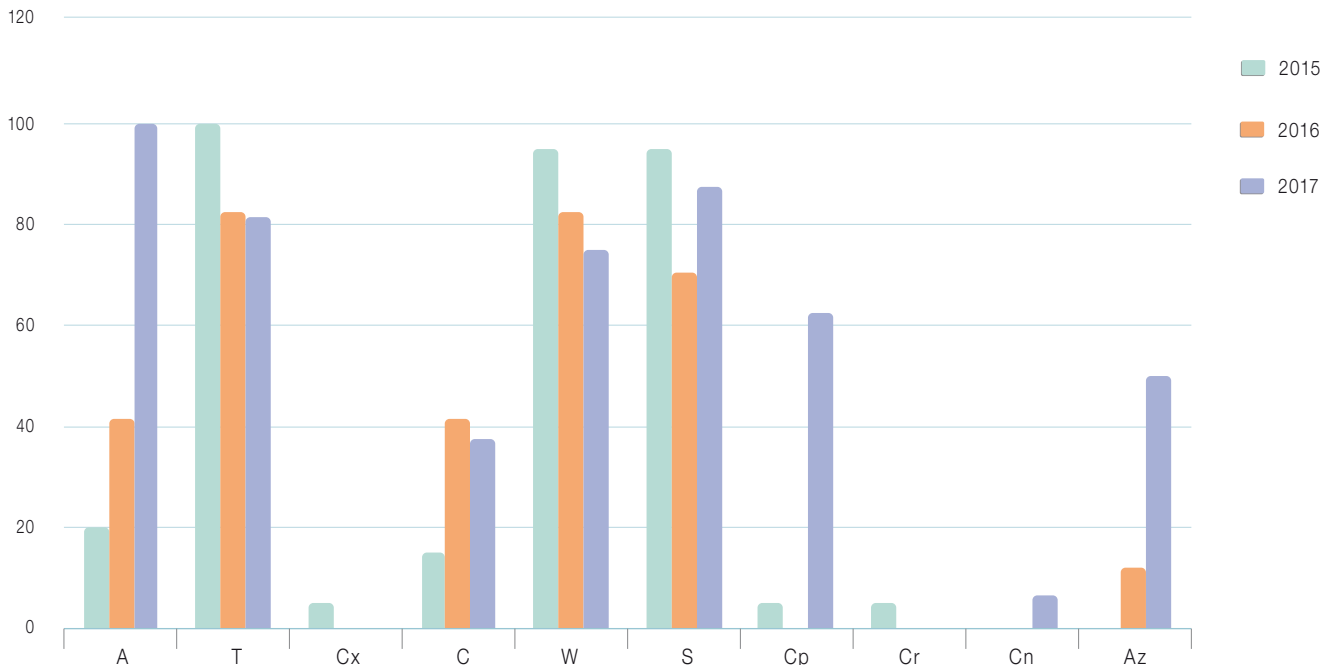
O serotipo mais frequente foi *Sh. sonnei* (69,8%), apesar de ter ocorrido um surto, seguido dos serotipos *Sh. flexneri* 2 (13,2%) e *Sh. flexneri* 3 (5,7%) (gráfico 2).

Gráfico 2: Percentagem dos serotipos de *Shigella* spp. identificados no Instituto Nacional de Saúde, 2015-2017.



Relativamente aos perfis de resistência das 53 estirpes de *Shigella* spp identificadas no período em estudo, verificou-se que todas foram resistentes a pelo menos um antibiótico, sendo observada uma elevada percentagem de resistência à tetraciclina (88,7%) (gráfico 3). Em 2017, todas as estirpes apresentaram resistência à ampicilina, e a percentagem de estirpes com resistência à ciprofloxacina (62,5%) e à azitromicina (50,0%) aumentou consideravelmente, relativamente aos anos anteriores (gráfico 3). Durante o período em análise, o perfil de resistência mais frequente foi tetraciclina-trimetoprim-sulfametoxazole (62,2%). Foram detetados 4 casos de *Sh. flexneri* tipo 1 (n=1) e *Sh. sonnei* (n=3) multirresistentes em HSH. Todas estas estirpes foram resistentes à ciprofloxacina e duas (*Sh. sonnei*) à azitromicina.

Gráfico 3: ↓ Percentagem de estirpes de *Shigella* spp identificados no Instituto Nacional de Saúde resistentes a antibióticos, 2015-2017.



Conclusão

O serotipo mais frequente no período entre janeiro 2015 e dezembro 2017 foi *Sh. sonnei*, o que está de acordo com a tendência europeia. Houve um aumento considerável da percentagem de resistência à ciprofloxacina, fluoroquinolona recomendada para tratamento de shigelose. Surgiram também mais casos de resistência à azitromicina, tratamento alternativo em casos graves de shigelose. A emergência do aumento de resistências a fluoroquinolonas, cefalosporinas e macrólidos é evidente, em particular no caso dos HSH. O aumento de resistências aos antibióticos observados nestes dois anos alerta para a importância de uma vigilância ativa das mesmas e impõe uma articulação efetiva entre os diversos serviços de saúde envolvidos.

Agradecimentos:

Agradece-se a colaboração dos Serviços de Patologia Clínica que enviaram ao INSA estirpes de *Shigella* spp. Agradece-se à Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of seven priority food- and waterborne diseases in the EU/EEA 2010-2012. Stockholm: ECDC, 2015. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-seven-priority-food-and-waterborne-diseases-eueea-2010-2012>
- (2) Chung The H, Rabaa MA, Pham Thanh D, et al. South Asia as a Reservoir for the Global Spread of Ciprofloxacin-Resistant *Shigella sonnei*: a Cross-Sectional study. PLoS Med. 2016;13(8):e1002055. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4970813/>
- (3) Gaudreau C, Barkati S, Leduc JM, et al. *Shigella* spp. with reduced azithromycin susceptibility, Quebec, Canada, 2012-2013. Emerg Infect Dis. 2014;20(5):854-6. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2005.130966>
- (4) Baker KS, Dallman TJ, Ashton PM, et al. Intercontinental dissemination of azithromycin-resistant shigellosis through sexual transmission: a cross-sectional study. Lancet Infect Dis. 2015;15(8):913-21.
- (5) EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing - Version 3.0 (April 2013). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Manual_v_3.0_EUCAST_Disk_Test.pdf

Investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, 2016

Laboratory investigation of foodborne disease outbreaks, 2016

Margarida Saraiva, Cristina Belo Correia, Isabel Campos Cunha, Anabela Coelho, Carla Maia, Cláudia Pena, Conceição Costa Bonito, Cristina Flores, Isabel Bastos Moura, Isabel Sousa, Maria João Barreira, Maria Manuel Toscano, Rosália Furtado, Sílvia Marcos, Susana Santos, Teresa Teixeira Lopes, Maria Antónia Calhau

margarida.saraiva@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) em articulação com a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), notifica anualmente à *European Food Safety Authority* (EFSA) os dados dos surtos de toxinfecção alimentar ocorridos em Portugal, cuja investigação laboratorial da área alimentar foi efetuada no INSA. A informação reunida, associada aos surtos de toxinfecção alimentar, permite a análise dos dados que incluem, entre outros, o número de surtos, de doentes, de hospitalizações que se verificaram e a caracterização dos agentes etiológicos, dos locais onde ocorreu a contaminação e/ou o consumo e os fatores que contribuíram para a ocorrência. De forma a tornar esta informação mais acessível à população portuguesa, o INSA, desde 2013, tem vindo a publicar anualmente os dados no *Boletim Epidemiológico Observações*. No ano de 2016, nos laboratórios de Microbiologia do Departamento de Alimentação e Nutrição (DAN) foram analisadas amostras de géneros alimentícios e/ou de superfícies colhidas no local de produção/distribuição alimentar, provenientes da investigação de 24 surtos, tendo sido comunicado que estes surtos afetaram 629 indivíduos, dos quais 80 foram hospitalizados, não tendo sido reportados óbitos. As instituições com residência foram o tipo de local onde ocorreram mais surtos, sendo identificados como principais fatores contributivos abusos de tempo/temperatura, ocorrência de contaminações cruzadas e o uso de matérias-primas não seguras.

_Abstract

The National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge (INSA) in collaboration with the Directorate-General for Food and Veterinary (DGAV) notifies each year to the *European Food Safety Authority* (EFSA) the data of foodborne disease outbreaks occurred in Portugal whose laboratory investigation in the food area was performed by INSA. The collection of this information associated to foodborne disease outbreaks will enable to analyze the data which include among others the number of outbreaks, cases and hospitalizations verified in these outbreaks and the characterization of the etiological agents, the places where contamination and/or consumption occurred and the contributory factors. In order to make this information more accessible to the Portuguese population, every year, since 2013, INSA publishes the aggregated data in *Boletim Epidemiológico Observações*. In 2016, in the Food Microbiology Laboratories of the Food and Nutrition Department (DAN), in the scope of the investigation of 24 outbreaks, foodstuffs and environmental samples collected in the food premises of production/distribution were analyzed, that reportedly affected 629 human cases, from which 80 have been hospitalized and without any fatal cases. Residential institutions were the setting where more outbreaks occurred and the main contributory factors identified were time/temperature abuse, cross contaminations and use of food ingredients obtained from unsafe sources.

_Introdução

As doenças alimentares de origem microbiana (incluindo bactérias e/ou toxinas, vírus e parasitas), continuam a ser um problema grave e atual em saúde pública a nível mundial ⁽¹⁾. Determinar níveis aceitáveis de proteção para estas doenças, bem como avaliar riscos alimentares exige evidências, podendo algumas ser obtidas por análise e investigação dos surtos de toxinfecção alimentar.

Considera-se um surto de toxinfecção alimentar uma doença infecciosa ou tóxica que afeta dois ou mais indivíduos, causada, ou que se suspeita ter sido causada, pelo consumo de um género alimentício ou água contaminados por microrganismos, suas toxinas ou seus metabolitos ⁽²⁾. As toxinfecções alimentares são causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, podendo, contudo, ser prevenidas minimizando as causas que estão na origem dos perigos que as provocaram. O subdiagnóstico e a subnotificação das toxinfecções alimentares são um fenómeno global, transversal à maioria das regiões, dos países e das comunidades, chegando ao conhecimento das autoridades de saúde pública responsáveis pela vigilância das doenças de origem alimentar apenas uma pequena fração das que ocorrem na realidade.

As toxinfecções alimentares podem ser causadas por uma grande diversidade de patogénicos. Habitualmente, os microrganismos mais comuns que causam doenças transmitidas por alimentos são bactérias, toxinas bacterianas, vírus e parasitas (**quadro 1**) ⁽³⁾.

A suspeita de se estar perante um surto de toxinfecção alimentar pode surgir a partir de várias fontes, nomeadamente a partir dos serviços de saúde, de laboratórios, da população, da

Quadro 1: ↓ Microrganismos/toxinas mais comuns na transmissão de doenças de origem alimentar.

Bactérias	<i>Campylobacter, Salmonella, Listeria, Escherichia coli</i> patogénicos, <i>Yersinia</i>
Toxinas bacterianas	Toxinas de <i>Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Clostridium botulinum</i> e <i>Bacillus cereus</i>
Vírus	<i>Calicivirus</i> (incluindo norovirus), <i>rotavirus</i> , vírus da hepatite A, vírus da hepatite E
Parasitas	<i>Trichinella, Toxoplasma, Cryptosporidium, Giardia</i>

Adaptado de EFSA - Food-borne zoonotic diseases. <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-borne-zoonotic-diseases>

comunicação social e também da monitorização de doenças transmissíveis de declaração obrigatória. Qualquer suspeita de ocorrência de um surto de toxinfecção alimentar deverá ser avaliada e confirmada por uma Autoridade de Saúde.

O objetivo da investigação dos surtos de toxinfecção alimentar, para além da ação imediata de controlar a ocorrência, é identificar perigos, características determinantes dos indivíduos e de disseminação do agente etiológico e avaliar as práticas de segurança alimentar implementadas (1). Quando há suspeita de um surto, a Autoridade de Saúde deve ser alertada o mais cedo possível, de forma a poder liderar o processo de investigação epidemiológica e ambiental e tomar as medidas adequadas para se efetuar uma análise de causas. A ocorrência de um surto evidencia falhas no sistema de controlo de perigos e pontos de controlo críticos e demonstra a necessidade de implementar ações corretivas apropriadas e de verificar a sua eficácia, avaliando as práticas de segurança alimentar implementadas.

Neste âmbito, os resultados das análises laboratoriais, assim como o inquérito ambiental, são contributos essenciais para a investigação e resposta em situações de surtos.

O inquérito ambiental deve incidir na verificação das boas práticas de higiene e de fabrico, tendo especial atenção à avaliação dos registos e dos procedimentos durante o período de tempo que coincidiu com a produção e distribuição dos alimentos suspeitos. Deverá ser efetuada a recolha de amostras, que podem incluir: sobras e amostras do mesmo lote dos alimentos

suspeitos, ingredientes utilizados na preparação dos alimentos implicados, amostras de alimentos normalmente associados com o agente causal, amostras da ementa que tenham estado implicadas epidemiologicamente, alimentos em ambientes que possam ter permitido a sobrevivência ou o crescimento de microrganismos, amostras “testemunha” e amostras de superfícies, para vigilância das condições higiénicas ambientais do local de produção/distribuição alimentar.

De acordo com a definição da *European Food Safety Authority* (EFSA), a evidência que suporta a suspeita da existência de um veículo alimentar implicado pode ser microbiológica, epidemiológica (analítica ou descritiva), descritiva ambiental ou com base em investigações da rastreabilidade de produtos (2).

A evidência microbiológica de uma toxinfecção só é possível pela deteção do agente causal no alimento suspeito ou seu(s) componente(s), ou no seu ambiente, ou na cadeia alimentar, combinada com a deteção de casos humanos, ou sintomas clínicos e um início da doença em casos de surto compatíveis com os sinais patognomónicos para o agente causal identificado (2).

O Departamento de Alimentação e Nutrição (DAN) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), na sua função de laboratório de referência para a área da saúde, em colaboração com a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), transmite anualmente à EFSA os dados dos surtos ocorridos em Portugal, cuja investigação laboratorial foi realizada no INSA.

_Objetivos

Compilar e analisar os dados dos surtos de toxinfecção alimentar investigados laboratorialmente no INSA, em 2016.

_Material e métodos

Foram reunidos e analisados os dados dos surtos de toxinfecção alimentar relacionados com as amostras que foram enviadas ao DAN para investigação laboratorial, durante o ano de 2016: 1) dados de investigação epidemiológica disponibilizados pelas Autoridades de Saúde, 2) dados provenientes dos Inquéritos INSA: “Inquérito para Estudo Laboratorial de Toxinfecções Alimentares” e “Inquérito - Suspeita de Botulismo”, que incluem informação sobre pessoa(s) afetada(s) e quadro clínico, condições ambientais e higiene das instalações do estabelecimento do setor alimentar, 3) dados microbiológicos de géneros alimentícios e de superfícies de ambientes de produção/trans formação da área alimentar e de manipuladores.

De acordo com as orientações do *Manual for reporting on food-borne outbreaks in accordance with Directive 2003/99/EC for information deriving from the year 2016* da EFSA, foram reportados os dados de todos os surtos de toxinfecção alimentar investigados laboratorialmente, incluindo surtos nos quais nenhum género alimentício em particular foi considerado suspeito e surtos onde a evidência implicava um determinado veículo alimentar (2).

A forte evidência microbiológica associada ao veículo alimentar consiste na deteção do agente causal no veículo alimentar ou

nos seus componentes, ou na cadeia, ou no ambiente da produção alimentar, combinada com a deteção do agente causal nos humanos afetados ou com a manifestação de sintomas clínicos e início de doença fortemente compatíveis com o agente causal identificado (2).

_Resultados e discussão

Em 2016, foi realizada a investigação laboratorial de 24 surtos, que afetaram 629 indivíduos, dos quais 80 foram hospitalizados, não tendo sido reportados óbitos. Em 9 dos surtos houve uma forte evidência do veículo alimentar em causa e em 15 houve uma fraca evidência (tabela 1).

No contexto dos surtos investigados em 2016, o agente causal foi identificado em 71% (17/24) dos surtos (tabela 2): 6 Enterotoxinas estafilocócicas/*Staphylococcus aureus*; 5 *Bacillus cereus/Bacillus* spp. e/ou suas toxinas; 1 Toxina botulínica tipo B; 1 *Clostridium perfringens* e em 24% (4/17) destes surtos foi detetado mais do que um agente patogénico, em simultâneo, no(s) género(s) alimentício(s) suspeito(s).

O local onde os alimentos foram consumidos ou onde tiveram lugar as etapas finais de preparação dos mesmos foi identificado em 92% dos surtos. Destes, 96% ocorreram em locais públicos, isto é, envolveram indivíduos que pertenciam a mais do que uma família. Os locais onde ocorreram mais surtos foram: instituições com residência (36%), cantinas/bares de escolas, colégios, infantários ou creches (21%) e em estabelecimentos do tipo restaurante/café/hotel (17%).

Tabela 1: Grau de evidência associada ao veículo alimentar nos surtos de toxinfecção alimentar investigados laboratorialmente no Instituto Nacional de Saúde, 2016.

Surtos com forte evidência				Surtos com fraca evidência				Total de surtos
Surtos	Casos humanos	Hospitalizados	Óbitos	Surtos	Casos humanos	Hospitalizados	Óbitos	24
9	213	64	0	15	416	16	0	

Tabela 3: ↓ Surtos de toxinfecção alimentar investigados laboratorialmente no Instituto Nacional de Saúde, por agente causal, género alimentício implicado, casos humanos e hospitalizados, 2016.

Agente causal	Outro(s) agente(s) causal(ais)	Surtos	Género alimentício	Casos humanos	Hospitalizados
Enterotoxinas de <i>Bacillus cereus</i> e/ou <i>Bacillus cereus</i> e/ou <i>Bacillus</i> spp.	—	5	Esparguete à bolonhesa Pratos diversos (ex.: pratos de peixe, de carne, arroz, saladas, etc.) Alface Empadão de arroz com atum e cenoura Pescada no forno com arroz de cenoura e ervilhas	194	3
Toxina botulínica tipo B	—	1	Presunto	2	2
Enterotoxinas estafilocócicas e/ou <i>Staphylococcus aureus</i>	—	6	Salada russa Sandes de frango e queijo Bife de vitela com batata cozida Salada de pimentos Bacalhau no forno Pescada com batata, feijão-verde e cenoura	162	13
<i>Clostridium perfringens</i>	—	1	Puré de frango	22	0
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i> produtor de enterotoxina diarreica	1	Papa de arroz	50	0
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	1	Salada russa	Desconhecido	0
Norovírus	<i>E.coli</i> verotoxigénica (VTEC não O157) e <i>Salmonella</i> spp.	1	Amêijoas cruas	7	1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio</i> spp. e <i>Aeromonas hydrophila</i>	1	Mariscos variados cozidos	50	50
Desconhecido	—	7	Desconhecido	142	11

Os fatores que se identificaram como podendo ter contribuído para a ocorrência dos surtos investigados foram: tratamento térmico inadequado, abusos de tempo/temperatura, contaminações cruzadas e utilização de matérias-primas não seguras.

Na [tabela 3](#) pode observar-se o número de surtos investigados laboratorialmente com agente causal identificado que ocorreram entre 2012 e 2016, evidenciando-se o número de casos de doença, hospitalizações e óbitos reportados (4-7).

Em 2016, a maioria dos surtos investigados onde houve identificação do agente causal foi provocado por toxinas bacterianas (15/17). Destacamos, contudo, o surto de origem bacteriana causado por *Vibrio parahaemolyticus* em que

foi isolado mais do que um microrganismo potencialmente patogénico em mariscos variados cozidos, tendo sido o surto com o número mais elevado de casos de doença humana associados. As amostras “testemunha”, conservadas após cozedura do marisco, não apresentaram microrganismos considerados agentes causadores de toxinfecção alimentar. No entanto, as amostras colhidas em marisco cozido que se encontrava exposto para venda, apresentaram elevado número de *Vibrio parahaemolyticus* e outras espécies de *Vibrio* e *Aeromonas hydrophila*. Considerou-se que a ocorrência de contaminações cruzadas e o abuso do binómio temperatura/tempo durante a exposição para venda, teriam sido os fatores contributivos.

Tabela 3:  Surtos investigados laboratorialmente no Instituto Nacional de Saúde com agente causal identificado, por casos humanos, hospitalizados e óbitos, 2012 a 2016.

	2012	2013	2014	2015	2016
Nº surtos	7	10	13	20	17
Nº casos humanos	135	183	589	421	487
Nº hospitalizados	1	17	56	96	66
Nº óbitos	0	0	0	0	0

Salientamos, ainda, o surto onde foi detetado Norovírus, *Escherichia coli* verotoxigénica não O157 e *Salmonella*, em amêijoas que tinham sido colhidas em zonas onde era proibida a apanha de bivalves para venda e para consumo.

Relativamente aos fatores que poderão ter contribuído para a ocorrência dos outros surtos, os dados indicam que os mais frequentes continuam a ser o incumprimento das boas práticas de higiene e fabrico no decurso da preparação dos alimentos, nomeadamente tratamento térmico/cozedura insuficientes, alimentos prontos a comer expostos a temperaturas incorretas e contaminações cruzadas.

_Conclusões

Esta realidade sugere que é primordial melhorar a literacia da população em geral e dos operadores do setor alimentar na aplicação de conhecimentos práticos de higiene e segurança alimentar, destacando-se a importância das regras básicas contidas no manual da Organização Mundial da Saúde *Cinco Chaves para uma Alimentação mais Segura* (8).

É também crucial definir a atribuição da responsabilidade da investigação laboratorial das toxinfecções alimentares, de modo claro e inequívoco, para identificar e priorizar a implementação de medidas de controlo da segurança alimentar e medir com precisão o impacto das intervenções realizadas (9).

O INSA, como Laboratório Nacional de Referência na área da saúde para o estudo epidemiológico laboratorial de toxinfecções alimentares, está empenhado na melhoria da informação

disponível em surtos de origem alimentar, de forma a constituir uma evidência microbiológica de suporte laboratorial à investigação epidemiológica realizada pelas Autoridades de Saúde.

Os dados apresentados evidenciam ainda o baixo número de surtos com investigação laboratorial em alimentos e/ou no ambiente de produção/distribuição alimentar.

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Geneva: WHO, 2008. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43771/1/9789241547222_eng.pdf
- (2) European Food Safety Authority. Manual for reporting on food-borne outbreaks in accordance with Directive 2003/99/EC for information deriving from the year 2016. Rome: EFSA, 2017. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1174>
- (3) European Food Safety Authority. Food-borne zoonotic diseases [Em linha]. [consult. 6/4/2018]. Disponível em: www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-borne-zoonotic-diseases
- (4) Viegas S, Cunha IC, Correia, CB, et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares, 2015. Boletim Epidemiológico Observações. 2016;5(Supl 8):36-39. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4130>
- (5) Viegas S, Cunha IC, Correia, CB, et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares, 2014. Boletim Epidemiológico Observações. 2015;4(Supl 5):4-6. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3007>
- (6) Viegas S, Cunha IC, Correia, CB, et al. Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares, 2013. Boletim Epidemiológico Observações. 2014 janeiro-março;3(7):3-6. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1966>
- (7) Correia CB, Cunha IC, Maia C, et al. Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares (2008-2011). Boletim Epidemiológico Observações. Boletim Epidemiológico Observações. 2013;2(6):3-5. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1747>
- (8) Organização Mundial da Saúde; Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (trad.). Cinco chaves para uma alimentação mais segura: manual. Lisboa: INSA, 2006. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/75>
- (9) Pires SM, Evers EG, van Pelt W, et al.; Med-Vet-Net Workpackage 28 Working Group. Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. Foodborne Pathog Dis. 2009;6(4):417-24.

Kit Educar para prevenir (10^o-12^o anos): prevenção de toxinfecções alimentares

Kit Educate to prevent (high school level): foodborne outbreaks prevention

Silvia Viegas, Paulo Fernandes, Roberto Brazão, M. Graça Dias

silvia.viegas@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 promoção de boas práticas de higiene e segurança alimentar é um contributo importante para a prevenção de toxinfecções alimentares causadas pelo consumo de alimentos contaminados. Neste contexto e na continuação do projeto “Educar para Prevenir”, criado e desenvolvido em 2016 pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, foi elaborado um conjunto de materiais educativos como apoio escolar composto por duas apresentações em *PowerPoint*, um folheto, um póster e um questionário de avaliação, para ser utilizado pelos professores do 10^o ao 12^o anos de escolaridade. O desenvolvimento deste material baseou-se em pesquisa bibliográfica, para integrar conceitos de género alimentício, perigo, risco, toxinfecção alimentar e boas práticas para a sua prevenção, como também no conhecimento da ocorrência dos perigos biológicos alimentares e dos fatores que contribuíram para a ocorrência de toxinfecções alimentares descritos na literatura científica e na informação partilhada em redes europeias de vigilância de doenças de origem alimentar.

_Abstract

The promotion of consumer good hygiene and food safety practices is an important contribution to the prevention of foodborne outbreaks caused by the consumption of biologically contaminated food. In this context and the project in progress "Educating to Prevention", created and developed in 2016 by the National Institute of Health Dr. Ricardo Jorge, it was produced a kit with school educational material consisting of two PowerPoint presentations, a brochure, a poster and a questionnaire, to be used by High School level teachers. The development of this material was scientific based on literature to integrate concepts of foodstuff, hazard, risk, foodborne outbreak (FBO) and best practices for their prevention, and also on the knowledge of the occurrence of the biological hazards and of the factors that contributed to the occurrence of FBO described on scientific literature or on information shared by European networks of surveillance of foodborne diseases.

_Introdução

A contaminação microbiológica dos alimentos assim como a sobrevivência e crescimento dos microrganismos tem frequentemente origem em más práticas de manipulação dos alimentos, adotadas pela população em geral.

O ensino e promoção de boas práticas junto do consumidor, nomeadamente em ambiente escolar, podem contribuir para a prevenção das toxinfecções alimentares causadas pela ingestão de géneros alimentícios contaminados com microrganismos patogénicos ou suas toxinas.

Uma das formas de aumentar a literacia para a saúde dos alunos será através da divulgação pelos professores de material educativo, que permita o entendimento dos conceitos associados às toxinfecções alimentares e a sensibilização para a importância da aplicação das boas práticas por toda a população e da notificação de toxinfecções alimentares às autoridades de saúde, para que estas possam otimizar a gestão do risco para a população. Estes materiais devem ser fundamentados cientificamente e estar atualizados de acordo com a informação veiculada pelas redes de vigilância e controlo da ocorrência de perigos biológicos e de toxinfecções alimentares.

Neste contexto e na continuação do projeto “Educar para Prevenir”, criado e desenvolvido em 2016 pelo Departamento de Alimentação e Nutrição do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), foi elaborado o conjunto de materiais educativos - Educar para Prevenir.

_Objetivo

Com este trabalho pretende-se desenvolver os materiais de apoio escolar desenvolvidos para os professores do Ensino Secundário (10^o-12^o anos), visando a divulgação e promoção das boas práticas junto dos alunos, como forma de contribuir para a prevenção da ocorrência de toxinfecções alimentares e para a sensibilização da necessidade de notificação de casos às Autoridades de Saúde, para que estas possam, em tempo útil, minimizar o seu impacto na sociedade.

_Material e métodos

A conceção e desenvolvimento dos materiais informativos baseou-se em documentos de referência e dados relativos a toxinfecções alimentares ocorridas em Portugal e na Europa, entre os anos de 2009-2015:

- A – Pesquisa bibliográfica sobre doenças associadas à ingestão de alimentos contaminados por microrganismos, nomeadamente sobre os conceitos de: segurança alimentar; boas práticas; alimento; perigo; risco; toxinfecção alimentar e sua epidemiologia; prevenção de toxinfecções alimentares e sua vigilância e controlo (1-8).
- B – Identificação de perigos biológicos detetados em alimentos na Europa, e em particular em Portugal, entre 2009 e 2015, bem como dos agentes causais, dos fatores de risco, e das más práticas associadas à ocorrência de toxinfecções alimentares (9-13).

C – Identificação de boas práticas para prevenção de toxinfecções alimentares.

D – Elaboração do material educativo escolar, adaptando o conteúdo científico aos *curricula* dos 10 ao 12º anos.

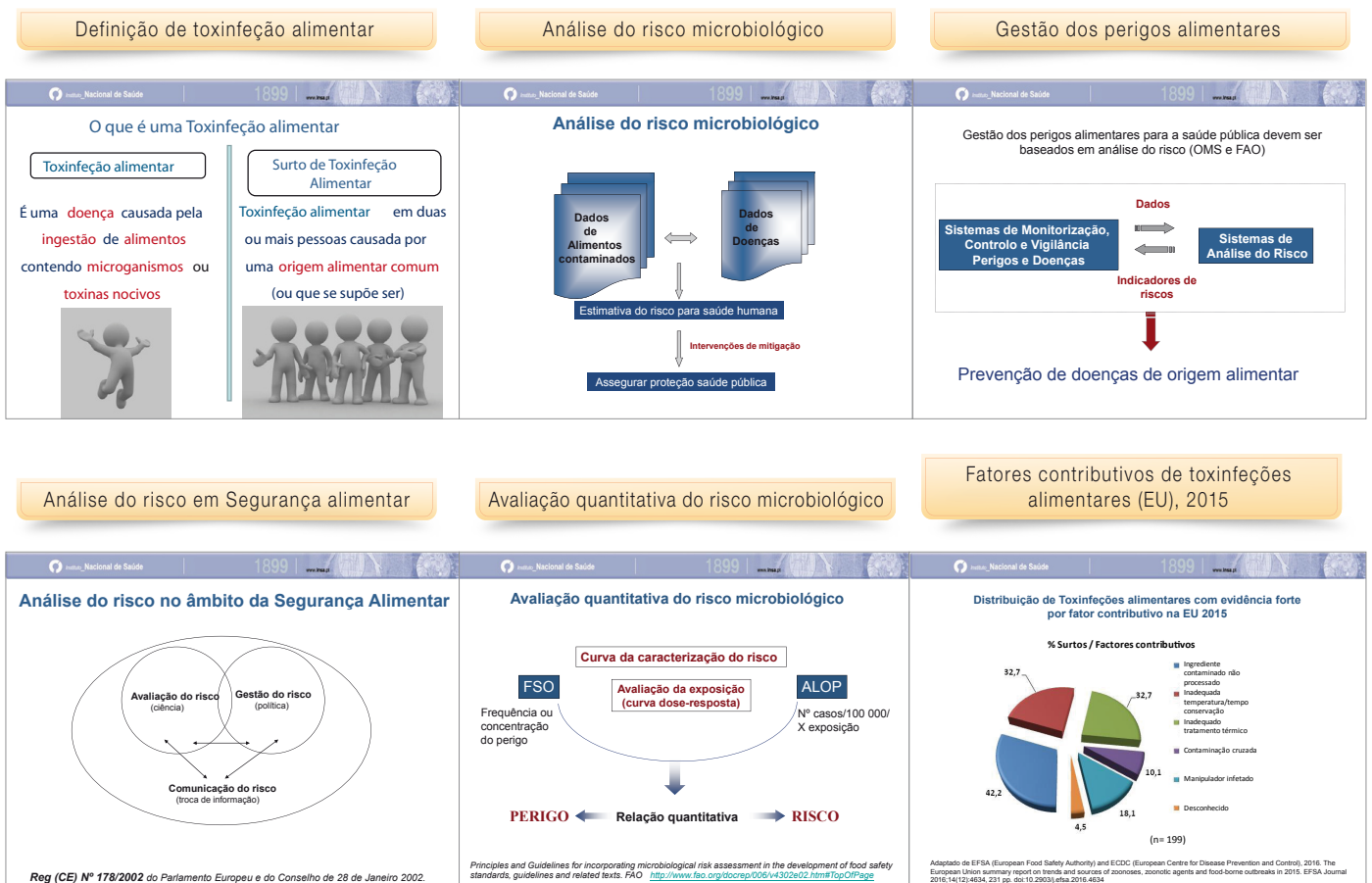
_Resultados

O material educativo desenvolvido e adequado ao nível escolar em questão (10.º- 12.º anos) é composto pelos seguintes conteúdos:

Apresentação 1, em *PowerPoint*, (figura 1) relativa a:

- Conceitos de alimento, perigo, risco, toxinfecção alimentar;
- Origens da contaminação dos alimentos;
- Sistemas de controlo e monitorização de perigos nos alimentos;

Figura 1: ⬇ Kit Educar para prevenir (10º-12º anos): exemplo de *slides* da Apresentação 1.



- Investigação de toxinfecções alimentares;
- Dados nacionais e europeus sobre toxinfecções alimentares;
- Ocorrência mais frequente de perigos alimentares e de fatores contributivos para as toxinfecções alimentares.

Apresentação 2, em *PowerPoint*, (**figura 2**), folheto, *póster* e inquérito de avaliação de conhecimentos, relativos a:

- Prevenção de toxinfecções alimentares – boas práticas:
 - Na aquisição de alimentos;
 - No transporte de alimentos para casa;
 - Na preparação, confeção e consumo de alimentos;
 - Na conservação dos alimentos antes e depois da confeção;
- O que fazer em caso de toxinfecção alimentar;
- Sensibilização para notificar os casos de toxinfecções alimentares às Autoridades de Saúde.

O folheto desdobrável tem a informação compilada e resumida, possibilitando aos alunos a sua impressão em papel, a sua fácil partilha e/ou afixação em casa, para divulgação e promoção de boas práticas por toda a família.

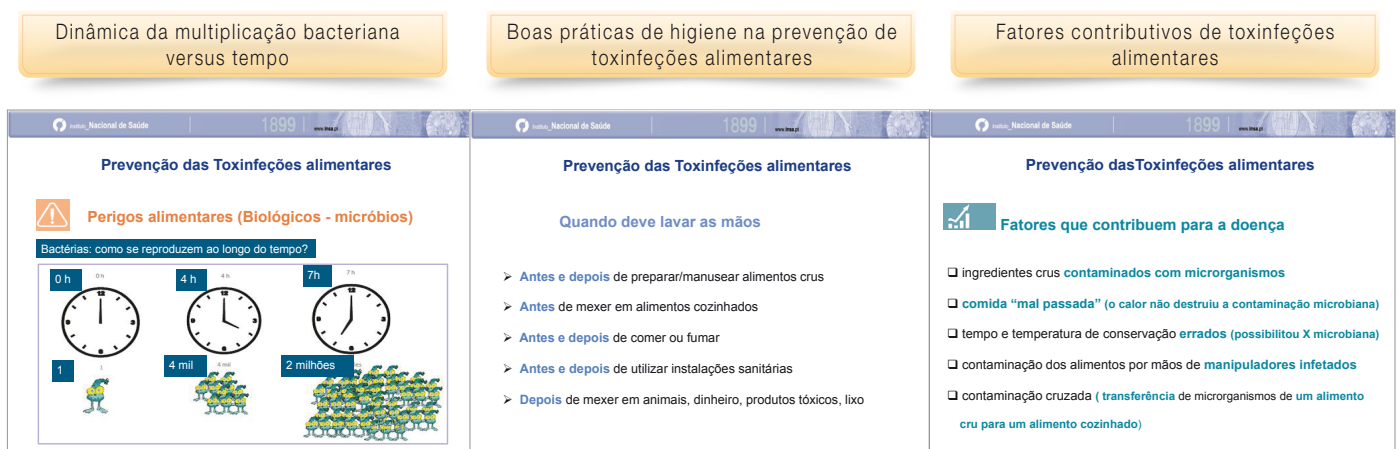
_Conclusão

A criação e desenvolvimento do *kit* “Educar para prevenir” vem disponibilizar uma ferramenta de apoio aos professores dos 10º ao 12º anos de escolaridade, dotando-os de fontes de informação sobre toxinfecções e segurança alimentar fiáveis, adequadas e referentes à realidade nacional. A disseminação desta informação, pelos professores, contribuirá para a diminuição da ocorrência de toxinfecções alimentares e para a redução dos fatores e comportamentos de risco associados à segurança dos alimentos.

Para assegurar a atualidade dos materiais está prevista a atualização do conteúdo científico de acordo com a informação decorrente do trabalho de investigação que vai sendo desenvolvido nesta área pelo INSA e com as alterações dos conteúdos académicos dos programas escolares.

O projeto “Educar para prevenir”, iniciado em 2016, tem como perspetivas futuras a atualização contínua dos materiais já disponíveis e o alargamento aos restantes ciclos de ensino, compreendendo todo o percurso escolar, desde o 1º ao 12º anos.

Figura 2: Kit Educar para prevenir (10º-12º anos): exemplo de slides da Apresentação 2.



Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Geneva: WHO, 2008. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/43771>
- (2) Council to Improve Foodborne Outbreak Response. Guidelines for foodborne disease outbreak response. 2nd ed. Atlanta: Council of State and Territorial Epidemiologists, 2014. (CIFOR Guidelines) <http://cifor.us/downloads/clearinghouse/2nd%20edition%20CIFOR%20Guidelines%20Final.pdf>
- (3) Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Food safety risk analysis- A guide for national food safety authorities. Rome: FAO/WHO, 2006. (FAO Food and Nutrition Paper; 87). www.fao.org/docrep/012/a0822e/a0822e00.htm
- (4) Tauxe RV, Doyle MP, Kuchenmüller T, et al. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections. *Int J Food Microbiol.* 2010;139(Suppl 1):S16-28. Epub 2009 Oct 29.
- (5) Comissão Europeia. Regulamento n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002. Determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. <http://data.europa.eu/eli/reg/2002/178/oj>
- (6) Byrd-Bredbenner C, Berning J, Martin-Biggers J, et al. Food safety in home kitchens: a synthesis of the literature. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10(9):4060-85. www.mdpi.com/1660-4601/10/9/4060
- (7) Marcel Zwietering (2005). Practical considerations on food safety objectives. *Food Control.* 2005, 16(9): 817-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.022>
- (8) Viegas S; Oliveira L, Calhau MA, Saboga LAN, et al. (rev). Segurança alimentar: guia de boas práticas do consumidor. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2014. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/2371>
- (9) European Commission. RASFF – The Rapid Alert System for Food and Feed: 2015 annual report. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2016. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2015.pdf
- (10) Viegas S, Cunha IC, Correia, CB, et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares, 2014. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2015;4(Supl 5):4-6. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3007>
- (11) European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal* 2015;13(12):4329. www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4329
- (12) Viegas S, Cunha IC, Correia, CB, et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares, 2015. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2016;5(Supl 8):36-39. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4130>
- (13) European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 2016;14(12):4634. www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4634

Encaminhamento das vítimas de acidentes domésticos e de lazer em Portugal: resultados do sistema EVITA entre 2013 e 2015

Referral of victims of home and leisure accidents in Portugal: results from the EVITA system from 2013 to 2015

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

tatiana.alves@insa.min-saude.pt

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

_Resumo

O sistema EVITA – Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismos e Acidentes, criado em 2000 pelo então Observatório Nacional de Saúde, atual Departamento de Epidemiologia, recolhe dados relativos a acidentes domésticos e de lazer (ADL) numa amostra de urgências hospitalares através da plataforma informática SONHO. Foi realizado um estudo descritivo utilizando os dados do sistema EVITA relativos ao período entre janeiro de 2013 e dezembro de 2015. Neste período foram registados pelo sistema EVITA 26 681 ADL, tendo sido obtida informação sobre o encaminhamento em 26 162 casos. Destes, 65,0%, após assistidos, foram encaminhados para o “Exterior não referenciado”, 24,7% para “Referenciação para Consulta”, 5,4% tiveram necessidade de internamento hospitalar e 0,03% foram óbitos. De um modo geral, independentemente do mecanismo da lesão subjacente ao ADL, a maioria das vítimas teve alta para o exterior, sem necessidade de referenciação para seguimento posterior ou continuidade de qualquer tipologia de cuidados. De destacar os 40,6% casos de ADL provocados por “Queimadura” com necessidade de referenciação para avaliação clínica posterior. Em todos os grupos etários ocorreram situações que levaram a internamento hospitalar, numa baixa proporção, sendo que, a partir do grupo etário dos 45 aos 54 anos a percentagem de internamentos aumenta, observando-se o valor mais elevado no grupo com 75 e mais anos (16,5%).

_Abstract

The system Epidemiology and Surveillance of Injury, Trauma and Accidents (EVITA, in acronym in Portuguese), created in 2000 by the former National Health Observatory, currently Department of Epidemiology, collects data on home and leisure accidents (HLA) in a sample of hospital emergency rooms via the informatic platform SONHO. We conducted a descriptive study using data collected by EVITA between January 2013 to December 2015. During this period 26 681 HLA were registered, and information on the referral after being assisted in emergency services members comprising the network EVITA was available for 26 162 cases. Of these, 65,0% were referred to the "Unreferenced exterior, 24,7% to "Referral for consultation", 5,4% have had need of hospitalization and 0,03% were deaths. In general, regardless of the underlying lesion mechanism, most victims were discharged from hospital without the need for referral for follow-up or any type of care. Of notice are 40,6% HLA cases caused by "Burn" with need of referral for further clinical evaluation. In all age groups a low proportion of cases led to hospitalization but from the age group 45 to 54 years onwards the percentage of hospital admissions increases, with the highest value in the age-group with 75 and over (16,5%).

_Introdução e objetivo

Na União Europeia (UE), os acidentes, apesar de evitáveis, representam uma grande carga na sociedade em geral e nos indivíduos em particular, sendo a principal causa de incapacidade de longa duração nas pessoas mais jovens, com perdas significativas em anos de vida saudáveis (1).

Os acidentes são considerados pela Organização Mundial da Saúde para a Europa (OMS-Europa) como um grave problema de saúde pública com impacto no desenvolvimento económico e social, e representam uma causa de sofrimento humano e fonte de despesa considerável nos orçamentos dos sistemas de saúde (2).

Os acidentes de âmbito doméstico e de lazer, incluindo os que ocorrem na escola ou durante atividades desportivas, constituem a principal causa de recurso aos cuidados hospitalares na UE, estimando-se que em cada ano 24,6 milhões de cidadãos sofram um acidente doméstico e de lazer (ADL) (1). Em Portugal o sistema EVITA – Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismos e Acidentes, criado em 2000 pelo então Observatório Nacional de Saúde, atual Departamento de Epidemiologia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, recolhe dados sobre ADL numa amostra de urgências hospitalares através da plataforma informática SONHO.

Este estudo tem como objetivo caracterizar o destino após a alta das vítimas que recorreram aos Serviços de Urgência (SUs) hospitalar que participam no sistema EVITA.

_Materiais e métodos

Através de um estudo observacional, descritivo, transversal apresentam-se resultados respeitantes aos ADL apurados a partir do sistema EVITA, durante o período de 2013 a 2015 (3).

Este sistema é um instrumento de observação e monitorização de ADL, descrito previamente (4). Quando da inscrição nos SUs é recolhida informação sobre variáveis demográficas e variáveis que caracterizam o tipo de acidente e o seguimento após observação nos SUs. A análise descritiva dos dados incluiu o cálculo das frequências absolutas e relativas (percentagens) para as variáveis categóricas. A análise foi realizada para o total da amostra e estratificada por sexo, grupo etário, mecanismo da lesão, local de ocorrência e destino após a alta.

Foram feitas comparações bivariadas para as variáveis categóricas utilizando o teste do Qui-quadrado. O nível de significância do teste foi estabelecido em 5%.

Materials e métodos

Entre janeiro de 2013 e dezembro de 2015, o número total de ADL registados pelo sistema EVITA foi de 26681, dos quais 26162 tinham codificação da variável “seguimento da vítima”, na sequência da recorrência aos SUs.

Foi observado que 65,0% dos casos de ADL, após assistidos, são encaminhados para a categoria designada no SONHO

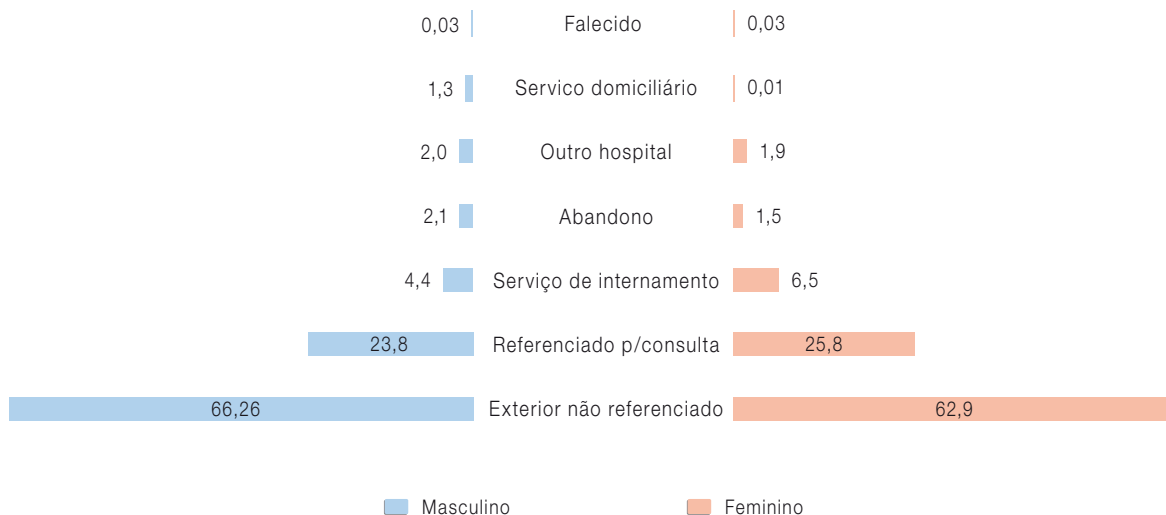
como “Exterior não referenciado”, 24,7% para “Referenciação para consulta”, 5,4% têm necessidade de internamento hospitalar e 0,03% são óbitos.

A referenciação para a consulta externa, no hospital notificador, ou o encaminhamento para o médico assistente da vítima, é mais elevada nas mulheres (25,8%) que nos homens (23,8%). Esta predominância do sexo feminino observou-se também nas situações mais complexas que resultaram em internamento na unidade hospitalar notificadora (6,5%), conforme se observa no gráfico 1.

Tiveram alta para o exterior, sem necessidade de qualquer referenciação ou encaminhamento posterior 66,3% dos indivíduos do sexo masculino e 62,9% do sexo feminino, sendo que esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$), o que é comparável com dados europeus (1).

Da estratificação por grupo etário, observou-se que em todos os grupos ocorreram situações de internamento hospitalar, embora numa proporção reduzida, sendo que, a partir do grupo etário dos 45 aos 54 anos a proporção de casos com internamento aumenta, sendo o valor mais elevado observado no grupo com 75 e mais anos (16,5%).

Gráfico 1: Distribuição da frequência dos acidentes domésticos e de lazer, por sexo e tipo de destino após a alta hospitalar.



artigos breves_ n. 8

O gráfico 2 revela uma tendência de diminuição da proporção de episódios de alta sem necessidade de referência, à medida que o grupo etário aumenta, tendo-se verificado o valor mais elevado (85,3%) no grupo etário dos 0 aos 4 e o valor mais baixo (48,3%) no grupo de indivíduos com 75 e mais anos.

Tal facto poderá ser compreensível atendendo ao declínio funcional próprio de quem envelhece, com o aumento da probabilidade de maior dependência e fragilidade física e

psíquico-social, de presença de comorbilidades e eventual história de internamentos hospitalares.

Nos ADL por “contacto com ...” um objeto, substância ou produto, 73,5% das vítimas tiveram alta sem encaminhamento posterior, sendo que 20,8% foram referenciadas para avaliação ulterior pelo médico assistente ou encaminhadas como doente externo (gráfico 3).

Gráfico 2: Distribuição da frequência de acidentes domésticos e de lazer, por grupo etário e destino após a alta hospitalar.

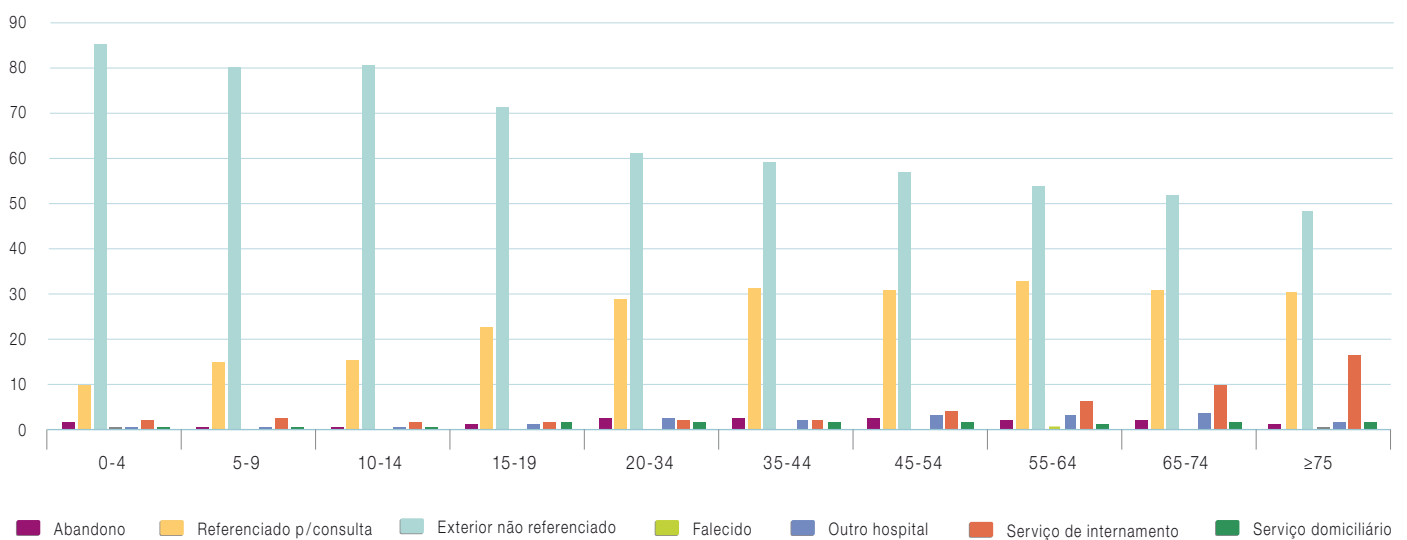
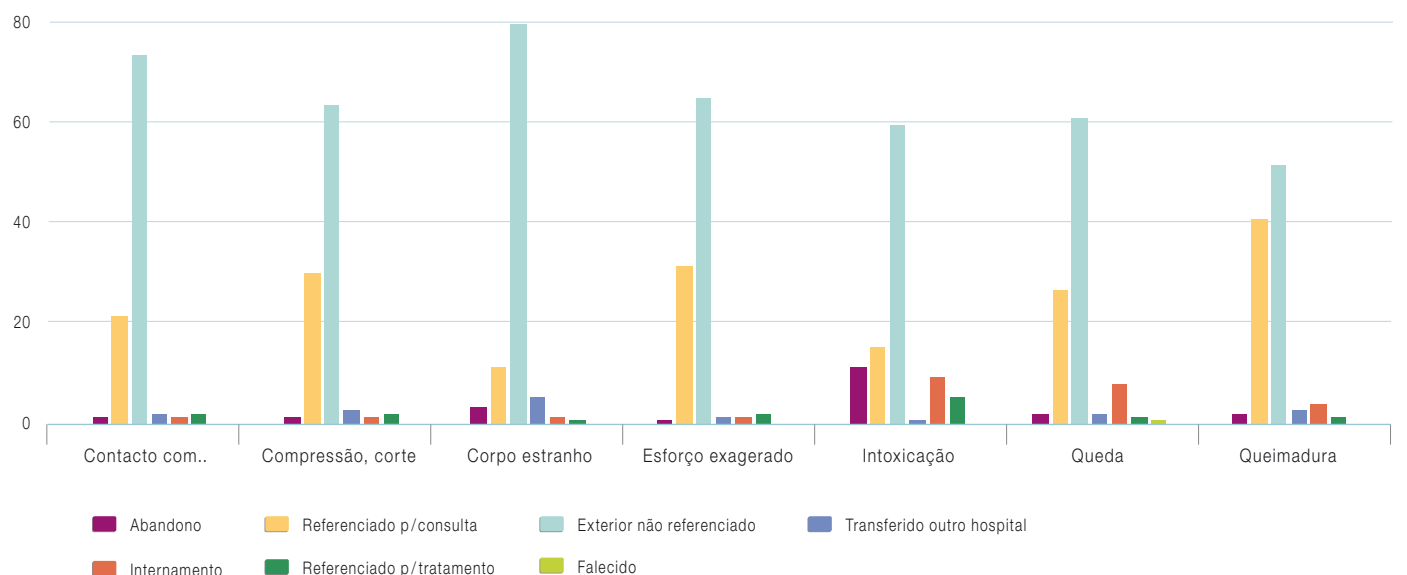


Gráfico 3: Distribuição da frequência de acidentes domésticos e de lazer, por mecanismo da lesão e destino após a alta hospitalar.



O mesmo se observou nos casos de lesões por ADL com presença de “corpo estranho”, em que 79,1% das vítimas tiveram alta para o exterior, sem necessidade de referenciação posterior. Neste mecanismo de lesão registou-se a menor percentagem de ADL com implicação de continuidade de cuidados, através de “consulta externa” ou encaminhamento para o médico assistente da vítima (11,0%).

Por outro lado, constatou-se que os ADL provocados por “Queimadura” e “Esforço exagerado” foram os casos com maior necessidade de referenciação para avaliação clínica posterior (40,6% e 31,3%, respetivamente).

Observando a distribuição dos ADL por “intoxicação” em comparação com os outros mecanismos da lesão, esta causa registou os valores mais elevados nos episódios de alta por abandono (10,9%) e nas situações com necessidade de internamento na unidade hospitalar (9,0%).

Quando se procede a uma análise análoga para o mecanismo de lesão “Queda”, constatou-se que se mantém a maior frequência dos casos com “alta para o exterior, sem necessidade de referenciação” (60,6%). Dos ADL por queda 7,7% requereram internamento hospitalar, tendo-se inclusivamente

verificado neste mecanismo as únicas situações de óbito reportadas por este sistema, no período em estudo.

Para caracterizar melhor o seguimento das vítimas de ADL foi analisada a causa mais frequente em Portugal, a queda associada aos locais onde ocorreu (3). Os resultados mostram que 57,5% dos acidentes causados por queda em casa, tiveram alta para o exterior sem necessidade de qualquer referenciação ou encaminhamento posterior, seguindo-se os casos em que foram referenciados para consulta (27,4%), os que necessitaram de internamento hospitalar (10,1%) e 0,1% casos de óbitos (gráfico 4).

É de destacar que as quedas que ocorreram ao “Ar livre”, na “Área de transporte” e em “Locais de trabalho/campo” resultaram na necessidade de internamento hospitalar (6,3%, 6,3%; 6,0%, respetivamente), logo depois das quedas em casa (10,1%).

Outro resultado relevante, decorrente da análise entre o local “Escola” e as diferentes causas de lesão com efeito no seguimento das vítimas, foi o observado nos casos de ADL por intoxicação, em que metade necessitou de internamento hospitalar (gráfico 5).

Gráfico 4: Distribuição da frequência de acidentes domésticos e de lazer associados a queda, por local de ocorrência e destino.

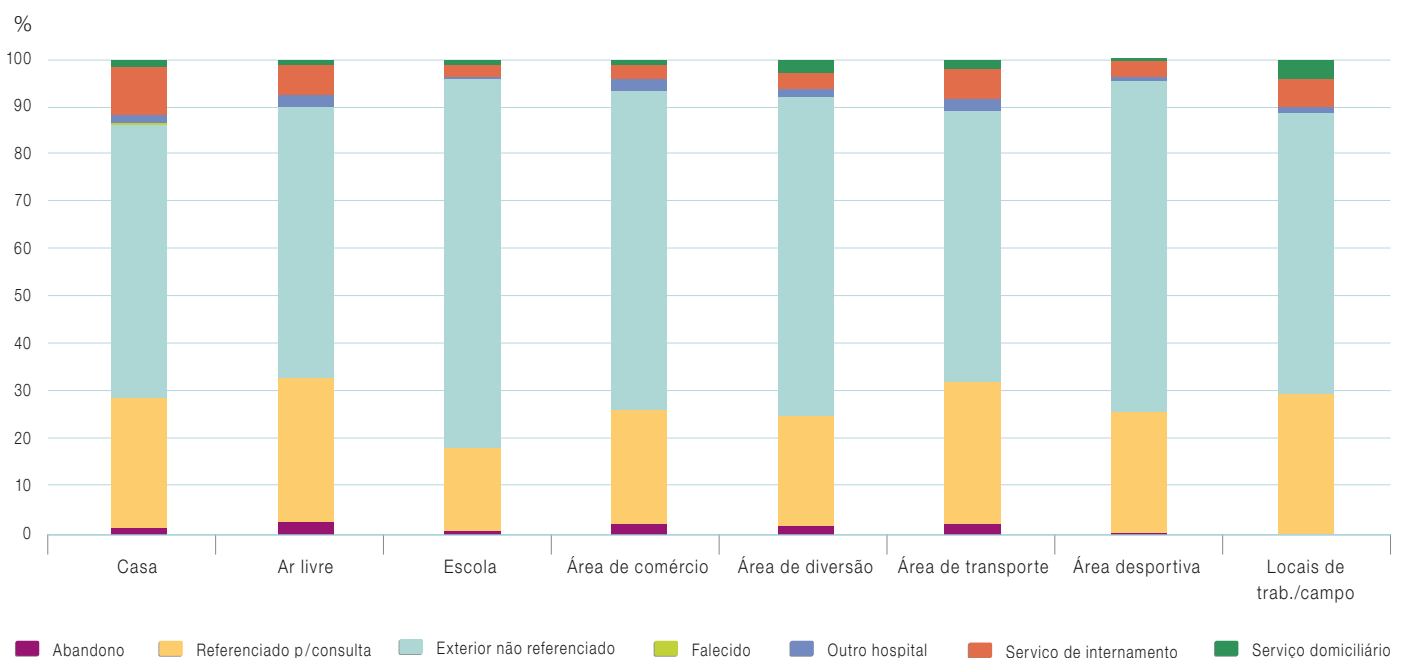
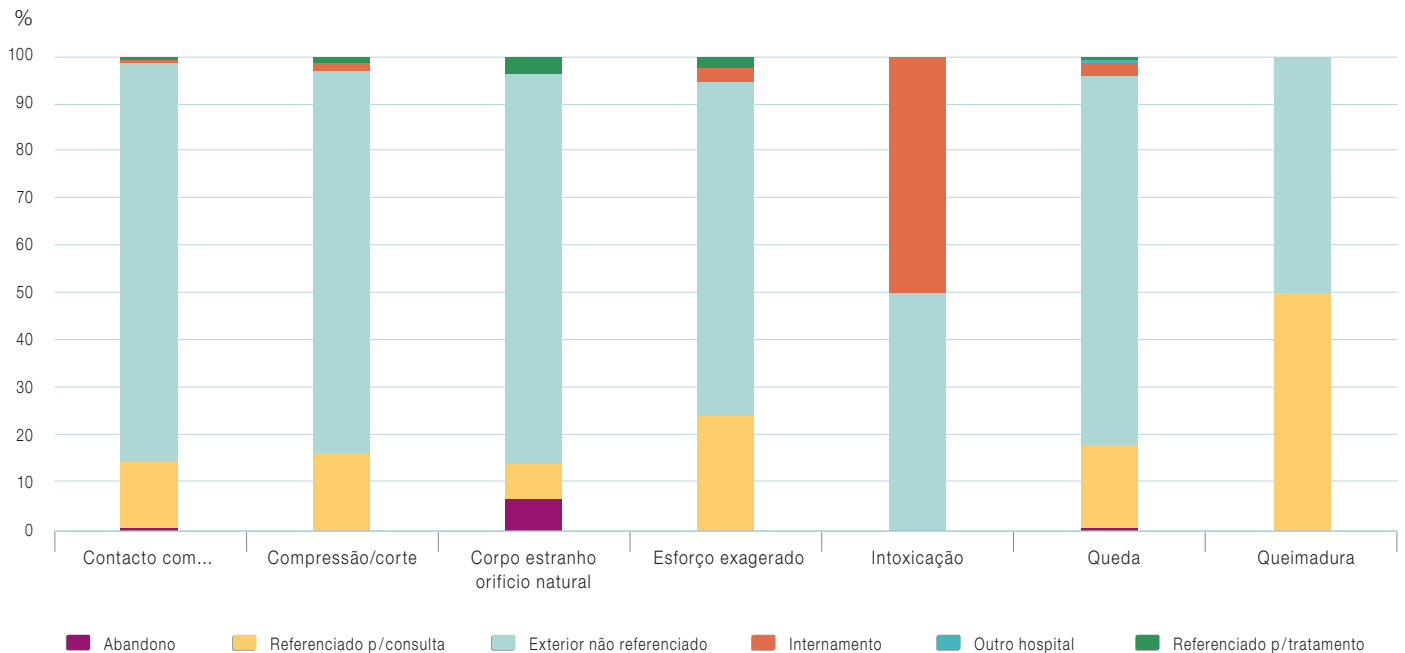


Gráfico 5: Distribuição da frequência de acidentes domésticos e de lazer na escola, por mecanismo da lesão e destino.



Considerando as quedas no espaço físico “Escola”, 77,8% teve desfecho favorável resultando em alta para o exterior sem requerer continuidade de seguimento, 17,4% foram encaminhadas para consulta, 2,7% com internamento hospitalar, 1,0% com continuidade de tratamento e 0,3% foram transferidos para outro hospital.

Ainda no quadro dos acidentes ocorridos neste local, importa salientar os episódios que resultaram em internamento hospitalar, os quais tiveram na sua origem a “Compressão/corte” (1,5%) e o “Esforço exagerado” (2,6%).

_Conclusões

Dado que a maior parte dos ADL pode ser prevenida, importa compreender o tipo de mecanismo da lesão subjacente e que tipo de resposta desencadeou nos serviços de saúde.

De um modo geral, independentemente do mecanismo da lesão subjacente ao ADL, a maioria das vítimas registadas no EVITA entre 2013 e 2015 teve alta para o exterior, sem necessidade de referenciação para seguimento posterior ou continuidade de qualquer tipo de cuidados.

No entanto, os dados revelaram que mais de um terço das vítimas teve necessidade de continuidade de cuidados, através de consulta externa ou de internamento hospitalar. Neste grupo, a proporção de casos do sexo feminino foi mais elevada, bem como a proporção de indivíduos com mais de 55 anos que necessitaram de internamento.

No caso de ADL ocorridos na escola, cerca de metade foram referenciados a consulta externa, no caso de queimadura, e para internamento, nas situações de intoxicação.

Não pode excluir-se que durante a convalescença algumas das vítimas tenham tido necessidade de recorrer de novo a cuidados de saúde, eventualmente sem registo através de EVITA, facto que carece de investigação adicional.

Estes resultados ilustram a importância do EVITA como instrumento de monitorização dos ADL, permitindo a utilização dos resultados no apoio ao desenvolvimento ou ao reforço de medidas de prevenção.

Agradecimentos:

A todos os notificadores locais dos hospitais participantes que asseguraram a recolha de dados no período em estudo.

Referências bibliográficas:

- (1) European Association for Injury Prevention and Safety Promotion. Injuries in the European Union: summary of injury statistics for the years 2012-2014. Amsterdam: EuroSafe, 2016.
<http://www.eurosafe.eu.com/key-actions/injury-data/reports>
- (2) Directorate Consumer Products Safety Unit. Injury and Accident Data Collection in Support of Consumer Product Safety. Oral presentation. 2nd International Workshop on Modelling of Physical, Economic and Social Systems for Resilience Assessment, European Commission, Joint Research Centre, Ispra (Italy), 2017.
- (3) Rodrigues E, Mexia R, Neto M, et al. EVITA - Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismo e Acidentes: relatório 2013-2015. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, 2016.
- (4) Contreiras T, Rodrigues E. EVITA – Epidemiologia e Vigilância dos Traumatismo e Acidentes: relatório 2009-2012. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP, 2014. <http://repositorio.insa.pt//handle/10400.18/2449>

ficha técnica_

_ Título: Boletim Epidemiológico Observações

_ Periodicidade: Quadrimestral

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

_ Numeração: 2ª série

Volume 7, número 21

janeiro - abril 2018

_ Diretor

Fernando de Almeida, Presidente do Conselho Diretivo do INSA

_ Editores

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

_ Conselho Editorial Científico

Carlos Matias Dias, Departamento de Epidemiologia

Luciana Costa, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis

Jorge Machado, Departamento de Doenças Infeciosas

Manuela Cano, Departamento de Saúde Ambiental

Maria João Silva, Departamento de Genética Humana

Silvia Viegas, Departamento de Alimentação e Nutrição

Peter Jordan, Conselho Científico do INSA

_ Coordenação técnica Elvira Silvestre, Biblioteca da Saúde

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

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2018.

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

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

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

Tel.: (+351) 217 519 200

Fax: (+351) 217 529 400

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

www.insa.pt